

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Parcer

Este exemplar corresponde a redação final
da tese defendida por César Antonio Pizardi
Díaz e aprovada pela Comissão Julgadora
em 27.04.87.

Campinas, 27 de abril de 1987.

Contreras

Presidente da Banca

UTILIZAÇÃO DO DESTILADO DA DESODORIZAÇÃO DO ÓLEO
DE SOJA COMO ANTIOXIDANTE NA FARINHA DE SARDINHA

(*Sardinella Brasiliensis*)

César Antonio Pizardi Díaz

Orientador :

Prof. Dr. Emilio Contreras-Guzmán

03/87

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título
de Mestre em Ciências de Alimentos

Campinas, SP - BRASIL

1 9 8 7

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

BIBLIOTECA
UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO
1962

A G R A D E C I M E N T O S

Ao Professor Dr. Emilio Contreras-Guzmán pela orientação, apoio e amizade.

Ao Professor Dr. Quivo S. Tahin pela ajuda na realização dos análises de ácidos graxos.

Aos Professores Dr. Frederick C. Strong III e Dr. Walter Esteves pelo auxílio no empréstimo de aparelhos de laboratório e reagentes.

À Maria do Carmo Guedes Santos e Ana Lúcia da Silva Corrêa pela ajuda na redação da tese e a correção do português.

Ao pessoal do Laboratório de Serviço Alimentar que de alguma forma facilitaram a realização deste trabalho.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos pela oportunidade concedida .

À Universidade Nacional Agraria-La Molina e ao Banco Mundial , na pessoa da Eng. Julia Arakaki de Sh., pela ajuda financeira na forma de bolsa de estudos.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

A minha querida esposa Elba
pelas horas que roubou-nos o
presente trabalho

A meus filhos
Giovanni e Gerson
A meus pais e irmãos
com amor e gratidão

R E S U M O

O destilado da desodorização de óleo de soja (DDOS), subproduto da indústria de óleos, contem um alto teor de tocoferóis especialmente das formas γ e δ , pelo qual foi experimentado como antioxidante para farinha de sardinha.

O DDOS foi adicionado na farinha recém elaborada nas concentrações de 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0%. Paralelamente foram preparadas amostras com adição de DDOS mais lecitina commercial a 0,075% como sinergista. Estas foram estudadas comparativamente com os antioxidantes sintéticos BHT, BHA, TBHQ e EQ em níveis de 500 ppm. As farinhas tratadas foram estocadas em condições normais por 162 dias e em estufa a 60°C por 7 dias.

Os resultados mostraram que o nível de 1,0% foi nitidamente superior, o nível de 0,75% se comportou de forma semelhante e a percentagem de 0,5% foi levemente menos efetivo que os antioxidantes comerciais usados para comparação. A lecitina não exibiu ação sinergista com o DDOS, ao contrário prejudicou sua performance antioxidativa.

Na estocagem houveram drásticas mudanças na composição em ácidos graxos nos diversos tratamentos, sendo que as maiores variações ocorreram no C14:0, C16:0, C18:0, C20:5 e C22:6. Nas farinhas ranças, após 162 dias de estocagem, ainda detectaram-se pequenas quantidades de ácidos graxos polinsaturados.

Depois de 3 1/2 meses de estocagem a perda de tocoferóis foi quase linear ao longo do tempo, e nos tratamentos com 0,5%, 0,75% e 1,0% de DDOS permaneceram mais de um terço das quantidades adicionadas

As determinações do índice de iodo, composição em ácidos graxos e absorção de oxigênio foram os mais demonstrativos das mudanças da oxidação da farinha. As determinações do valor de anisidina, ácidos graxos livres e lipídios oxidados, sendo também sensíveis não foram tão bons indicadores da oxidação, embora sejam necessárias mais experiências para comprovar sua utilidade.

S U M M A R Y

Deodorizer sludge from soybean oil (DSSO) , an oil industry by-product, has a high content of tocopherols , especially the γ and δ forms. For this reason its possible application as an antioxidant agent in sardine full meal, was looked into.

DSSO was added to sardine full meal immediately after processing at concentrations of 0.25%, 0.5%, 0.75% and 1.0% . Simultaneously of sample of sardine full meal with DSSO plus commercial lecithin (0.075%) as synergist was prepared.

The samples were compared the synthetic antioxidants BHT, BHA TBHQ and EQ used at concentrations of 500 ppm. The various samples were stored at room temperature for 162 days and in an incubator at 60°C for 7 days.

In comparison to the commercial antioxidants, 1.0% was shown to be markedly superior. At a level of 0.75% DSSO showed a similar behaviour to that of the commercial products, and the 0.5% level was lightly inferior.

Lecithin showed no synergistic action with the DSSO , on the contrary, it impaired their antioxidative activity.

During storage drastic variations in the fatty acid compositions of the variously treated samples of sardine full meal were observed. The main variations occurred in the C14:0, C18:0, C20:5 and C22:6 fatty acids. 162 day old sardine full meals still showed small quantities of polyunsaturated fatty acids.

Throughout 3 1/2 months of storage, the losses of tocopherols were almost linear, approximately one third of the original amount remaining in the 0.5%, 0.75% and 1.0% DSSO.

The determinations of iodine value, fatty acid compositions and oxygen absorption shown to be the best tests to follow oxidative changes in sardine full meal. The determinations of anisidine value, free fatty acids and oxidated lipids were sensitive but not so indicative of oxidation, more experimentation being needed to confirm their utility.

Í N D I C E

	<u>Página</u>
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Elaboração da farinha de pescado	3
2.2 Cura da farinha de pescado	6
2.3 Desodorização do óleo de soja	7
2.3.1 Processamento prévio à desodorização	7
2.3.2 Desodorização do óleo	9
2.3.3 Recuperação dos destilados da desodorização	10
2.3.4 Perdas pelo processo de refinação	14
2.4 Composição do destilado da desodorização do óleo de soja	17
2.5 Autoxidação dos lipídios	19
2.5.1 Generalidades	19
2.5.2 Autoxidação	19
(a) Indução	21
(b) Propagação	22
(c) Terminação	23
2.5.3 Reações oxidativas dos ácidos graxos insaturados	24
2.6 Atividade antioxidante dos tocoferóis	31
2.6.1 Mecanismos de ação	31
2.6.2 Compostos sinergistas	34
III. MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1 Material	36
3.1.1 Matérias primas	36
3.1.2 Reagentes	36
3.1.3 Equipamentos	36
3.2 Parte experimental	37
3.2.1 Elaboração da farinha de sardinha	39

3.2.2	Preparação dos tratamentos e adição dos antio- xidantes	39
3.2.3	Embalagem e estocagem dos lotes	40
	(a) Em condições normais	40
	(b) Em estufa	41
3.3	Métodos analíticos	41
3.3.1	Composição química	41
3.3.2	Tocoferóis totais e individuais	41
3.3.3	Extração de lipídios totais	42
3.3.4	Ácidos graxos livres	42
3.3.5	Índice de peróxidos	42
3.3.6	Índice de iodo	43
3.3.7	Teste de TBA	43
3.3.8	Teste de Kreis	43
3.3.9	Teste de anisidina	44
3.3.10	Lipídios oxidados	44
3.3.11	Composição em ácidos graxos	45
3.3.12	Absorção de oxigênio	46
IV.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1	Composição química	49
4.2	Características químicas dos óleos da sardinha e suas farinhas	50
4.3	Composição em ácidos graxos dos óleos da sardinha e sua farinha	51
4.4	Teor de tocoferóis no DDOS	53
4.5	Mudanças nos índices químicos dos lipídios das fari- nhas estocadas	55
4.5.1	Estocagem em condições normais	55
	(a) Índice de iodo	55
	(b) Índice de peróxidos	60
	(c) Índice de ácidos graxos livres	62

	<u>Página</u>
(d) Teste de TBA	65
(e) Teste de Kreis	67
(f) Teste de anisidina	67
(g) Lipídios oxidados	70
4.5.2 Estocagem em estufa	72
(a) Índice de iodo	72
(b) Índice de peróxidos	76
(c) Índice de ácidos graxos livres	78
(d) Teste de TBA	80
(e) Teste de Kreis	82
(f) Teste de anisidina	82
(g) Lipídios oxidados	82
4.6 Evolução na composição em ácidos graxos na farinha de sardinha na estocagem	86
4.7 Perdas de tocoferóis totais na farinha de sardinha em condições normais	95
4.8 Absorção de oxigênio pela farinha de sardinha	98
4.9 Comparação entre as análises de avaliação da oxida ção	101
V. CONCLUSÕES	104
VI. BIBLIOGRAFIA	105

ÍNDICE DE QUADROS

	<u>Página</u>
1. VARIAÇÃO DO TEOR DE TOCOFERÓIS TOTAIS NO ÓLEO DE SOJA NO CURSO DA REFINAÇÃO	16
2. TEOR DE TOCOFERÓIS INDIVIDUAIS NO ÓLEO DE SOJA SOB EFEITOS DA REFINAÇÃO	17
3. COMPOSIÇÃO DO DESTILADO DA DESODORIZAÇÃO DO ÓLEO DE SOJA	18
4. COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE SARDINHA E OS ÓLEOS DE ANCHOVETA E SUA FARINHA	25
5. CLASSES E QUANTIDADES DE ANTIOXIDANTES USADOS NO TRATAMENTO DA FARINHA DE SARDINHA	40
6. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SARDINHA FRESCA E SUA FARINHA	49
7. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS ÓLEOS DE SARDINHA E SUAS FARINHAS DE TORTA E INTEGRAL	50
8. COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DOS ÓLEOS DE SARDINHA E SUA FARINHA	52
9. TEOR DE TOCOFERÓIS TOTAIS E INDIVIDUAIS NOS DOS	53
10. MUDANÇAS NOS ÍNDICES QUÍMICOS DA OXIDAÇÃO DA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS	56, 57 e 58
11. INCREMENTO DO ÍNDICE DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES DURANTE A ESTOCAGEM EM CONDIÇÕES NORMAIS	63
12. MUDANÇAS NOS ÍNDICES QUÍMICOS DA OXIDAÇÃO DA FARINHA DE SARDINHA TRATADAS COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADAS EM ESTUFA (50°C)	73 e 74
13. INCREMENTO DO ÍNDICE DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES DURANTE A ESTOCAGEM EM ESTUFA (50°C)	78

- | | |
|---|---------|
| 14. EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS | 87 e 88 |
| 15. GRUPOS DE ÁCIDOS GRAXOS E ÍNDICES MAIS IMPORTANTES NA OXIDAÇÃO DA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS | 92 |
| 16. PERDAS DE TOCOFERÓIS TOTAIS NA ESTOCAGEM DA FARINHA DE SARDINHA ADICIONADA DE DDOS | 95 |
| 17. EVOLUÇÃO DA ABSORÇÃO DE OXIGÊNIO, A 60°C, DA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES | 99 |

ÍNDICE DE FIGURAS

	<u>Página</u>
1. FLUXOGRAMA DA ELABORAÇÃO DA FARINHA DE PESCADO	5
2. MUDANÇAS DE TEMPERATURA DURANTE A CURA DA FARINHA DE PESCADO	8
3. SISTEMA SEMI-CONTINUO TIPO GIRDLER DE DESODORIZAÇÃO DE OLEO COMESTÍVEL	11
4. SISTEMA EMI Co. DE RECUPERAÇÃO DO DESTILADO DA DESODORIZAÇÃO DE ÓLEO COMESTÍVEL	13
5. SISTEMA ELLIOT DE RECUPERAÇÃO DO DESTILADO DA DESODORIZAÇÃO DE ÓLEO COMESTÍVEL	13
6. ESQUEMA GERAL DA OXIDAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS E TRIGLICE- RÍDIOS INSATURADOS E REAÇÕES COLATERAIS	20
7. FLUXOGRAMA DA ELABORAÇÃO DA FARINHA DE SARDINHA E ADI- ÇÃO DE ADITIVOS	38
8. APARELHO DE WARBURG PARA O TESTE DE ABSORÇÃO DE OXIGÊ- NIO	46
9. CROMATOGRAMA DA SEPARAÇÃO POR TIPOS DE TOCOFERÓIS DO DDOS	54
10. MUDANÇAS NO ÍNDICE DE IODO NOS DIVERSOS TRATAMENTOS DA FARINHA DE SARDINHA COM ANTIOXIDANTES ESTOCADA EM CON- DIÇÕES NORMAIS	59
11. MUDANÇAS NO ÍNDICE DE PERÓXIDO NOS DIVERSOS TRATAMEN- TOS DA FARINHA DE SARDINHA COM ANTIOXIDANTES ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS	61
12. MUDANÇAS NO ÍNDICE DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS	64
13. MUDANÇAS NO VALOR DE TBA NA FARINHA DE SARDINHA TRATA- TADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS	66

14. MUDANÇAS NO VALOR DE KREIS NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS	68
15. MUDANÇAS NO VALOR DE ANISIDINA NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS	69
16. MUDANÇAS NOS LIPÍDIOS OXIDADOS NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS	71
17. MUDANÇAS NO ÍNDICE DE IODO NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)	75
18. MUDANÇAS NO ÍNDICE DE PERÓXIDO NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)	77
19. MUDANÇAS NO ÍNDICE DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)	79
20. MUDANÇAS NO VALOR DE TBA NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)	81
21. MUDANÇAS NO VALOR DE KREIS NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)	83
22. MUDANÇAS NO VALOR DE ANISIDINA NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)	84
23. MUDANÇAS NOS LIPÍDIOS OXIDADOS NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)	85
24. MUDANÇAS NOS PRINCIPAIS AGS E AGP NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS	90
25. MUDANÇAS NOS ÁCIDOS GRAXOS NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS	93

26. VARIAÇÕES NO ÍNDICE P/S DA FARINHA DE SARDINHA TRATA DA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS	94
27. TOCOFERÓIS TOTAIS REMANESCENTES NA FARINHA DE SARDINHA ADICIONADA DE DDOS E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS	96
28. EVOLUÇÃO DA ABSORÇÃO DE OXIGÊNIO a 60°C NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES	100

I. INTRODUÇÃO

O maior problema dos alimentos gordurosos é a oxidação dos ácidos graxos insaturados e para contornar este inconveniente se usam antioxidantes sintéticos tais como hidroxibutiltolueno, propilgalato, ter-butilhidroquinona e outros. Porém, a partir da década dos anos 70 alguns cientistas e organismos internacionais - têm enfatizado a conveniência de empregar antioxidantes de origem natural como tocoferóis, flavonóides e outros compostos presentes em extratos vegetais.

Uma enorme concentração de substâncias antioxidantes incluindo vitamina E ocorre em um resíduo produzido durante a refinação do óleo de soja, chamado de destilado da desodorização de óleo de soja (DDOS). Mesmo que a percentagem de DDOS obtida do óleo de soja refinado esteja em torno de 0,1%, a dimensão da indústria de óleo no Brasil permite aceitar a idéia de que o DDOS disponível é importante e justifica qualquer pesquisa para sua aplicação.

As indústrias nacionais com equipamentos mais modernos obtêm destilados com teores de 10% de tocoferóis totais. Este produto é exportado por firmas estrangeiras as quais purificam e modificam os componentes retornando ao Brasil na forma de produtos farmacêuticos e concentrados de vitamina E para uso em rações.

A decisão de empregar vitamina E como antioxidante depende do valor econômico do produto a ser adicionado. Em produtos de custo relativamente baixo como farinha de peixe, a inclusão de vitamina E purificada resultaria antieconômica. Além de que a adição de DDOS seria barata, a farinha de peixe não apenas estaria protegida da oxidação como enriquecida com um nutriente essencial para o crescimento de aves e suínos.

Os óleos de origem marinho são altamente oxidáveis portanto a farinha de peixe que contém em média 10% de óleo residual não pode dispensar a adição de antioxidantes. Os volumes de produção de farinha no Chile e no Perú atingem a casa de um milhão de toneladas anuais, daí o consumo de antioxidantes ser muito elevado obrigando sua incorporação a níveis de 1000 ppm para permitir sua comercialização. Nestes países o antioxidante mais empregado é a etoxiquina (EQ) mas não há impedimento de caráter tecnológico ou nutricional para o uso dos tocoferóis (vitamina E) em substituição daquela, a maior limitação está no preço do α -tocoferol sintético muito superior ao da etoxiquina. O DDOS torna-se, então, numa excelente alternativa para enriquecer e proteger da oxidação a farinha de pescado, sendo que o sucesso da preservação abriria para este subproduto um enorme mercado internacional.

De acordo com o expressado anteriormente, o objetivo geral é o estudo da utilização do DDOS como antioxidante natural da farinha de pescado. Para tanto a evolução da oxidação da farinha estocada em condições normais e em estufa será acompanhada mediante análises físicas e químicas a fim de comparar a capacidade antioxidante do DDOS com os do tipo sintético tais como hidroxibutiltolueno (BHT), hidroxibutilanisol (BHA), ter-butilhidroquinona (TBHQ) e etoxiquina (EQ).

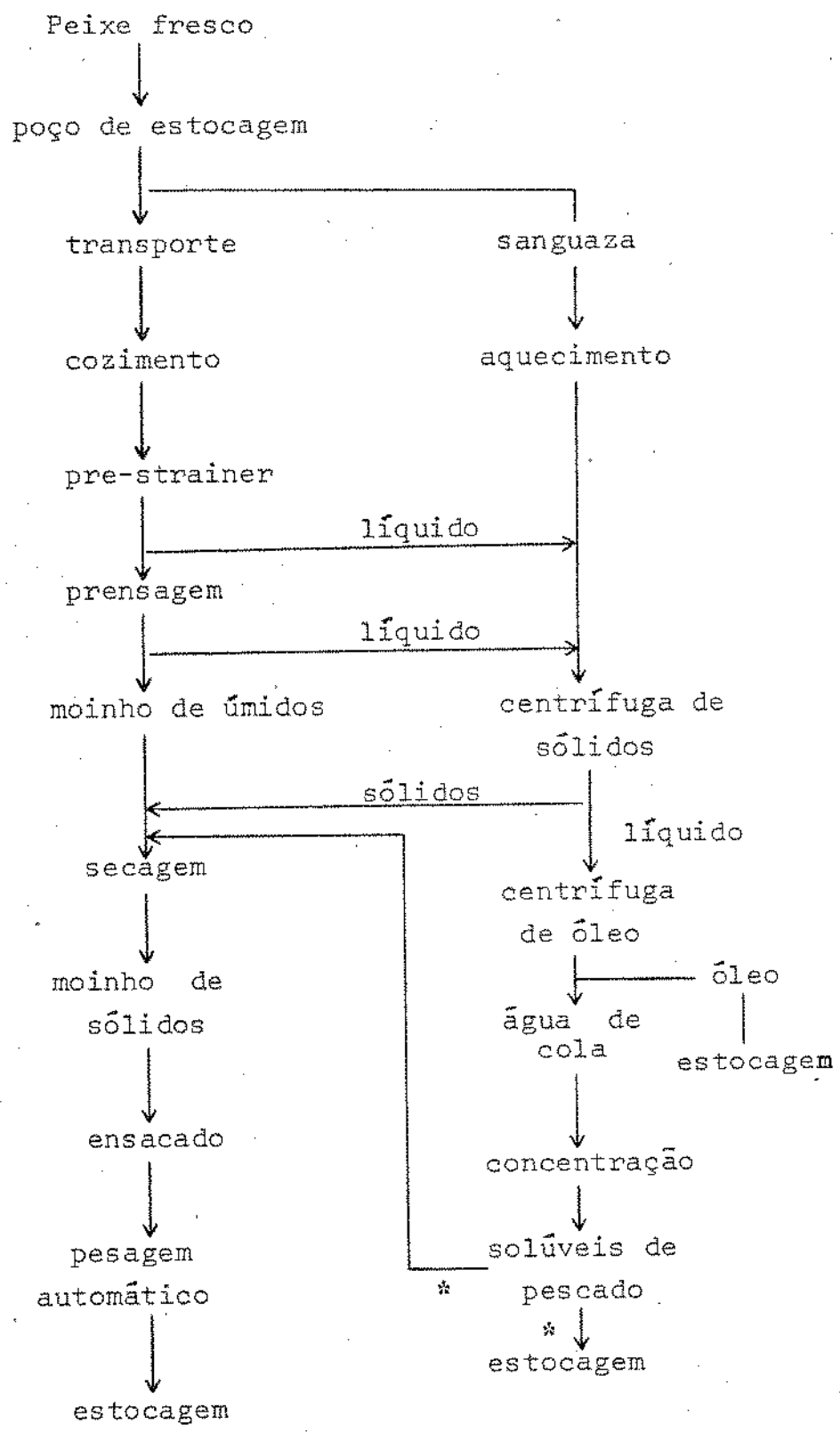
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo se mencionará de forma geral a elaboração da farinha de pescado e a refinação de óleo comestível, posicionando ao leitor em um contexto integral do assunto. A seguir, especificamente serão tratados aspectos mais relacionados com a tese como recuperação e composição do destilado da desodorização, mecanismos da autoxidação de óleos e ação antioxidante dos tocoferóis, procurando-se em todos os casos indicar a bibliografia mais atualizada e/ou aceita.

2.1 ELABORAÇÃO DA FARINHA DE PESCADO

A farinha de peixe é um produto comumente apresentado em pó, de cor marrom grisalha ou bege e odor característico. Segundo BRODY (1965) a farinha é um concentrado de alto teor de proteínas de alta qualidade, minerais e vitaminas do grupo B.

A matéria prima consiste em peixes inteiros (sardinha, anchoveta, arenque e outros) e também de resíduos do processamento de enlatados e congelados. O esquema de processamento é apresentado na Figura 1. LEE (1963) e BURGESS et alli (1967) sugerem que às vezes é necessário classificar e separar alguns peixes que causariam problemas durante o processamento (caso dos cações, tubarões e caçonetes). Do poço de estocagem, o pescado é transportado até o cozinador mediante um parafuso sem fim. O objetivo do cozimento é quebrar as células para que possam soltar água e óleo, além de provocar a coagulação das proteínas. Os cozinadores são equipamentos cilíndricos providos de um parafuso sem fim que movimenta, tritura e cozinha o pescado com jatos de vapor, obtendo-se uma massa homogênea. A temperatura de trabalho está na faixa de 90°C a 98°C e o tempo de 20 a 30 min. Antes do processo de prensagem a



* alternativo

FIGURA 1. FLUXOGRAMA DA ELABORAÇÃO DA FARINHA DE PESCADO

massa é passada pelo pre-peneirador de esteiras que tira parcialmente a fração líquida solta e facilita a operação posterior. A prensa de extrusão é um cilindro robusto, possuindo uma rosca sem fim que transporta a massa e pressiona contra as paredes (peneiras muito finas); obtém-se assim um líquido composto de água, óleo e alguns sólidos ("licor de prensa"). Este é coletado em um depósito junto com o líquido do pre-peneirador. A massa obtida é chamada "torta de prensa" apresentando um teor de 50 a 55% de água e 3 a 4% de óleo (LEE, 1963; SPARRE, 1965; PIGOTT, 1967 e ZAITZEV et alli, 1969).

Os blocos de massa prensada são quebrados em um moinho desintegrador auxiliados por uma rosca sem fim que conduz a massa até o secador. Este consiste em um grande cilindro rotativo de aquecimento direto ou indireto. No sistema direto um queimador de petróleo está colocado em um extremo; os gases de combustão aquecidos a 500°C passam à câmara de secagem encontram-se com a torta úmida e movimentam-se no mesmo sentido. A temperatura cai a 300°C e o material é puxado por pás raspadeiras e/ou uma serpentina fixados na parede interna do cilindro. No sistema indireto, o cilindro possui uma camisa e tubos horizontais internos fixados em um feixe central; o sistema é aquecido mediante vapor que circula através da camisa e os tubos (SPARRE, 1965 e BURGESS et alli, 1967). O produto obtido após secagem é uma farinha de partículas grossas ("scrap") a qual é transportada e esfriada por um sistema pneumático até um moinho de martelos. O material moído é transportado por um parafuso sem fim, adiciona-se antioxidante (etoxiquina 1000 ppm) e finalmente a embalagem é feita em aparelhos de pesagem automático e em sacos de juta, papel ou polietileno trançado. A farinha ensacada não deve ser estocada imediatamente em pilhas, pois tem um teor de 5 a 10% de gordura insaturada, e sua oxidação

dação pode provocar a combustão espontânea da farinha (SPARRE, 1965). Por esta razão se faz necessário esfriar a farinha deixando a permitir a circulação de correntes de ar.

A sanguaza, produzida por pressão nos poços de estocagem, é enviada através de uma bomba até um depósito cilíndrico de fundo cônico, que possui serpentina interna, onde é aquecida a 80°C por 30 min. Em seguida é misturada com o licor de prensa e conduzidas até as centrífugas horizontais onde separam-se os sólidos do líquido (água, óleo e sólidos solúveis). Os sólidos são misturados com a torta de prensa antes da secagem e o líquido é enviado às centrífugas verticais separando-se o óleo da fração aquosa ("água de cola"). Esta é concentrada de 10 a 30% de sólidos em evaporadores de triplo efeito, recebendo o extrato o nome de solúveis de pescado. Estes podem ser misturados com a torta de prensa ou serem comercializados como tais (LEE, 1963; SPARRE, 1965; BURGESS *et alli*, 1967 e ZAITZEV *et alli*, 1969). A farinha que tem adição de solúveis chama-se farinha integral ("full meal") (BRODY, 1965).

2.2 CURA DA FARINHA DE PESCADO

O processo de cura da farinha de pescado é importante porque desta maneira evita-se a combustão espontânea da farinha. Existem vários métodos, sendo o mais comum a cura ao ar livre. A cura consiste em uma oxidação controlada da gordura da farinha com incremento gradual da temperatura (KARRICK, 1963). ARNESEN *et al.* (1962 e 1963) mostraram que a embalagem tem um papel muito importante na cura, e reportaram que as sacolas de papel com polietileno são superiores a qualquer outra embalagem; da mesma maneira, SPARRE (1965) afirma que com o uso destas sacolas deixou de existir o perigo do aquecimento espontâneo da farinha, além de diminuir as possibilidades de contaminação com *Salmonella*.

SÁNCHEZ e LAM (1965) estudaram o incremento da temperatura durante a cura da farinha de anchoveta, demonstrando que o melhor sistema de empilhamento foi deixar as sacolas em pé individualmente por 7 dias e os 14 dias seguintes em pilhas de sacolas deitadas em número de até oito. Nas Figuras 2 (a) e (b), mostram-se as mudanças de temperatura enquanto acontece a cura.

Outro método de controlar o aquecimento espontâneo é a adição de antioxidantes. Segundo WILLIAMS (1961) e DREOSTI e TAIT (1961), citados por HEISS (1973), o uso de BHT diminui a temperatura e a velocidade de aquecimento da farinha durante o estocagem. Afirmam que ótimos resultados obtêm-se com um nível de 0,1% de BHT, se bem que com 0,05% também tem-se efeitos favoráveis. Da mesma forma mencionam que o uso de antioxidantes mantém a qualidade da farinha fresca. WIECHERS et al. (1962), citados por HEISS (1973), acharam resultados semelhantes usando BHT e EQ, mostrando que o índice de iodo diminui lentamente e a absorção de oxigênio é baixa nas amostras tratadas; ainda mais, reportaram que o valor nutricional destas são superiores ao controle.

OLCOTT (1962) assinala que a combustão espontânea produz dano na farinha de pescado e observa-se diminuição do índice de iodo e perda na extração de gordura. Também menciona que uma farinha com 6% de umidade é mais rapidamente oxidada que outra com 12%, a oxidação é mais rápida a 10°C que a 25°C ou 37°C e a estabilização tem-se atingido com temperaturas de secagem mais altas.

2.3 DESODORIZAÇÃO DO ÓLEO DE SOJA

2.3.1 Processamento prévio à desodorização

A refinação de óleos e gorduras é definida como um conjunto de processos que visam transformar os óleos brutos em óleos comestíveis pela remoção de umidade, substâncias coloidais, fosfo

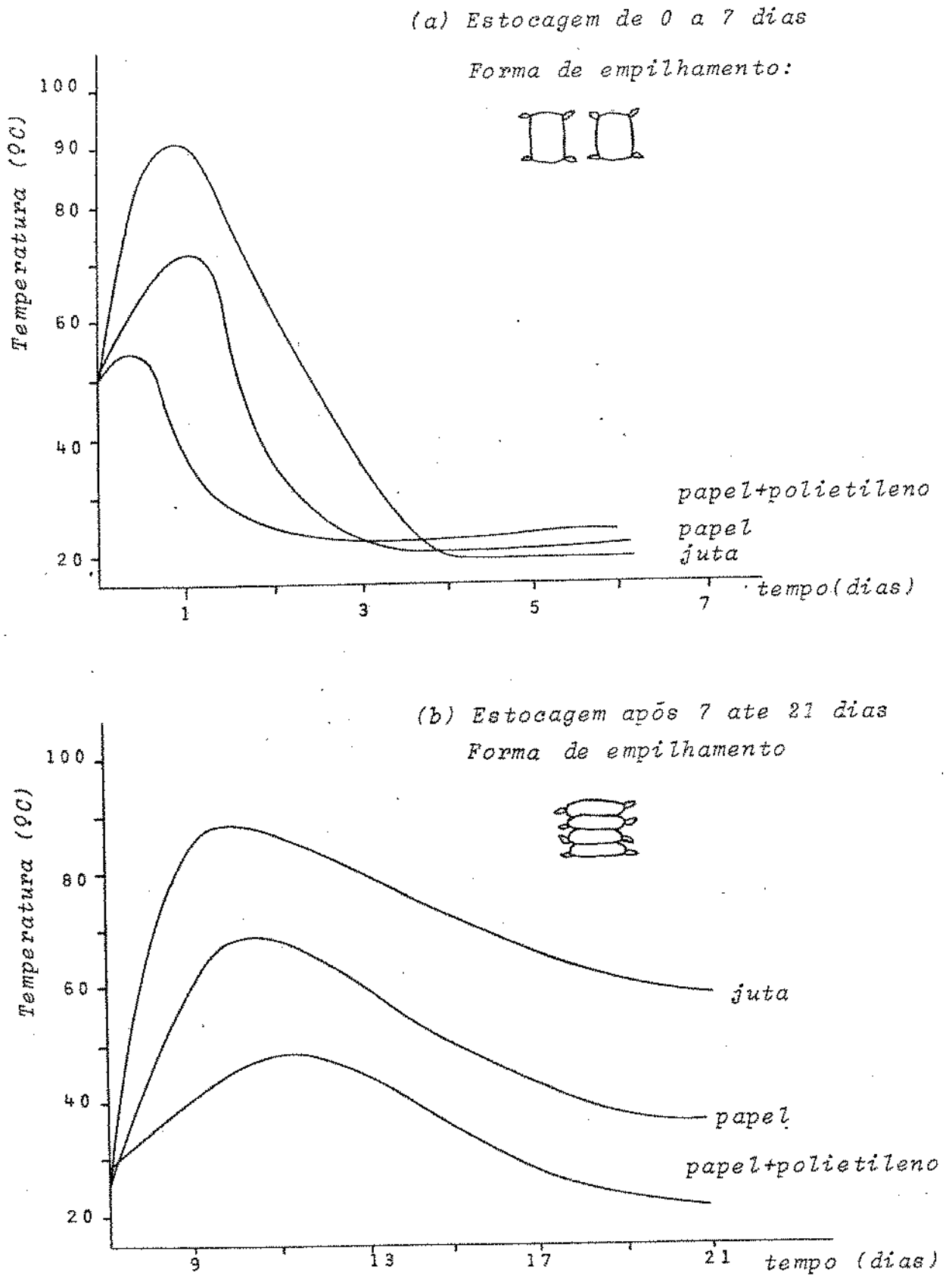


FIGURA 2. MUDANÇAS DA TEMPERATURA DURANTE A CURA DA
FARINHA DE PESCADO

FONTE: SÁNCHEZ e LAM (1965)

lipídios, proteínas, ácidos graxos livres, pigmentos, produtos de oxidação e substâncias voláteis (ANDERSEN, 1965 e BERNARDINI, 1981).

As etapas de refinação química do óleo são: degomagem, neutralização, branqueamento e desodorização. Na refinação física a neutralização por álcali é substituída por destilação que se realiza simultaneamente com a desodorização. No Brasil é mais usada a refinação química no processamento de óleo de soja.

A degomagem tem por finalidade a remoção dos fosfolipídios, proteínas e substâncias coloidais. O método mais comum consiste na adição de água (1 a 3%) ao óleo, aquecimento a 60°-70°C e agitação por 20 min. O precipitado formado é removido por centrifugação. A seguir o óleo é neutralizado com NaOH, de modo contínuo ou descontínuo, eliminando-se os ácidos graxos livres além de outras impurezas; a um aquecimento inicial de 65°-90°C segue-se a adição de soda com agitação e posterior separação por centrifugação, obtendo-se óleo neutralizado e borra. Após o óleo é lavado com água e secado sob vácuo. A etapa de branqueamento visa eliminar os pigmentos através de aquecimento do óleo neutralizado a 80°-90°C sob vácuo durante 30 min, adição de terra clarificante e agitação durante 20 a 30 min (CHANG, 1967 e BERNARDINI, 1981). Após resfriamento separa-se em filtro prensa. O processo de desodorização será comentado a seguir.

2.3.2 Desodorização do óleo

A desodorização tem por objetivo a remoção dos compostos odoríferos que conferem sabor e odor indesejáveis ao óleo. Entre estes estão aldeídos, cetonas, ácidos graxos oxidados, hidrocarbonetos, ácidos graxos de cadeia média e curta, peróxidos e outros. O fundamento do processo é a volatilização dos compostos odoríferos por arrastre com vapor de água sob vácuo e alta temperatura (ANDERSEN, 1965 e MATTIL, 1964).

O processo de desodorização pode ser de 3 tipos: descontínuo, semicontínuo e contínuo. O mais utilizado é o método semicontínuo tipo Girdler, como mostrado na Figura 3 (CHANG, 1967). Neste sistema usa-se uma torre cilíndrica de fundo côncavo possuindo 5 bandejas de aço inoxidável. Na primeira bandeja o óleo é aquecido com vapor até 165°C e desaerado, na segunda com vapor Dowtherm (mistura de difenila e óxido de difenila) até 220°C-240°C; na terceira e quarta bandejas o aquecimento é feito com vapor direto a alta pressão, o óleo permanecendo meia hora em cada bandeja e passando de uma para outra por controle automático; na última bandeja o óleo é resfriado indiretamente com água até 38°C-40°C. A pressão absoluta de trabalho está na faixa de 4-6 mm Hg e o tempo total é de 2,5 a 3,5 h (MATTIL, 1964 e ANDERSEN, 1965).

Na refinação física a remoção dos ácidos graxos livres realiza-se durante o processo de desodorização, as condições deste são mais severas o vácuo devendo estar entre 0,5 a 2,0 mm Hg e a temperatura podendo alcançar 260°C (FAO, 1980).

2.3.3 Recuperação dos destilados da desodorização

Como já mencionado anteriormente a desodorização é uma destilação dos compostos voláteis por vapor sob determinadas condições de pressão e temperatura. Nestas condições, junto com os compostos odoríferos, eliminam-se algumas outras substâncias tais como esteróis e tocoferóis na forma de vapores ou pequenas gotinhas (BERNARDINI, 1981).

Um fluxograma típico de recuperação é o sistema da EMI Corporation mostrado na Figura 4 (GAVIN, 1981). O desodorizador descarrega o vapor e o termocompressor transporta-o à unidade de recuperação ou separação. O vapor e o destilado saem do desodorizador a uma pressão de 2-5 mm Hg sendo comprimidos pelo termocompres

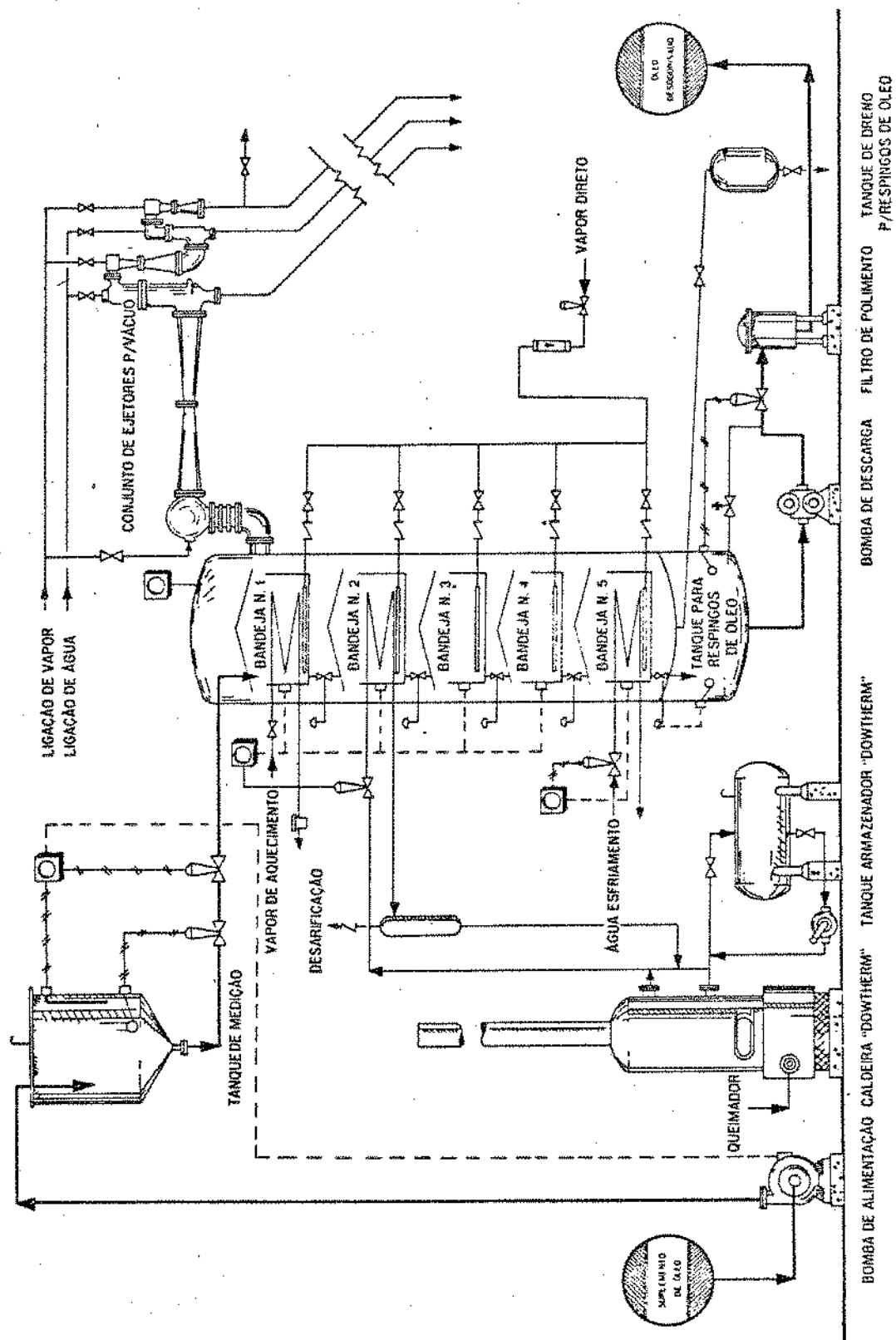


FIGURA 3. SISTEMA SEMI-CONTINUO TIPO GIRDLER DE DESODORIZAÇÃO DE ÓLEO COMESTÍVEL

sor a 50-60 mm Hg, de modo a facilitar a condensação do destilado com água. Os vapores passam através de uma torre, onde são postos em contato com o destilado líquido pré-esfriado por circulação em um trocador de calor. O nível do destilado condensado é controlado automaticamente no fundo da torre de modo a manter um volume constante (GAVIN, 1981 e WOERFEL, 1981). A torre possui um conjunto de grelhas ou placas de aço inoxidável abertas de modo a minimizar a queda de pressão permitindo um bom contato líquido-vapor. Placas defletoras são instaladas na parte superior diminuindo as perdas por arraste. É muito importante que estes sejam de desenho apropriado e mantidos no lugar para realizar uma extração eficiente das gotinhas que estão sendo arrastadas pela alta velocidade da corrente de vapor. A eficiência é máxima obtendo-se recuperações de 98% de tocoferóis e 95% de esteróis (WOERFEL, 1981).

Segundo BERNARDINI (1981) o método mais apropriado para os compostos sob forma de vapor é a adsorção e para os que encontram-se formando névoas o melhor é utilizar placas separadoras de gotas colocadas nas tubulações de vapor. Ainda segundo o autor, o lugar mais conveniente da unidade de separação situa-se entre a saída do desodorizador e o termocompressor. Entretanto, KEHSE (1976) e BLOEMEN (1975) consideram que a colocação mais correta deve ser entre o termocompressor e o condensador barométrico, pois desta maneira economiza-se grandes quantidades de energia, sem que haja diminuição significativa da eficiência da recuperação do destilado. O sistema de recuperação do destilado da desodorização de Elliot (Figura 5) situa a torre de recuperação do destilado entre o desodorizador e o termocompressor, mas emprega um lavador-resfriador antes da torre; neste caso o resfriador de água também é parte deste dispositivo. Esta configuração é indicada para diminuir o consumo de vapor pelo termocompressor e conservar a energia (WOERFEL, 1981 e LIEBING et al., 1983). Estes últimos autores reportam

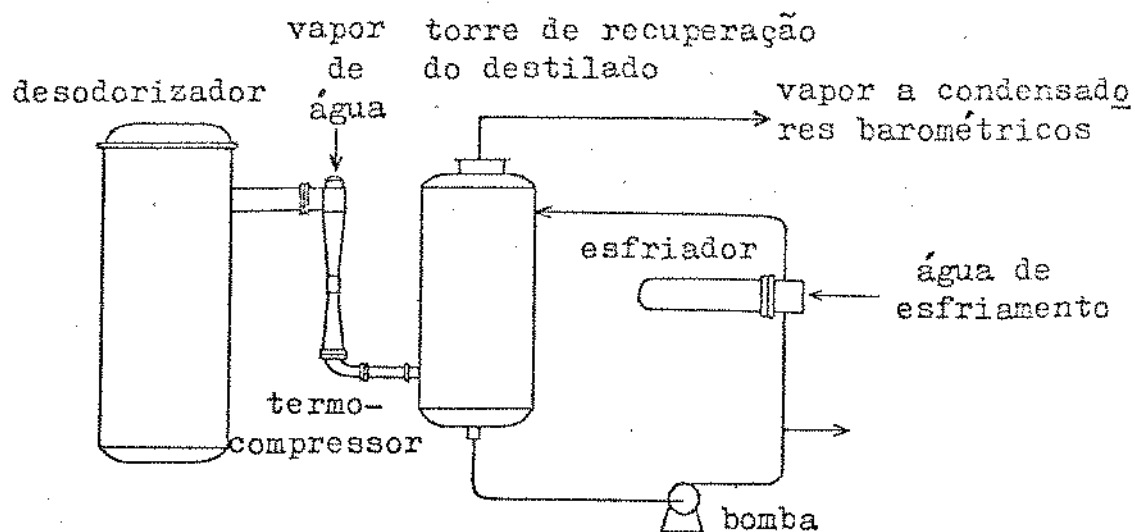


FIGURA 4. SISTEMA EMI Co. DE RECUPERAÇÃO DO DESTILADO DA DESODORIZAÇÃO DE ÓLEO COMESTÍVEL

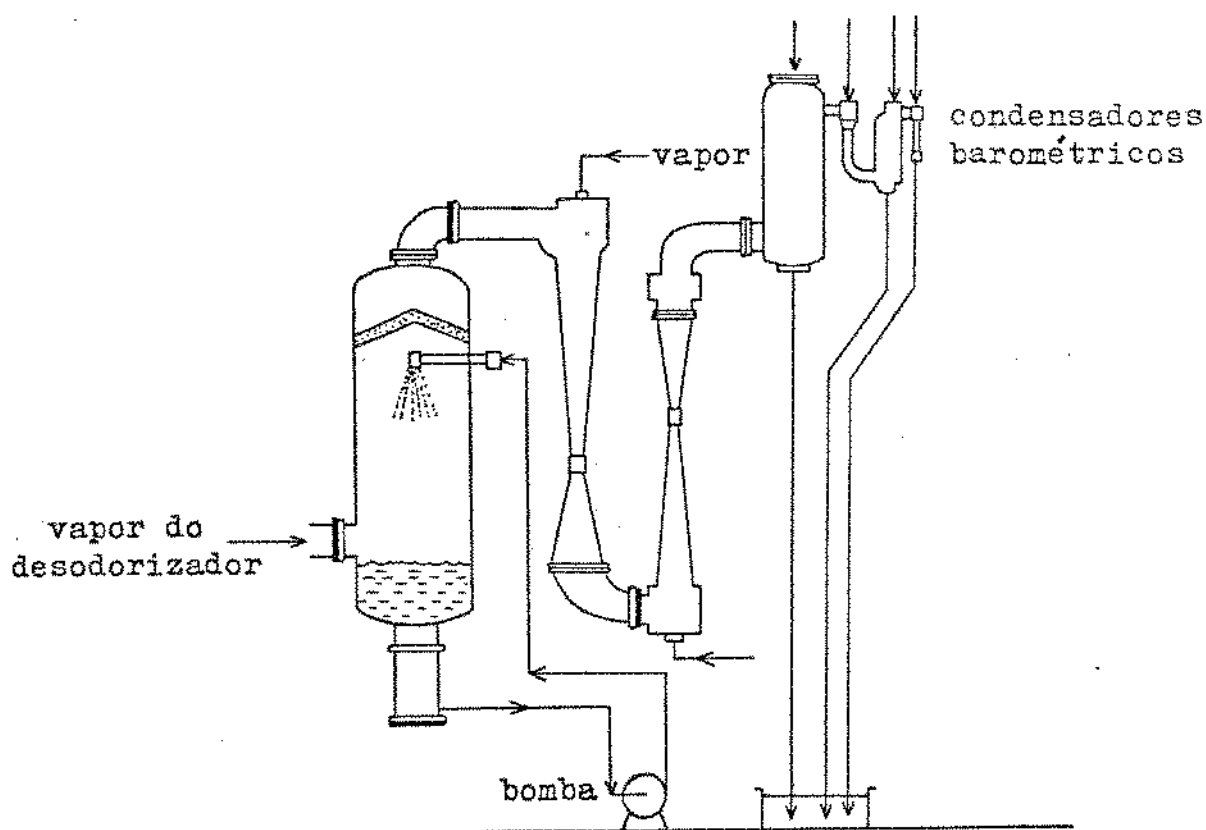


FIGURA 5. SISTEMA ELLIOT DE RECUPERAÇÃO DO DESTILADO DA DESODORIZAÇÃO DE ÓLEO COMESTÍVEL

também uma modificação deste sistema fazendo a condensação do destilado em duas etapas. Na primeira o destilado da desodorização passa à torre de resfriamento à mesma pressão e sendo resfriados com água ou mesmo com o destilado condensado nesta etapa. Este vapor menos quente passa a um separador-esfriador onde é condensado parcialmente, o vapor restante é tirado mediante um termocompressor transportado a uma segunda torre de resfriamento onde a pressão é elevada de 3 a 14 mm Hg sendo condensado com água ou o próprio condensado. A vantagem desta modificação é que a primeira fração mostra-se enriquecida em ácidos graxos e a segunda em tocoferóis e esteróis.

2.3.4 Perdas pelo processo de refinação

Nos processos de refinação de óleos comestíveis tem-se perda de óleo e outros compostos, sendo que a magnitude desta vai depender dos diferentes tipos de óleos e métodos utilizados. Na neutralização de óleo de soja com álcali as perdas estão na faixa de 4,3 a 12,0%, no branqueamento de 0,25 a 0,60% e no desodorizado de 0,2 a 0,8% (MATIL, 1964). Neste último processo, WOERFEL (1981) menciona que as perdas variam de 0,15 a 0,45% e CONTRERAS e BARATTA (1984) reportaram de 0,1 a 0,4%. Sob condições adequadas de processamento do óleo de soja considera-se uma média de 8% como perda total por refinação (FAO, 1980).

Como dito anteriormente, na refinação tiram-se não só compostos indesejáveis mas também outros compostos menores tais como tocoferóis e esteróis; daí a grande importância da recuperação dos subprodutos e a dosagem destes compostos.

De acordo com a literatura revisada, as perdas de tocoferóis totais pela refinação de óleo de soja é contraditória; assim HUNTER (1981) assinala uma média de 15,3% mas pode-se encontrar

perdas de até mais 41% ; igualmente, SLEETER (1981) afirma que as perdas são em média de 20%, podendo alcançar níveis até 50%. Em contraposição, LOURY (1970) reportou que as perdas são moderadas ou baixas. No Quadro 1, pode-se observar que as cifras sofrem muita variação, sobre tudo quanto a perda total. Esta varia em uma faixa de 7 a 14% na refinação química e de 25 a 66% na refinação física. Naquela a desodorização contribui com uma perda de mais de 25% do total, enquanto que na última está na faixa de 60 a 80% do total. As diferenças observadas nas cifras reportadas podem-se atribuir aos diferentes tratamentos que foram submetidos os óleos. O pH alcalino na neutralização e o branqueamento com terras ativas produzem oxidação dos tocoferóis formando dímeros (GUTFINGER e LETAN, 1974). As perdas de tocoferóis ocasionada pela desodorização do óleo é causada pelos parâmetros utilizados de alta temperatura e baixa pressão absoluta (HELME, 1980 e JAWAD et al., 1984). Nem todas as perdas são causadas pela eliminação senão também porque uma parte dos tocoferóis "perdidos" ficam retidos no óleo na forma de dímeros, e estes não são detectados pelos métodos comuns de determinação analítica.

Com relação às perdas por refinação nos diversos tipos de tocoferóis, pode-se observar no Quadro 2 que as quantidades são menores no óleo após refinação. GUTFINGER e LETAN (1974) encontraram que as cifras percentuais para o α -tocoferol variaram pouco, para o γ -tocoferol foram significativas e no caso do δ -tocoferol a variação foi muito maior; ao passo que JULLIET (1974), afirmara que a composição percentual não é muito modificada e que a relação α/γ -tocoferol mantém-se quase sem mudança. KARAALI (1985) achou em óleo de colza uma grande mudança para o γ -tocoferol e sem importancia em α - e δ -tocoferol ; embora LUDWICKI et alii

QUADRO 1. VARIAÇÃO DO TEOR DE TOCOFERÓIS TOTAIS NO ÓLEO DE SOJA NO CURSO DA REFINAÇÃO (mg/100g)

Cru	Neutralizado e branqueado	Degomado e branqueado	Desodorizado	Perda (%)		Autor
				total	desodorizado	
92,5	76,5		71,5	22,7	6,5	LOURY (1970)
102,8	100,7		95,7	7,0	5,0	LOURY (1970)
111,7	103,8		88,0	21,2	15,2	CONTRERAS e BARATTA (1984)
115,1	107,9		98,8	14,2	8,5	CONTRERAS e BARATTA (1984)
110,7	94,3		87,9	20,6	6,8	CONTRERAS e BARATTA (1984)
113,2	86,3		72,6	35,9	12,1	GUTFINGER e LETAN (1974)
92,5	76,5		71,5	17,3	5,4	JULLIET (1974)
90,6	69,8		65,2	29,9	6,6	STAGE (1985)
79,6	74,4		67,3	16,0	9,5	STAGE (1985)
82,7	77,9		69,1	16,5	10,6	NOGALA <u>et alli</u> (1986)
168,0			99,0	41,0		HUNTER (1981)
150-212			110-175	17-27		HELME (1975)
121,3		107,2	91,1	24,9	13,3	JAWAD <u>et alli</u> (1984)
110,3		86,1	47,8	66,5	44,5	STAGE (1985)
81,1		72,7	54,8	35,0	24,6	STAGE (1985)
89,2		83,8	50,3	46,1	40,0	STAGE (1985)

QUADRO 2. TEOR DE TOCOFERÓIS INDIVIDUAIS NO ÓLEO DE SOJA
SOB EFEITOS DA REFINAÇÃO (mg/kg)

Óleo	α -	γ -	δ -	Autor
Cru	124,2	762,1	242,7	GUTFINGER e LETAN (1974)
refinado	72,6	502,5	197,9	
cru	127,8	1014,9	309,3	GUTFINGER e LETAN (1974)
refinado	94,5	481,5	185,9	
cru	89,5	738,1	303,4	GUTFINGER e LETAN (1974)
refinado	59,5	450,0	215,6	
cru	56,8	485,5	283,6	NOGALA <u>et alli</u> (1986)
refinado	50,2	408,4	232,9	
cru	74,0	736,0	403,0	JAWAD <u>et alli</u> (1984)
refinado	61,0	571,0	279,0	

(1986) encontraram uma perda de 59% no α -tocoferol por efeitos da refinação e afirmaram que o processo de desodorização contribui com uma percentagem insignificante. FEDELI e GASPAROLI (1975) e KANEMATSU et alli (1983), reportaram que a distribuição percentual dos tocoferóis no óleo de soja refinado é a mesma que no óleo cru. Pode-se então afirmar que a composição em quantidade dos tocoferóis no óleo de soja diminui notavelmente pela refinação mas a composição percentual não tem variação significativa.

2.4 COMPOSIÇÃO DO DESTILADO DA DESODORIZAÇÃO DO ÓLEO DE SOJA

No Quadro 3, nota-se a composição do destilado da desodorização do óleo de soja reportada por vários autores.

De acordo com WATSON e MEIERHOEFER (1976), GAVIN (1981) e WOERFEL (1981), as diferenças observadas na composição dos destilados é provocada pelas razões seguintes :

QUADRO 3. COMPOSIÇÃO DO DESTILADO DA DESODORIZAÇÃO DO ÓLEO
DE SOJA (%)

Compostos	(a)	(a)	(b)	(c)	(d)
Ácidos graxos totais	62,1	60,0	—	—	—
ácidos graxos livres	36,0	36,0	—	—	39,7
esteróis totais	17,1	26,0	22,0	—	18,6
tocoferóis totais	8,7	7,6	12,3	4,6-14,0	12,4
α	1,1	1,0	1,5	0,7- 0,9	2,3
β	0,2	0,4	7,7	3,0- 8,8	7,7
γ	5,0	4,2			
δ	2,4	2,0	3,0	1,2- 4,3	2,5
hidrocarbonetos	4,1	3,5	—	—	—
triglicerídios	4,0	—	—	—	—

(a) CONTRERAS e BARATTA (1984), (b) NELSON e MILUN (1968),
(c) FEETER (1974) e (d) WOERFEL (1981)

- sistemas de desodorização utilizados,
- diferenças nos parâmetros do processo e
- sistemas utilizados na recuperação do destilado.

O teor de tocoferóis está na faixa de 4,6 a 14%, sendo que os tipos γ- e δ-tocoferol encontram-se em maior proporção. Observa-se um alto conteúdo de ácidos graxos livres e o teor de esteróis é bem maior que o dos tocoferóis. A respeito disto, WOERFEL (1981) menciona que, dependendo das condições de mercado, o valor do destilado poderia ser determinado por seu conteúdo de esteróis mais que pelos tocoferóis. Entre os hidrocarbonetos o mais importante é o esqualeno (JAWAD *et alli*, 1984) o qual tem relativas propriedades antioxidantes e é sinergista dos tocoferóis (SEHER e IVANOV, 1973).

2.5 AUTOXIDAÇÃO DOS LIPÍDIOS

2.5.1 Generalidades

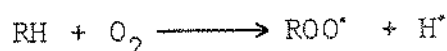
Após a morte, os lipídios de peixe experimentam duas mudanças: hidrólise e autoxidação. Com a possível exceção de um ou dois produtos pesqueiros, os efeitos produzidos por estas mudanças são consideradas indesejáveis e são muitas vezes as causas principais da deterioração (HARDY, 1980). A mais importante é a autoxidação, acontecendo em alimentos marinhos frescos, congelados e secos (KHAYAT e SCHWALL, 1983).

O quadro geral da oxidação de lipídios, com todas suas respectivas vias, mostra-se na Figura 6 (LABUZA, 1971 e KHAYAT e SCHWALL, 1983).

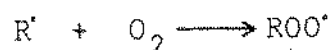
2.5.2 Autoxidação

O mecanismo geral da autoxidação envolve três fases (LABUZA, 1971 e CHEFTEL e CHEFTEL, 1976) :

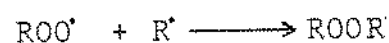
(a) Iniciação ou indução



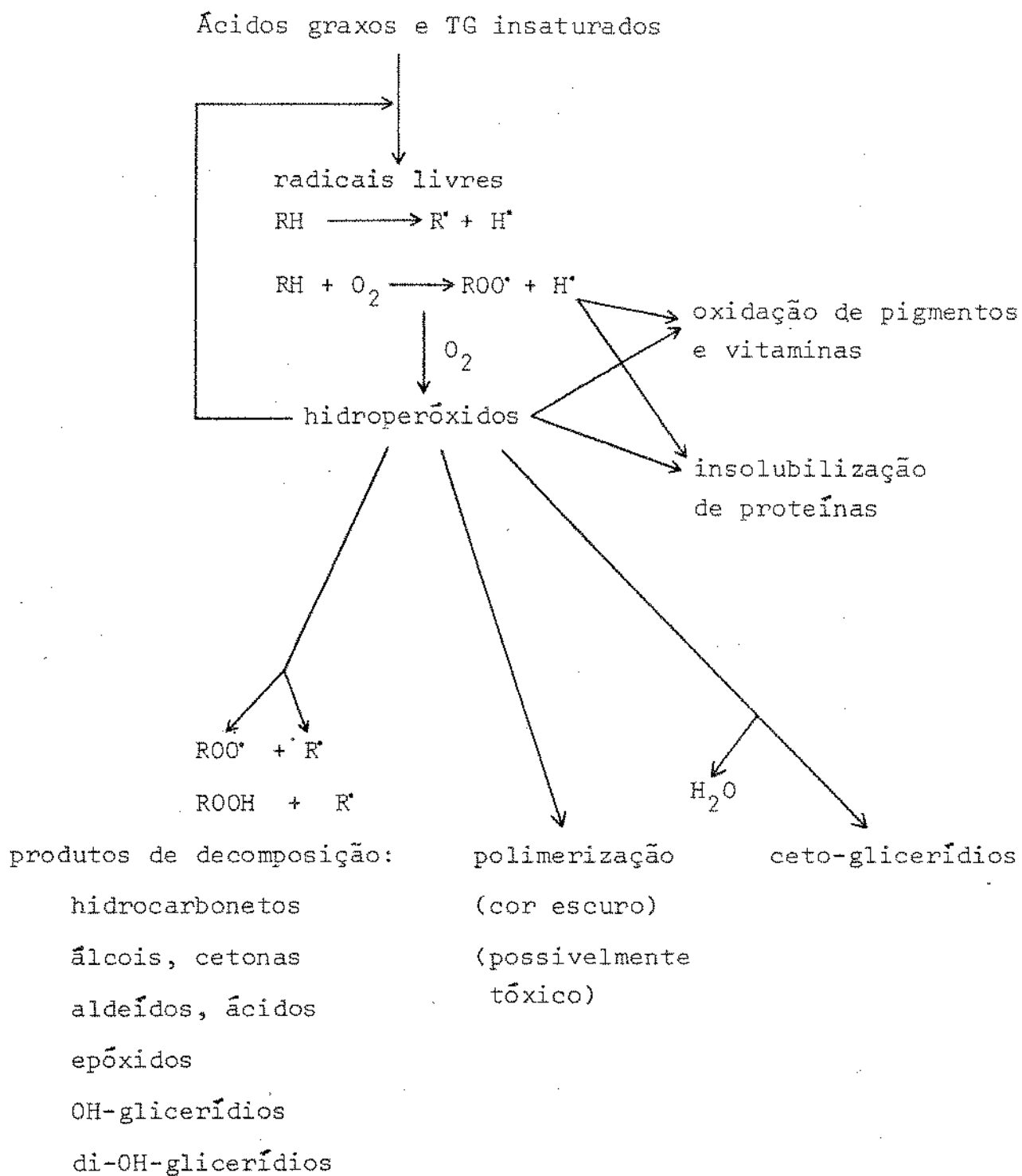
(b) Propagação



(c) Terminação



A seguir se detalharão cada uma delas.



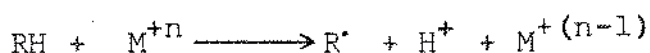
TG : triglicerídios

FIGURA 6. ESQUEMA GERAL DA OXIDAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS E TRIGLICERÍDIOS INSATURADOS E REAÇÕES COLATERAIS

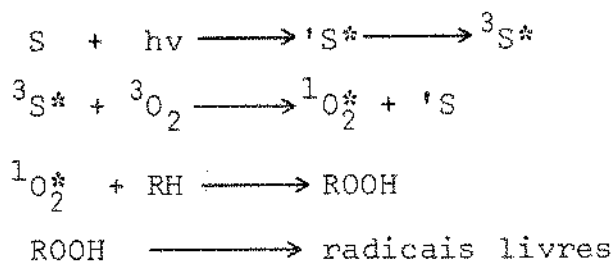
(a) Indução

Esta primeira fase caracteriza-se pela formação e aumento da concentração de radicais livres. O consumo de oxigênio é baixo e lento por esse motivo o nível de peróxidos também é muito baixo (DUGAN, 1976).

De acordo com LABUZA (1971) e CHEFTEL e CHEFTEL (1976) as reações de indução têm uma energia de ativação elevada (35 a 65 Kcal/mol); embora, possam ser favorecidas pelas altas temperaturas e sobretudo pela luz e traços de alguns metais :



Segundo LABUZA (1971) e PONGRACZ (1984), a viabilidade da reação entre o oxigênio molecular e o ácido graxo insaturado é improvável termodinamicamente, mas afirmam que esta reação é possível através da formação de um oxigênio singlete em uma reação fotoquímica em presença de um sensibilizador :

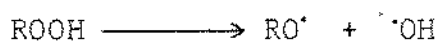


onde :

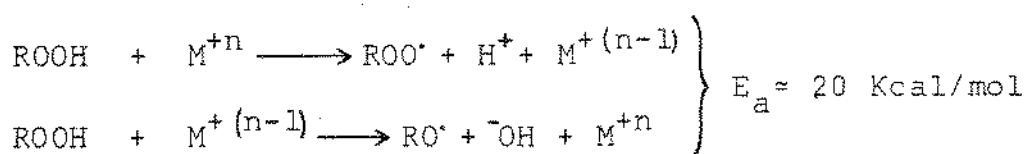
- S = sensibilizador em estado triplete
- 1S = sensibilizador em estado singlete
- ${}^1S^*$ = sensibilizador em estado singlete excitado
- ${}^3S^*$ = sensibilizador em estado triplete excitado
- 3O_2 = oxigênio triplete
- ${}^1O_2^*$ = oxigênio singlete excitado

Por outro lado, encontrou-se que o oxigênio singlete reage cerca de 10^3 a 10^4 vezes mais rápido com o metil-linoleato que o oxigênio molecular (CHEFTEL e CHEFTEL, 1976).

Quando a reação está mais avançada e o conteúdo de peróxidos encontra-se incrementado ligeiramente surge a chamada indução secundária, motivada pela decomposição dos peróxidos (LABUZA, 1971 e CHEFTEL e CHEFTEL, 1976) :

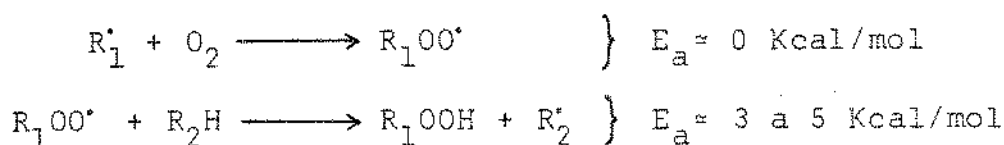


As energias de ativação destas duas reações são elevadas mas reduzem-se pela luz e os catalisadores metálicos :



(b) Propagação

A propagação está constituída por as duas reações seguintes (LABUZA, 1971) :

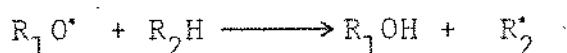
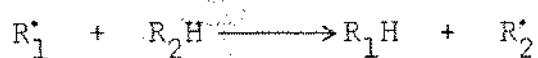


Estas reações são rápidas porque os radicais livres portadores de um elétron não pareado são muito reativos. Fazendo um balanço tem-se :



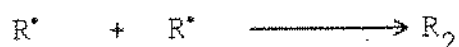
Portanto, a propagação traduz-se pelo rápido incremento dos peróxidos consequência da oxidação dos lipídios insaturados que é paralela a um consumo de oxigênio gaseoso.

Segundo DUGAN (1976) e CHEFTEL e CHEFTEL (1976), também podem-se produzir reações do tipo :

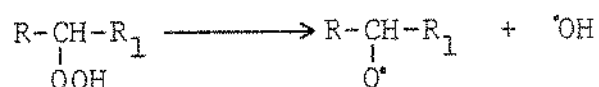


(c) Terminação

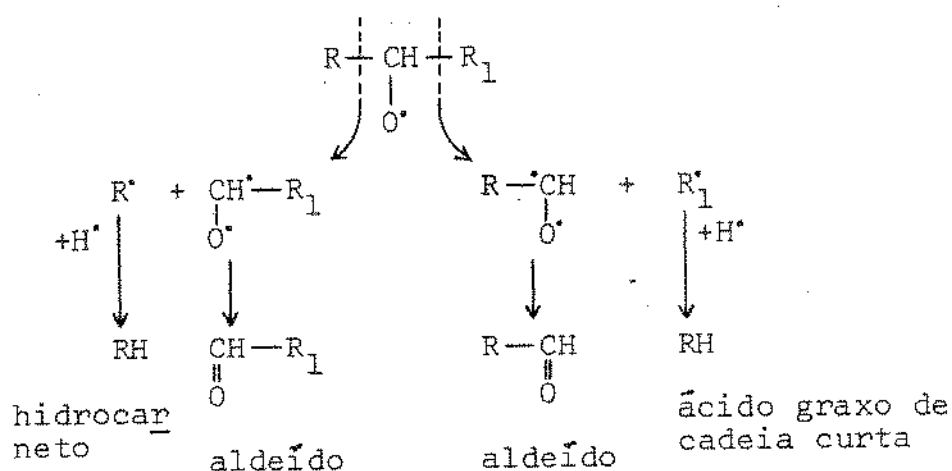
Ao mesmo tempo que ocorrem as reações de indução e propagação, podem-se realizar as reações de terminação que motivam a desapareição dos radicais livres (CHEFTEL e CHEFTEL, 1976 e DUGAN, 1976) :



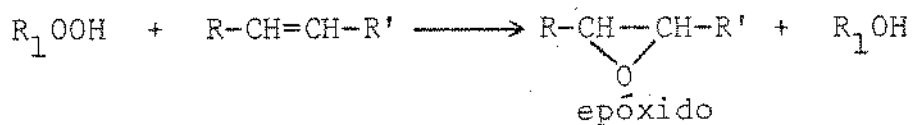
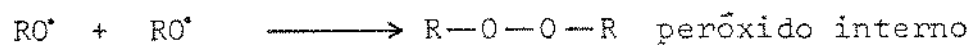
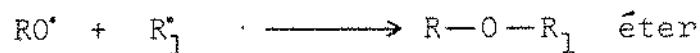
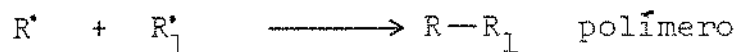
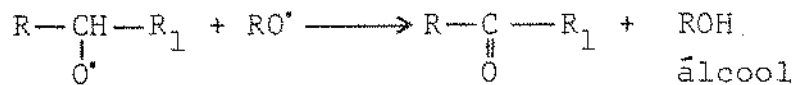
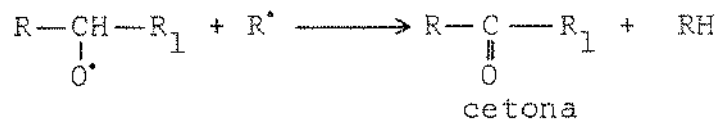
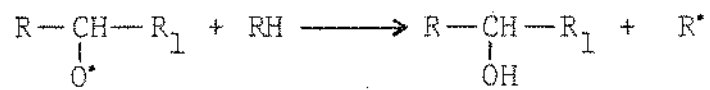
Estes mesmos autores mencionam que estas reações induzem à formação de compostos muito diversos. Assim, a decomposição dos peróxidos pode seguir vários caminhos, uma cisão homolítica dá lugar à formação de dois radicais livres muito ativos :



depois da quebra do radical livre oxiácido graxo produzem-se os compostos seguintes:



Também podem acontecer outras reações tais como :



2.5.3 Reações oxidativas dos ácidos graxos insaturados

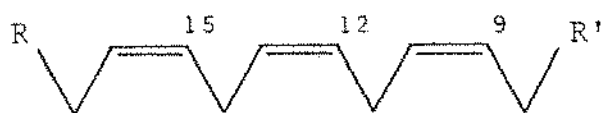
O óleo dos peixes caracteriza-se por seu alto conteúdo de ácidos graxos polinsaturados principalmente do tipo n-3 com predominância de C20:5 e C22:6 (ACKMAN, 1976 e REICHWALD, 1976), também contem C14:0, C16:0 e C18:1 em grandes quantidades e em menores quantias C18:0, C18:2, C18:3, C20:4 e C22:5 (GRUGER, 1967). A composição em ácidos graxos dos óleos de sardinha e anchoveta mostram-se no Quadro 4. Neste observa-se, também, a composição do óleo da farinha a qual é submetida a um severo tratamento térmico na sua elaboração; no entanto, ainda mantém um alto teor de ácidos graxos polinsaturados.

Outrossim, os ácidos graxos polinsaturados dos peixes têm duplas ligações de natureza metilênica da forma cis como, por exemplo, no caso do ácido α -linolênico (GRUGER, 1967 e FAO, 1980) :

QUADRO 4. COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE SARDINHA E
DOS ÓLEOS DE ANCHOVETA E SUA FARINHA (%)

Ácido graxo	Óleo de sardinha				Anchoveta	
	MELLO (1986)	FERNANDEZ (1978)	VICETTI (1984)	ARAKAKI <u>et</u> <u>al.</u> (1985)	Óleo farinha SANCHEZ (1967)	HEISS (1973)
C12:0	1,6				0,1	
C14:0	12,5	3,5	4,8	6,0	12,4	9,9
C14:1	0,7		+	+		
C15:0		+	0,3	0,6	0,5	+
C16:0	21,9	17,5	16,2	18,0	20,5	37,3
C16:1	6,2	5,0	7,1	8,2	11,1	
C17:0			0,6	1,5	1,9	
C18:0	7,8	4,8	4,1	4,4	4,1	18,9
C18:1	20,3	18,8	9,5	14,3	14,4	
C18:2	4,7	2,7	0,8	2,0	3,6	0,9
C18:3	2,2	4,5	0,2	+		
C20:0	0,7	3,9			0,3	0,4
C20:1	0,9	4,0	1,2	5,1	2,1	0,1
C20:2					2,5	1,7
C20:4		1,2	1,4	1,3	0,5	0,8
C20:5	16,4	16,1	16,2	18,5	16,7	13,1
C22:5			5,5	2,9	3,5	15,0
C22:6	3,1	16,2	19,3	10,7	4,4	

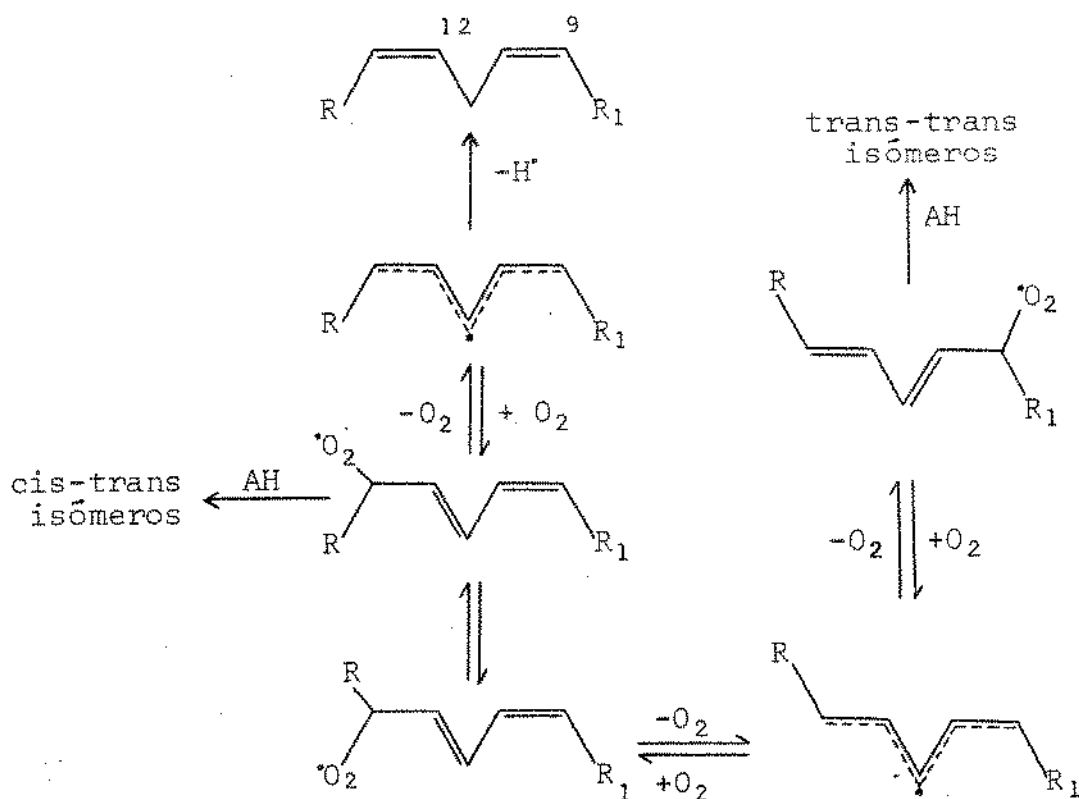
+ : traços



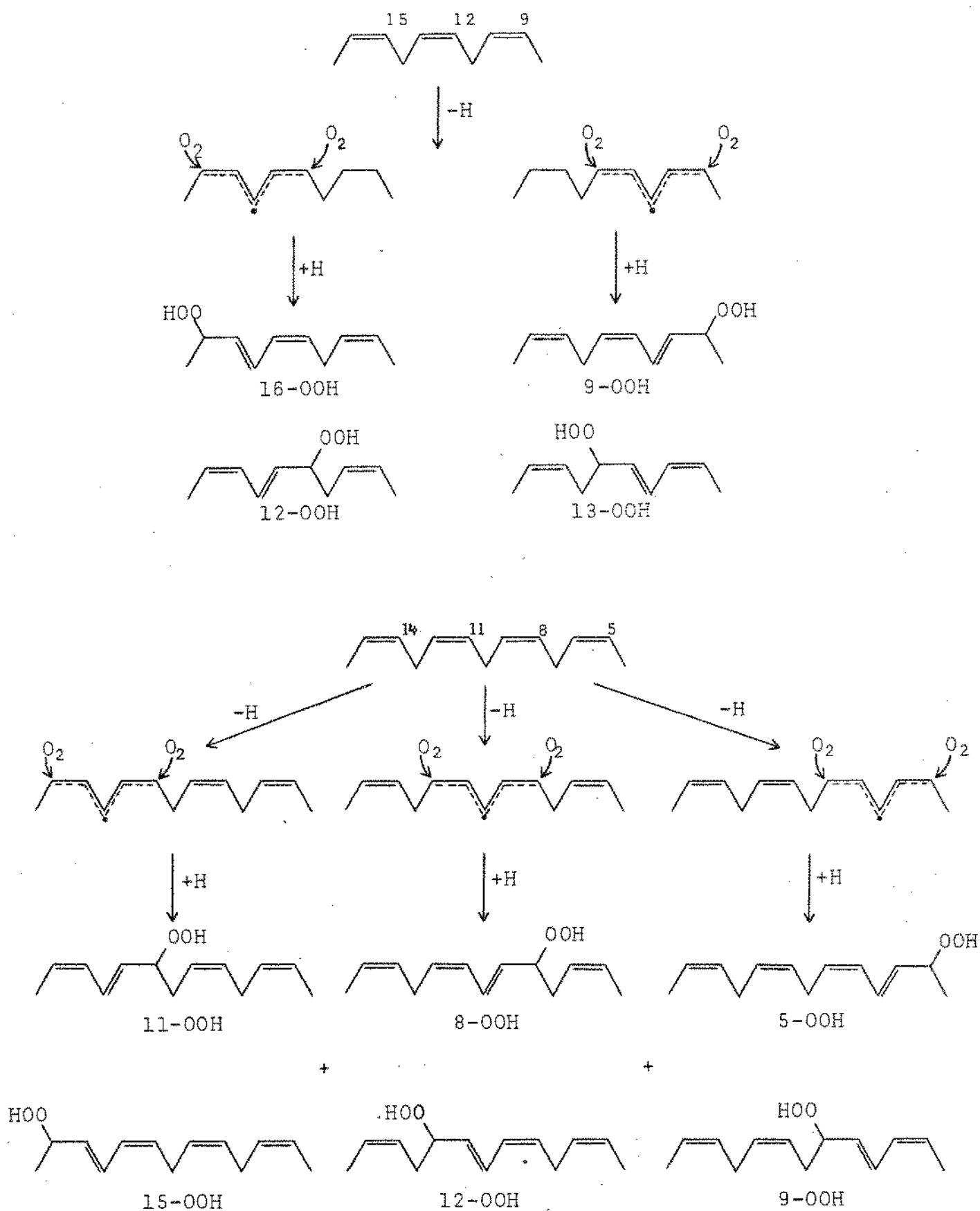
9c,12c,15c-octadecatrienóico
(ácido α -linolénico)

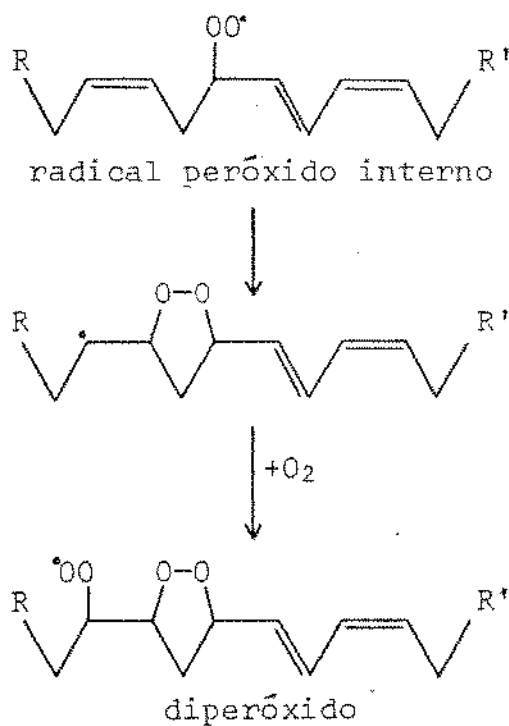
Estes ácidos graxos normalmente estão em estado não conjugado e favorecem, mediante o efeito de ressonância e a baixa energia de ativação, o rearrançamento dos elétrons das duplas ligações na cadeia produzindo radicais livres com maior facilidade (GUNSTONE, 1967).

Levando-se em consideração a composição e natureza dos ácidos graxos nos óleos de peixe, é fácil deduzir o papel importante que têm os do tipo polinsaturado na autooxidação. Pelo fato dos mecanismos de oxidação destes óleos serem complexos, só se tem trabalhado em sistemas isolados de alguns tipos de ácidos graxos. Assim, segundo TERAQ e MATSUSHITA (1977), PORTER *et alli* (1980) e CHAN *et alli* (1982), o mecanismo da autooxidação do linoleato é o seguinte:

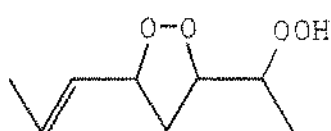


Por outro lado, os mecanismos da oxidação do linolenato e araquidonato são os seguintes (FRANKEL, 1984; TERAO *et alli*, 1984 e PAQUETTE *et alli*, 1985):

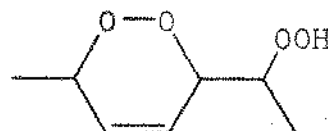




FRANKEL (1984) fez uma revisão dos mecanismos de autoxi-
dação e indicou vários tipos de diperoxidos a partir do linoleato
e linolenato :

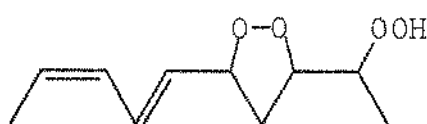


(A)

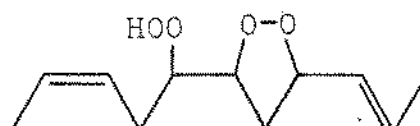


(B)

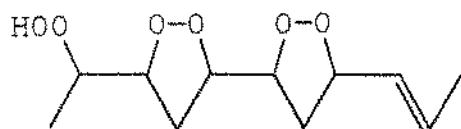
Diperoxidos do linoleato fotoxidado



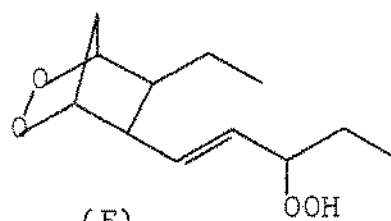
(C)



(D)



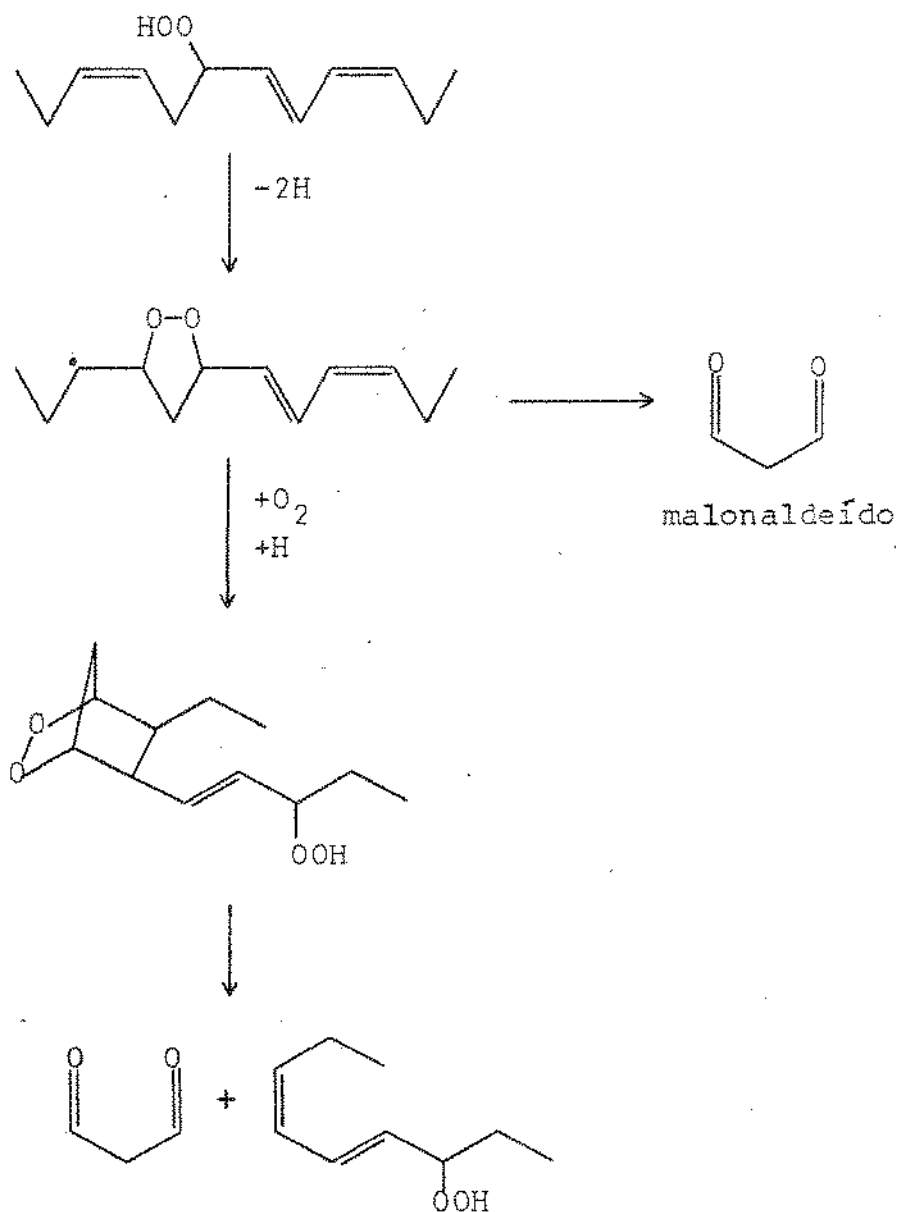
(E)



(F)

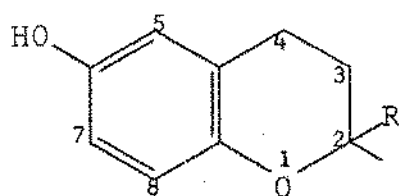
Diperoxidos do linolenato fotoxidado

Finalmente, Pryor et alli (1976), NEFF et alli (1982) e PEARSON et alli (1983), mostraram um mecanismo pelo qual poderia explicar , mais adequadamente, porque os ácidos graxos polinsaturados produzem maiores níveis de malonaldeído que os ácidos graxos com uma ou duas duplas ligações :



2.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS TOCOFERÓIS

Os tocoferóis, conhecidos como o grupo da vitamina E, estão constituídos por vários compostos tais como: α -, β -, γ - e δ -to_{co}ferol; também incluem-se neste grupo aos tocotrienóis. A estrutura química deles é a seguinte (DUGAN, 1976) :



tocoferóis R :

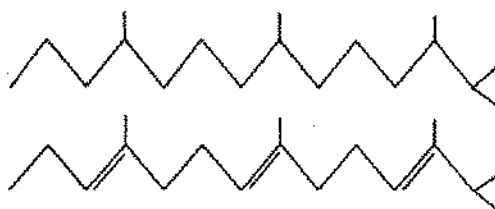
tocotrienóis R :

α - 5,7,8-trimetil

β - 5,8-dimetil

γ - 7,8-dimetil

δ - 8-metil



Ocorrem em quase todos os alimentos, sendo suas fontes principais os óleos vegetais (e.g. soja, milho, colza, etc.) e o de fígado de peixe. Segundo OLCOTT (1967), o teor de tocoferóis no músculo dos peixes é variável e reporta um conteúdo de 400 , 600 e 2200 mg/100g de óleo para sardinha, atum e salmão, respectivamente; menciona também que estes teores devem ser considerados como estimados pois variam com a estação do ano e a dieta.

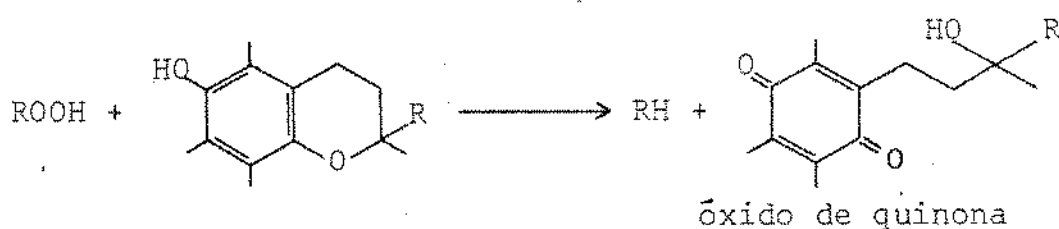
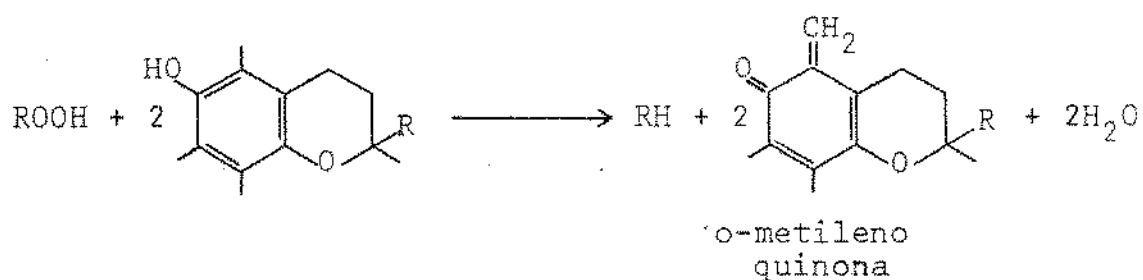
2.6.1 Mecanismos de ação

Os tocoferóis são conhecidos pela sua atividade antioxidante nos sistemas biológicos; sua ação nos alimentos está restrita ao uso do α -tocoferol sintético. Os isômeros de mais alta atividade são o γ - e δ -tocoferol.

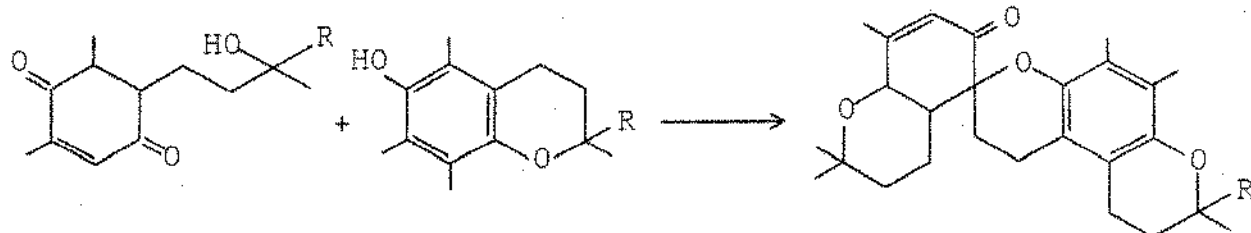
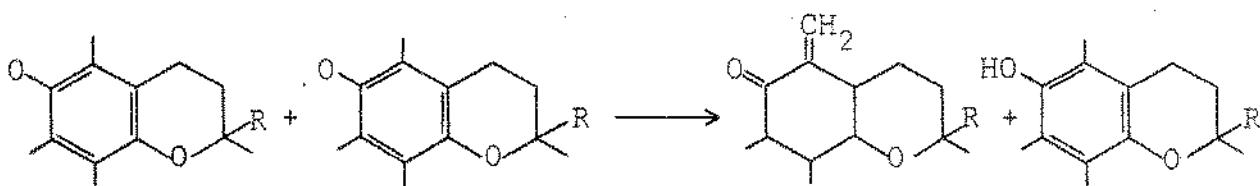
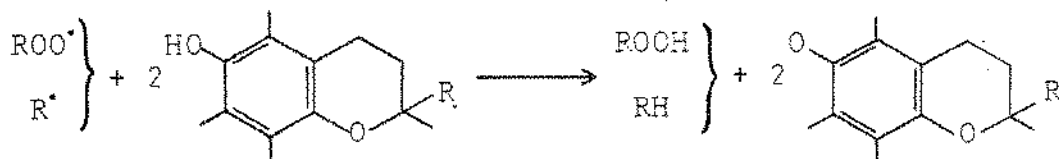
Segundo YANISHLIEVA *et alii* (1977) e PONGRACZ (1984) os tocoferóis decompõem os hidropéroxidos e reagem com os radicais livres tendo ação, desta maneira, nas etapas de indução e propagação da autoxidação.

CSALLAMY *et alli* (1970), POKORNÝ *et alli* (1973) e PON-GRACZ (1984), detalharam as reações dos tocoferóis com os hidrope-
róxidos e radicais livres da forma seguinte :

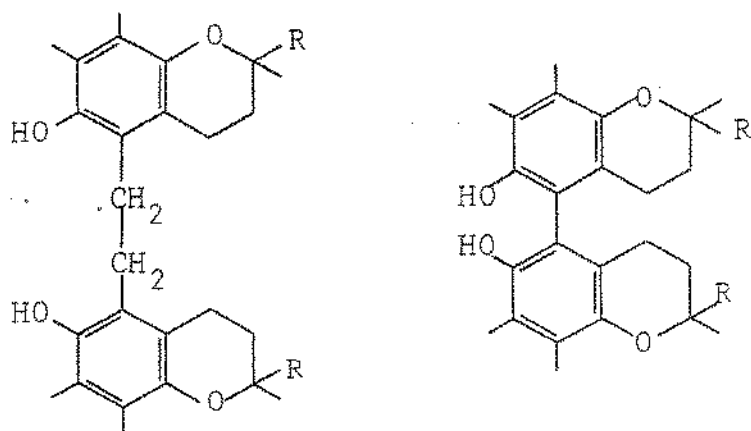
(a)



(b)



Os produtos principais da fotoxidação dos tocoferóis são uma mistura equimolecular de óxido de quinona e quinona (GRAMS e INGLET, 1972). Outros pesquisadores têm investigado os dímeros dos tocoferóis. Assim, GUTFINGER e LETAN (1972) estabeleceram um método cromatográfico na detecção dos dímeros dos tocoferóis. É importante assinalar que vários destes produtos reagem com o reagente de EMMERIE-ENGEL, mas é uma fração pequena. A importância destes dímeros e/ou trímeros está no fato de que eles mantêm o poder antioxidante e, em alguns casos, este nível de atividade inclusive é maior. Segundo HUDSON e GHAVAMI (1984a) dois dímeros do tocoferol foram antioxidantes efetivos e afirmam que a razão disto é que estes compostos possuem dois grupos fenólicos :



Sob as condições do método do oxigênio ativo, formaram-se três dímeros do γ -tocoferol durante a oxidação do metil-linoleato (FUJITANI e ANDO, 1981) que apresentaram atividade antioxidante. Por outro lado, três dímeros do destilado da desodorização do óleo de soja mostraram uma forte ação antioxidante no óleo de ba leia parcialmente hidrogenado (SEINO *et alli*, 1971). ISHIKAWA e YUKI (1975) oxidaram α -, γ - e δ -tocoferol em presença do óxido de trimetilamina, obtendo 11 dímeros dos quais 8 tiveram uma atividade antioxidante maior que seus respectivos tocoferóis.

Segundo BURGEON (1981), em níveis de 200 ppm, a ação antioxidante dos tocoferóis é a seguinte :

entre 80° a 120°C $\delta > \gamma > \alpha > \beta$

entre 20° a 60°C $\alpha > \gamma > \beta > \delta$

PONGRACZ (1984), assinala que a ação dos tocoferóis é dependente da temperatura e da concentração. A diferente ação mostrada pelos isômeros do tocoferol está na diferente posição dos radicais metila nas suas estruturas. O o-CH₃ influencia na velocidade de reação do grupo -OH e, portanto, na ação antioxidante :

- a substituição alquila na posição o- ou p- tem uma grande influência no aumento da atividade antioxidativa, especialmente, a o,o-substituição com grupos t-butila ou metila incrementa a atividade,
- os grupos -CH₃ impedem estericamente o grupo -OH, este impedimento pode levar a diminuir a atividade.

2.6.2 Compostos sinergistas

Os tocoferóis são antioxidantes naturais mas têm um efeito fraco sobre a autooxidação de óleos polinsaturados, por esta razão deve-se adicionar outros compostos de ação sinergista.

Existem informações divergentes a respeito das propriedades dos fosfolipídios em relação à oxidação dos óleos, provavelmente porque os investigadores usaram diferentes métodos de avaliação. Porém, atualmente existe suficiente evidência de que alguns fosfolipídios mostram um alto grau de sinergismo (HUDSON e GHAVAMI, 1984b).

Segundo HILDEBRAND et alii (1984), DZIEDZIC e HUDSON (1984) e ISHIKAWA et alii (1984), a fosfatidilcolina e a fosfatidiletanolamina são eficientes sinergistas dos tocoferóis; entretanto HUDSON e GHAVAMI (1984b) mencionam que a fosfatidiletanol-

mina é mais eficaz. Inclusive foi achado que o ácido fosfatídico apresenta atividade sinérgica misturado com os tocoferóis (HILDEBRAND et alii, 1984). O fato de que este ácido também tenha efeito sinérgico sugere a participação do grupo fosfato (ISHIKAWA et alii, 1984).

Os fosfolipídios atuam sobre os catalizadores metálicos inativando-os (PONGRACZ, 1984) mas também parecem estender a efetividade dos tocoferóis na terminação dos radicais livres (HILDEBRAND et alii, 1984). A inibição da oxidação do tocoferol pelos fosfolipídios é produzida pela formação de uma ponte de hidrogênio entre o grupo amino e o tocoferol (YUKI et al., 1978 e YUKI et alii, 1980).

O óxido de trimetilamina tem ação sinérgica com os tocoferóis, sobretudo o γ -tocopherol, em presença de fosfolipídios. O mecanismo é a interação deste óxido com os dímeros do γ -tocopherol (ISHIKAWA e YUKI, 1975; ISHIKAWA et alii, 1978 e ISHIKAWA, 1982).

Os aminoácidos têm demonstrado possuírem ação sinérgica com os tocoferóis. Uma mistura de aminoácidos mostrou ter ótima eficiência, especialmente com o γ -tocopherol, incrementando seu poder antioxidante em 15 vezes; os isômeros α -, β - e δ -tocopherol também incrementaram sua atividade e esta foi maior que a do BHA e do BHT (SEHER e LÖSCHNER, 1986).

Por outro lado, o palmitato de ascorbila tem ação sinérgica com o α -tocopherol em presença dos fosfolipídios, possivelmente o ascorbila regenera o radical α -tocopheril, e tem-se excelentes resultados se são adicionados fosfolipídios ao sistema (BURGEIS, 1981). Finalmente, YAMAUCHI et alii (1981) reportaram que o ácido ascórbico incrementa o efeito inibitório do α -tocopherol, atuando ambos na complexação do oxigênio singlete.

III. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Matérias primas

A matéria prima utilizada na elaboração da farinha foi a sardinha (*Sardinella brasiliensis*) fresca comprada no mercado - local de Campinas, em condições normais de comercialização.

O destilado da desodorização de óleo de soja (DDOS) foi obtido da Indústria Minasa S.A., São Paulo, contendo um teor de - tocoferóis totais do 10%.

3.1.2 Reagentes

Os reagentes químicos mais importantes foram:

Hidroxibutilanisol (BHA) Sigma Chemical Co.

Hidroxibutiltolueno (BHT) Sigma Chemical Co.

ter-Butilhidroquinona (TBHQ) Fluka AG, Chemische Fabrik

Etoxiquina (EQ) Bann Química, SP

Lecitina LECSAM SB Sanbra (62% fosfolipídios)

Ácido 2-tiobarbitúrico p.a. Sigma Chemical Co

Floroglucinol p.a. Merck AG-Darmstadt

p-Anisidina p.a. Fluka AG, Chemische Fabrik

dl- α -Tocoferol p.a. Merck

Os outros reagentes utilizados estiveram dentro dos padrões do grau de pureza exigidos pelas especificações dos métodos

3.1.3 Equipamentos

Utilizaram-se os seguintes equipamentos :

Moinho coloidal Filizola, N98376

Moinho de martelos marca Tigre S.A., tipo CV2

Estufas FANEM modelos 315 SE e 330

Geladeira Gelomatic Friser 360

Fogão a gas Brastemp

Triturador Braun KSM 2

Misturador Braun Multipractic MC-1

Balança analítica Ainsworth USA, máx 200 g.

Balança de braço Marte modelo 1001, máx 1,6 Kg

Agitador de tubos Phoenix, SP, modelo HS 22

Centrífuga FANEM Ltda, Excelsa 3

Banho de água FANEM Ltda, 35º-120ºC

Banho de água, Ultratermost Zup UTU, -30º a 200ºC

Mufla Ind. Com. FORNITEC Ltda, N90822

Espectrofotômetro Micronal B295 II

Refratômetro ATAGO ATC-1, Japão

Termômetro digital COPLAN, -70º a 1200ºC

Cromatôgrafo gas-líquido Instr. Científicos CG Ltda 37

Integrador Processador Intr. Científicos CG 300

Cromatôgrafo líquido de alta pressão, VARIAN 8500, USA

Aparelho tipo Kjeldahl para determinação de nitrogênio

3.2 PARTE EXPERIMENTAL

O estudo do potencial do DDOS como antioxidante natural para farinha de pescado envolve diversas etapas a fim de avaliar a eficiência deste material em termos comparativos com os antioxidantes comumente usados pela indústria. A sequência das preparações e os testes de controle da oxidação aparecem esquematizados na Figura 7.

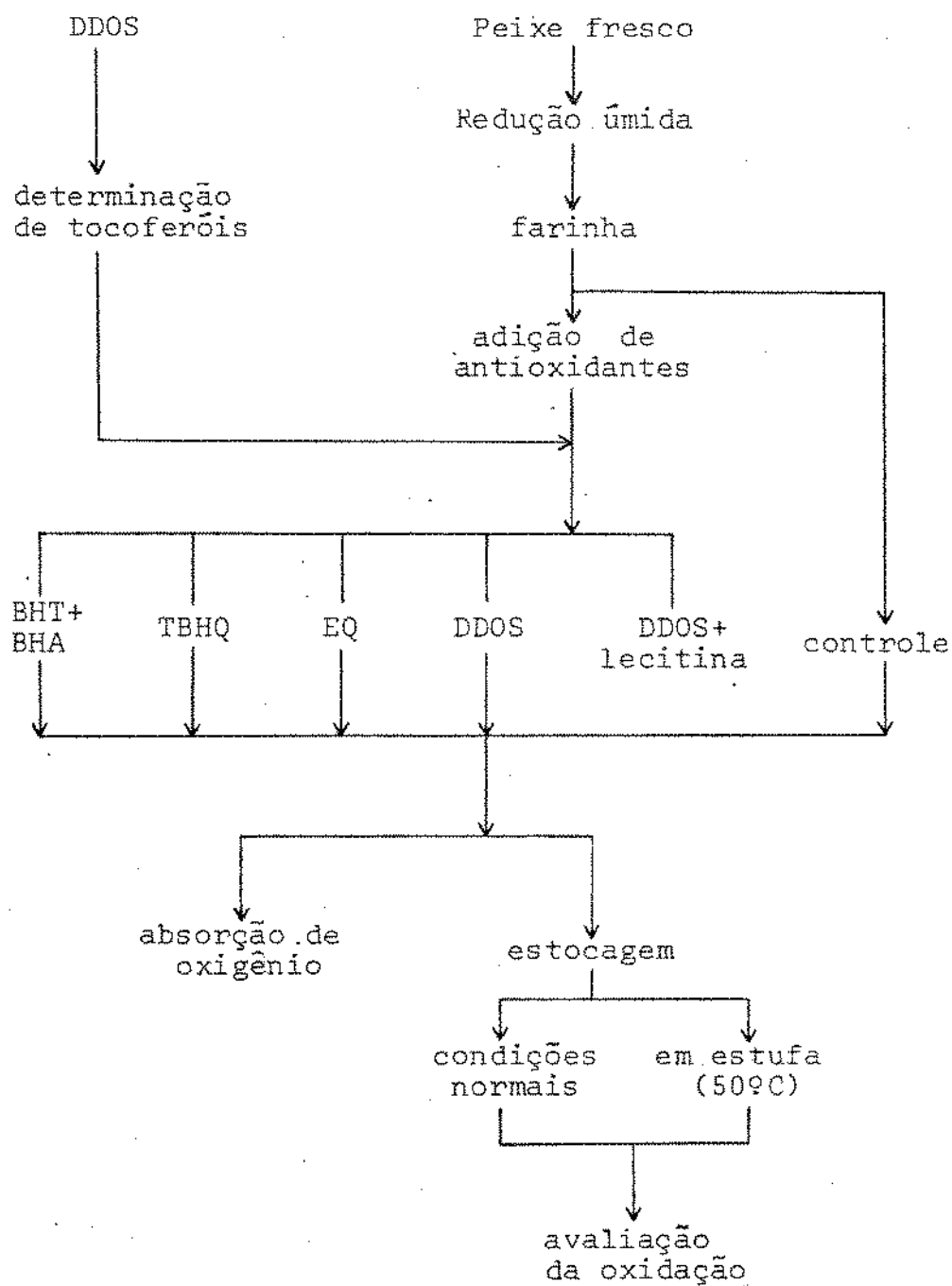


FIGURA 7. FLUXOGRAMA DA ELABORAÇÃO DA FARINHA DE SARDINHA E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTES

3.2.1 Elaboração da farinha de pescado

A farinha foi preparada pelo processo de redução úmida para se obter farinha integral nas seguintes condições : 60 kg de sardinha foram cozinhados a 85°-90°C por 15 minutos em tacho aberto. A massa cozida foi colocada em um saco de algodão e prensada em uma prensa manual. A torta prensada foi quebrada em pedaços menores e conservada refrigerada até usar. A fração líquida (licor de prensa) foi resfriada e deixada em geladeira por 12 horas permitindo a separação das frações oleosa e aquosa. A fase oleosa em estado semi-sólido foi removida e descartada . A fase inferior constituída por água e solutos musculares foi submetida a evaporação até atingir 35% de sólidos totais. Os solúveis concentrados foram então incorporados na torta de prensa em um misturador mecânico para homogenizar e desintegrar os blocos de torta. A secagem foi realizada em um secador de bandejas com circulação de ar (3 m/seg) a 80°-85°C até que a umidade da farinha atingisse 10%. Finalmente, a massa seca foi moída em um moinho de martelos provido de uma peneira de 50 mesh.

3.2.2 Preparação dos tratamentos e adição dos antioxidantes

A identificação dos tratamentos e as quantidades de antioxidantes adicionados aparecem no Quadro 5.

Foram preparados 12 tratamentos da farinha em lotes de 1 kg cada, adicionando os antioxidantes dissolvidos em 3 mL de hexana, exceto a lecitina que foi dissolvida em 3 mL de etanol. Para tanto, 1 kg de farinha colocado em um misturador elétrico e a solução de antioxidante despejada vagarosamente com o misturador em regime. Após adição, as farinhas foram deixadas ao ar livre - por 30 minutos para evaporar o solvente e resfriar as preparações.

QUADRO 5. CLASSES E QUANTIDADES DE ANTIOXIDANTES USADOS
NO TRATAMENTO DA FARINHA DE SARDINHA

Trata- mento	Antioxidantes adicionados	Quantidade de anti- oxidante (*)
A	farinha controle	sem antioxidante
B	BHT + BHA (1:1)	500 ppm
C	TBHQ	500 ppm
D	EQ	500 ppm
E	DDOS	0,25% (250 ppm Toc)
F	DDOS	0,50% (500 ppm Toc)
G	DDOS	0,75% (750 ppm Toc)
H	DDOS	1,0 % (1000 ppm Toc)
I	DDOS lecitina	0,25 % 0,075%
J	DDOS lecitina	0,50 % 0,075%
K	DDOS lecitina	0,75 % 0,075%
L	lecitina	0,075%

(*) em peso da farinha

Toc : tocoferóis totais

3.2.3 Embalagem e estocagem dos lotes

Cada lote de 1 Kg foi dividido em dois sublotos de 500g cada e empacotado em pequenos sacos de polietileno trançado . Os sublotos foram armazenados em duas formas :

(a) Em condições normais

Um sublote de cada tratamento foi armazenado em condições normais de laboratório ($22^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$) por 6 meses. A evolução da oxidação foi acompanhada por um conjunto de determinações

detalhadas no item dos métodos analíticos 3.3. Estes testes foram realizados na farinha controle e no tratamento L após 7, 15, 30, 45, 70, 90, 120 e 150 dias; ao passo que nos tratamentos com anti oxidantes a frequência foi a mesma, exceto a amostragem dos 15 dias.

(b) Em estufa

O outro sublote foi utilizado para fazer os testes de oxidação acelerada em estufa. Neste caso 6 porções de 20g de farinha de cada tratamento foram colocadas em caixinhas abertas de papel filtro de 14x10x2 cm e submetidas a oxidação por aquecimento a $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ em uma estufa com circulação de ar (3m/seg) . O a vanço da oxidação foi avaliado pelas determinações químicas do item 3.3, estas foram feitas na farinha controle e no tratamento L após 12, 20, 63, 109 e 153 horas de estocagem, retirando uma caixinha por tratamento em cada ocasião. No caso dos sublotes com os outros antioxidantes a frequência foi a mesma exceto a amostragem das 20 horas.

3.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

3.3.1 Composição química

As determinações de umidade, proteína total e cinza na farinha e no peixe foram realizadas de acordo com os métodos 24.003 2.057 e 18.025 da A.O.A.C. (HORWITZ, 1980), respectivamente. A determinação de lipídios totais foi realizada pelo método de BLIGH e DYER (1959) para peixe fresco e recomendado por KONING e alli (1985) para farinha de pescado.

3.3.2 Tocoferóis totais e individuais

A extração e determinação dos tocoferóis totais foi feita pelo método de CONTRERAS e STRONG (1982). Para os tocoferó

is individuais no DDOS foi utilizado o método de BARATTA e CONTRERAS (1986) mediante a técnica da cromatografia líquida de alta pressão nas seguintes condições: concentração da amostra 1% em heptano más isopropanol 0,5%, coluna NHa-10-Varian, fluxo 60mL/h, pressão 50 psi, detector UV-294 nm e sensibilidade 0,1 a 50 mV.

3.3.3 Extração de lipídios totais

Foi utilizado o método de BLIGH e DYER (1959) com pequenas modificações: 12g de farinha foram moídas finamente e exatamente 10g do material foram colocados em um frasco com tampa de Teflon, adicionados de 76 mL da mistura de solventes metanol:clorofórmio:água (2:1:0,8) e mexidos em um agitador de tubos por 30 min. Depois foram adicionados 20 mL de clorofórmio e 20 mL da solução aquosa de sulfato de sódio 1,25% sendo agitados por mais 5 min. O conteúdo foi logo filtrado através de um funil de Büchner e papel filtro Whatman Nº 1, o sistema bifásico foi transferido a um tubo de vidro deixando-se separar as fases por 30 a 45 min, depois foi descartada a camada superior e a fase de clorofórmio foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada através de papel filtro Whatman Nº 1. O filtrado foi guardado em um tubo de vidro com tampa de Teflon e mantido a 0°C na escuridade para ser usado como extrato comum nas determinações de avaliação da oxidação, sendo determinado o teor de lipídios por alíquota antes dos análises.

3.3.4 Ácidos graxos livres (AGL)

Os AGL foram determinados pelo método da British Standard 684, recomendado por KERSHAW (1986) e expressos como ácido oléico.

3.3.5 Índice de peróxidos

Foi utilizado o método de LEA recomendado por PEARSON

(1973). Nos casos em que as amostras apresentaram teores de peróxidos muito baixos foi utilizado o método espectrofotométrico de ASAKAWA e MATSUSHITA (1978).

3.3.6 Índice de iodo

Foi utilizado o método de WIJS de acordo com as normas da IUPAC (PAQUOT, 1979).

3.3.7 Teste do TBA

Seguindo as recomendações de PEARSON (1974) e PIKUL et al. (1983), a extração dos compostos que reagem com o TBA foi feita no extrato de lipídios totais obtidos em 3.3.3. A determinação do valor do TBA foi feita pelo método de POKORNÝ et al. (1985) de cada amostra foi medida uma alíquota do extrato de clorofórmio contendo entre 3 a 5 mg de lipídios em um tubo de vidro com tampa de Teflon. O solvente foi evaporado em um banho de água a 50°C sob vácuo e adicionado de 2 mL de n-butanol e 2mL da solução de 2-TBA 0,4% em n-butanol; o tubo foi fechado, agitado e mantido em um banho de água a 95°C por 2 horas. Logo a seguir os tubos foram esfriados em água corrente e a cor desenvolvida foi avaliada espectrofotometricamente a 530 nm. Os resultados foram expressos em valor de TBA de acordo com PEARSON (1974) :

$$\text{Valor do TBA} = \frac{\text{Absorbância a 530 nm}}{\text{peso de lipídios (kg)}}$$

3.3.8 Teste de KREIS

O método recomendado por PEARSON (1973) consiste no seguinte: 2 mL do extrato clorofórmico contendo entre 30 a 45 mg de lipídios foram medidos em um tubo de vidro com tampa de Teflon e acrescentados de 3 mL de clorofórmio e 5 mL de ácido tricloroacético 30% em ácido acético glacial, a mistura foi agitada energica

mente e adicionada de 1 mL da solução de floroglucinol 1% em ácido acético glacial, após o tubo foi mantido em um banho de água a 45°C por 15 min; posteriormente o tubo foi resfriado, diluído com 4 mL de etanol 95% e a cor avaliada espectrofotometricamente a 545 nm. Os resultados foram expressos como valor de KREIS :

$$\text{Valor de Kreis} = \frac{\text{Absorbância a 545 nm}}{\text{peso de lipídios (g)}}$$

3.3.9 Teste de anisidina

Foi utilizado o método de JIROUSOVA (1974), um volume de extrato clorofórmico contendo de 10 a 15 mg de lipídios foi adicionado em um tubo de vidro com tampa de Teflon, misturado com 2 mL de p-anisidina 0,5% em ácido acético glacial e a mistura foi aferida a 10 mL com clorofórmio e medida espectrofotometricamente a 430 nm (A_1); logo depois o tubo foi mantido em um banho de água a 60°C por 45 min e a absorbância reavaliada a 430 nm (A_2). Os resultados foram expressos como valor de anisidina:

$$\text{Valor de anisidina} = \frac{\text{Absorbância } (A_2 - A_1)}{\text{peso de lipídios (g)}}$$

3.3.10 Lipídios oxidados

Foi utilizado o método empírico de CONTRERAS (1972). Em tubos de ensaio foram medidas alíquotas do extrato de clorofórmio contendo 0,20 a 0,25 g de lipídios e o solvente foi evaporado em um banho de água a 50°C sob vácuo. Um tubo (A) foi adicionado de 7 mL de heptano e outro tubo (B) foi adicionado de 7 mL de heptano mais 7 mL de metanol 95%, foram agitados vigorosamente por um min e centrifugados até a camada de heptano ficar transparente (1 min a 1.500 rpm). De cada tubo foram medidos 5mL da camada de hep

tano e o solvente foi evaporado em estufa a 80°C , registrando-se os pesos finais. Os lipídios oxidados por sua natureza polar ficam na camada inferior de metanol acontecendo uma diminuição dos lipídios na camada de heptano. Os resultados foram expressos como:

$$\% \text{ de lipídios oxidados} = \frac{\frac{7}{5} (A - B)}{A} \cdot 100$$

onde :

A = peso dos lipídios no heptano A

B = peso dos lipídios no heptano B

3.3.11 Composição em ácidos graxos

Uma alíquota de cada amostra contendo 90 a 100mg de lipídios foi adicionada em um tubo de vidro com tampa de Teflon e evaporado o solvente em um banho de água a 50°C sob vácuo. As amostras foram logo metiladas de acordo com o método de HARTMAN e LAGO (1973), um volume de 1,0 µL dos ésteres metílicos dissolvidos em hexana foram injetados no cromatógrafo nas condições seguintes: coluna de aço inoxidável 2,5 m de comprimento e 1/8" de diâmetro interno, fase estacionária FFAP 10%, suporte Chromosorb W, detector de ionização de chama, gas de arraste nitrogênio, temperatura da coluna 180°C nos 5 min iniciais e depois 230°C regulada manualmente, e temperaturas de injeção e do detector 270°C.

Utilizaram-se os seguintes padrões ésteres metílicos - dos ácidos graxos: C9:0, C10:0, C11:0, C14:0, C16:0, C18:0, C20:0, C22:0, C14:1, C16:1, C18:1, C19:1, C20:1, C14:2, C16:2, C18:2, C20:2, C18:3 n-3, C20:3 n-3, C18:4 n-6, C20:5 n-3, C22:5 n-3 e C22:6 n-3, da Sigma Chemical Co. Estes foram dissolvidos em uma concentração de 5mg/mL de hexana e utilizou-se um volume de 1 µL para sua injeção no cromatógrafo.

A quantificação dos ésteres metílicos nas amostras foi

feito no Integrador Processador digital acoplado diretamente ao cromatógrafo .

3.3.11 Absorção de oxigênio

Foi realizada pelo método manométrico de UMBREIT (1964) no aparelho de WARBURG (ver Figura 8).

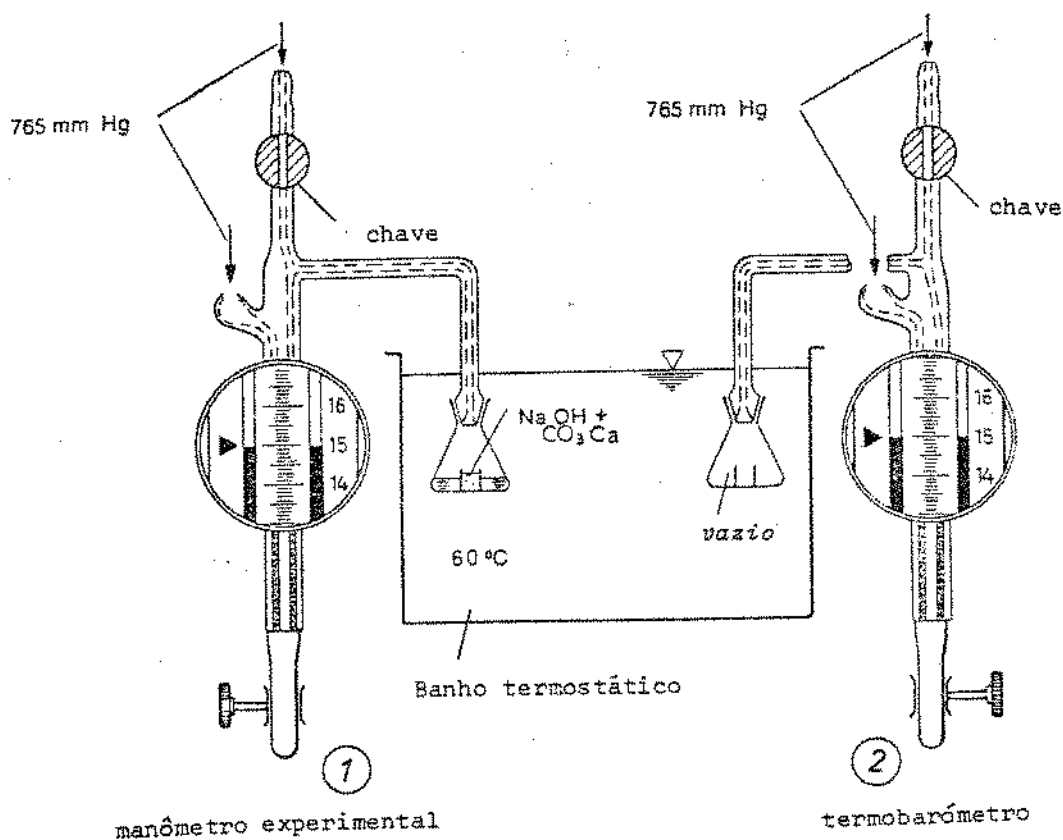


FIGURA 8. APARELHO DE WARBURG PARA O TESTE DE ABSORÇÃO DE OXIGÊNIO

Entre 0,40 a 0,45g de farinha de pescado foram depositadas no fundo do matrãz e no depósito interno uma mistura de carbonato de cálcio e hidróxido de sódio (1:1) para a captação de dióxido de carbono, o matrãz foi conectado à coluna de vidro (manômetro) mediante um capilar metálico e mergulhado em um banho de água mantido a $60^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$ com agitação. A absorção de oxigênio -

provocou um desnível dos meniscos da solução dos capilares (diferença manométrica), esta diferença entre os níveis inicial e final em um tempo determinado foi expressa como a quantidade de oxigênio absorvido.

A absorção de oxigênio foi obtida da forma seguinte:

$$\text{Absorção } O_2/\text{g/h} = \frac{X \cdot t}{w}$$

onde X = absorção de oxigênio (μL)

t = tempo (h)

w = peso da amostra (g)

O fator X foi determinado pela fórmula seguinte:

$$X = K_{O_2} \cdot h$$

onde K_{O_2} = constante do matrãs de reação

h = diferença manométrica (mm)

Por outro lado, o fator K_{O_2} foi obtido pela fórmula:

$$K_{O_2} = \frac{V_g \cdot \frac{273}{T} + V_f \cdot \alpha_{O_2}}{P_o}$$

onde V_g = volume do sistema usado-volume de amostra (mL)

T = temperatura absoluta do sistema ($^{\circ}\text{K}$)

V_f = volume de amostra = peso/densidade (g/mL)

α_{O_2} = constante de solubilidade do oxigênio

P_o = pressão da solução utilizada no experimento (mm)

O volume total do sistema foi obtido somando-se os volumes fornecidos pelo fabricante para cada um dos dispositivos da instalação :

matrãs e tampa	14,067 mL
capilar metálico	0,142 mL
capilar vidro	1,036 mL
capilar manométrico	<u>0,918 ml</u>
total	16,163 mL

A densidade aparente (ρ) da amostra foi estimada pesando uma quantidade de farinha de pescado de volume conhecido, o valor médio de dez medições no presente estudo foi : $\rho = 0,634\text{g/mL}$.

A constante de oxigênio (α_{O_2}) foi desprezada porque é praticamente insolúvel na amostra sólida da farinha.

Como solução corante para encher os manômetros foi usada a seguinte preparação: a um volume de dimetilformamida (DMF) foi adicionada de 1 mL de púrpura de bromocresol 0,2% em NaOH 1N, sendo logo aferida a 100 mL. Finalmente, a pressão desta solução foi obtida mediante a fórmula seguinte:

$$P_o = \frac{760 \cdot \rho_{\text{Hg}}}{\rho_{\text{DMF}}} = \frac{760 \cdot 13,546}{0,95} = 10.840 \text{ mm}$$

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A composição química da sardinha fresca e da farinha preparada a partir dela estão indicadas no Quadro 6.

QUADRO 6. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SARDINHA FRESCA
E SUA FARINHA (%)

Componente	Sardinha	Farinha
Umidade	70,20	10,23
proteína total (N x 6,25)	20,73	67,20
lipídios totais	5,51	9,61
cinza	1,66	11,26

Os resultados demonstraram estar de acordo com a literatura, assim a sardinha exibiu um teor de 5,5% de lipídios totais o que significa que estava na sua época de engorda (LEITE et alli, 1971). O conteúdo de umidade foi um tanto baixo, o inverso do teor de cinza que foi um pouco maior que os dados publicados (ITO et alli, 1967), provavelmente devido ao fato das análises terem sido feitas em amostras de músculo com espinhas. As análises da sardinha têm o objetivo de caracterizar o peixe na época de sua captura, sobretudo determinar seu conteúdo de gordura porque este dado é importante para definir o tempo de cozimento e a pressão da prensagem.

Segundo KARRICK (1963) a composição da farinha mostrou estar de acordo com o exigido para um produto de primeira qualidade. O alto conteúdo de proteína se explica pela adição dos solúveis subproduto que é rico em material nitrogenado. KIFER et alli (1968) reportaram faixas de composição da farinha de pescado comercial

tais como : proteína 62-67%, gordura 8-14%, cinza 12-17% e umidade 8-11%. Os resultados obtidos neste estudo estiveram de acordo com cada um dos componentes acima citados.

4.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS ÓLEOS DE SARDINHA E SUAS FARINHAS

No Quadro 7 apresentam-se os resultados de alguns índices químicos dos óleos de sardinha e suas farinhas de torta e integral , extraídos pelo método de BLIGH e DYER (1959).

QUADRO 7. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS ÓLEOS DE SARDINHA E SUAS FARINHAS DE TORTA E INTEGRAL

Análise	Sardinha fresca	Farinha de torta	Farinha integral
Índice de iodo ($\text{g I}_2/100\text{g}$)	179	118	132
Í. peróxido (meqO_2/kg)	1,970	120,0	86,00
Í. acidez (% , ác. oléico)	0,690	8,200	7,100
Valor de TBA (A_{530}/kg)	0,053	0,156	0,128
Valor de Kreis (A_{545}/g)	0,270	2,380	1,910
Valor de anisidina (A_{430}/g)	0,183	2,340	1,870

Os dados de índice de iodo confirmaram que a sardinha contém uma alta percentagem de ácidos graxos polinsaturados. ARAKAKI *et alli* (1985) e KIRSCHENBAUER (1967) reportaram valores de índice de iodo de 172 e de 180 a 195, respectivamente. Os índices de acidez e peróxido também encontraram-se dentro dos valores normais , assim STANSBY (1967) reportou uma faixa de 0,2 a 1,0% de acidez e menos de 5 meqO_2/kg para o índice de peróxido em peixe fresco.

Comparando os resultados obtidos nas farinhas e na sardinha - fresca pode-se apreciar que nas primeiras a própria elaboração causa oxidação, sendo a mais afetada a farinha de torta, provavelmen

te porque a adição dos solúveis na farinha integral protegeram-na da oxidação. HEISS (1973) encontrou que os lipídios extraídos da farinha de anchoveta, depositados em um suporte inerte foram mais rapidamente oxidados que quando estão incorporados na partícula da farinha. Poderia-se aceitar que os solúveis, basicamente constituídos por colágeno, tenham formado um filme parcial ao redor das partículas do tecido, evitando ou retardando o contato direto dos lipídios com o oxigênio (CONTRERAS, 1969); além disso os aminoácidos e peptídeos dos solúveis poderiam mostrar em certas condições efeitos sinergistas com os antioxidantes naturais do peixe diminuindo a peroxidação. TOGASHI et alli (1961) acharam que a gelatina protege o óleo da oxidação quando ambos constituem um filme que reduz a área de superfície do óleo, e a reorientação da proteína no óleo reduz a susceptibilidade do ataque pelo oxigênio. EL-LAKANY (1974) constatou que a farinha de torta de prensa sofria considerável deterioração oxidativa quando comparada com a farinha integral. De maneira que os resultados obtidos para as farinhas - neste estudo podem ser considerados normais.

4.3 COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DOS ÓLEOS DA SARDINHA E SUA FARINHA

A composição em ácidos graxos apreciam-se no Quadro 8. As análises são referidas à sardinha fresca e farinha integral recentemente processada, sendo que os óleos foram obtidos pelo método de BLIGH e DYER (1959).

Os resultados para sardinha fresca foram quase que semelhantes aos do Quadro 4, citados na revisão bibliográfica com exceção de um teor mais elevado de C20:5 e C22:6. A soma dos ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGM) e ácidos graxos polinsaturados (AGP) na sardinha foi de 39,1, 17,2 e 43,7%, -

QUADRO 8. COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DOS ÓLEOS DA SARDINHA E SUA FARINHA (%)

Ácido graxo	Sardinha fresca	Farinha integral	Ácido graxo	Sardinha fresca	Farinha integral
C12:0	+	+	C18:2 n-6	6,2	6,5
C13:0	+		C18:3 n-3	3,1	2,5
C14:0	7,5	3,9	C18:4 n-6	3,6	2,1
C14:1	1,7	0,5	C20:0	2,2	
C14:2	+		C20:1	3,1	4,0
C15:0	3,3	1,6	C20:2 n-6	3,0	2,2
C16:0	14,2	16,2	C20:3 n-3	5,2	4,3
C16:1	5,8	3,8	C20:4	0,9	
C16:2	2,8	1,3	C20:5 n-3	8,1	13,9
C17:0	4,1	2,2	C22:4 n-6		3,3
C18:0	7,8	4,9	C22:5 n-3	0,6	4,2
C18:1	6,6	7,8	C22:6 n-3	10,2	14,8

respectivamente. Em relação à farinha, o conteúdo de AGS, AGN e AGP foi de 28,8, 16,1 e 55,1% respectivamente. Estes estão próximos - dos reportados por HEISS (1973) para farinha de anchoveta. Mesmo - tratando-se de espécies diferentes, o teor de AGP foi bastante - próximo. Por outro lado, o conteúdo de AGP na farinha é bem maior que na sardinha. Esta constatação poderia-se explicar - pelo fato da sardinha ter sido cozida e prensada, o que permitiu a remoção dos lipídios intersticiais ou de depósito mas não dos lipídios com funções de estrutura, como são os fosfolipídios. Isto foi mostrado por CONTRERAS e NEVES (1974) na elaboração de farinha de anchoveta. Por outro lado, MALINS (1967) menciona que os fosfolipídios são, depois dos triglicerídios, os compostos quantitativamente mais importantes do óleo de peixe; aliás, estes fosfo

lipídios estão formados por ácidos graxos com predominância dos AGP, sobretudo de C20:5 e C22:6 contribuindo com 41 a 62% dos ácidos graxos totais dos fosfolipídios. Por esta razão, é que foi determinada uma maior concentração dos AGP na farinha.

4.4 TEOR DE TOCOFERÓIS NO DDOS

Os resultados da determinação de tocoferóis (Toc) no DDOS empregado nesta pesquisa, são apresentados no Quadro 9. Os esquemas da separação por cromatografia líquida de alta pressão (CLAP) que serviram de base para os cálculos, aparecem na Figura 9.

QUADRO 9. TEOR DE TOCOFERÓIS TOTAIS E INDIVIDUAIS NO DDOS

Tocoferóis	A m o s t r a s			
	A	A'	B	B'
Totais	10,4	100,0	10,8	100,0
α	1,6	15,4	1,6	14,8
β	0,3	2,9	0,3	2,8
γ	7,0	67,3	7,5	69,4
δ	1,5	14,4	1,4	13,0

A e B : valores em % do DDOS

A' e B' : valores em % dos Toc

O teor de tocoferóis totais foi alto comparado com os valores médios reportados por CONTRERAS e BARATTA (1984) para várias amostras de DDOS brasileiras, mas estiveram ligeiramente abaixo dos níveis relatados por NELSON e MILUN (1968) e WOERFEL (1981). Ainda assim, estiveram na faixa reportada por FEETER (1974).

Com relação aos tocoferóis individuais os teores obtidos para os tipos γ e δ concordam com o reportado por CONTRERAS e BARATTA (1984) e encontraram-se na faixa referida por FEETER (1974), já os

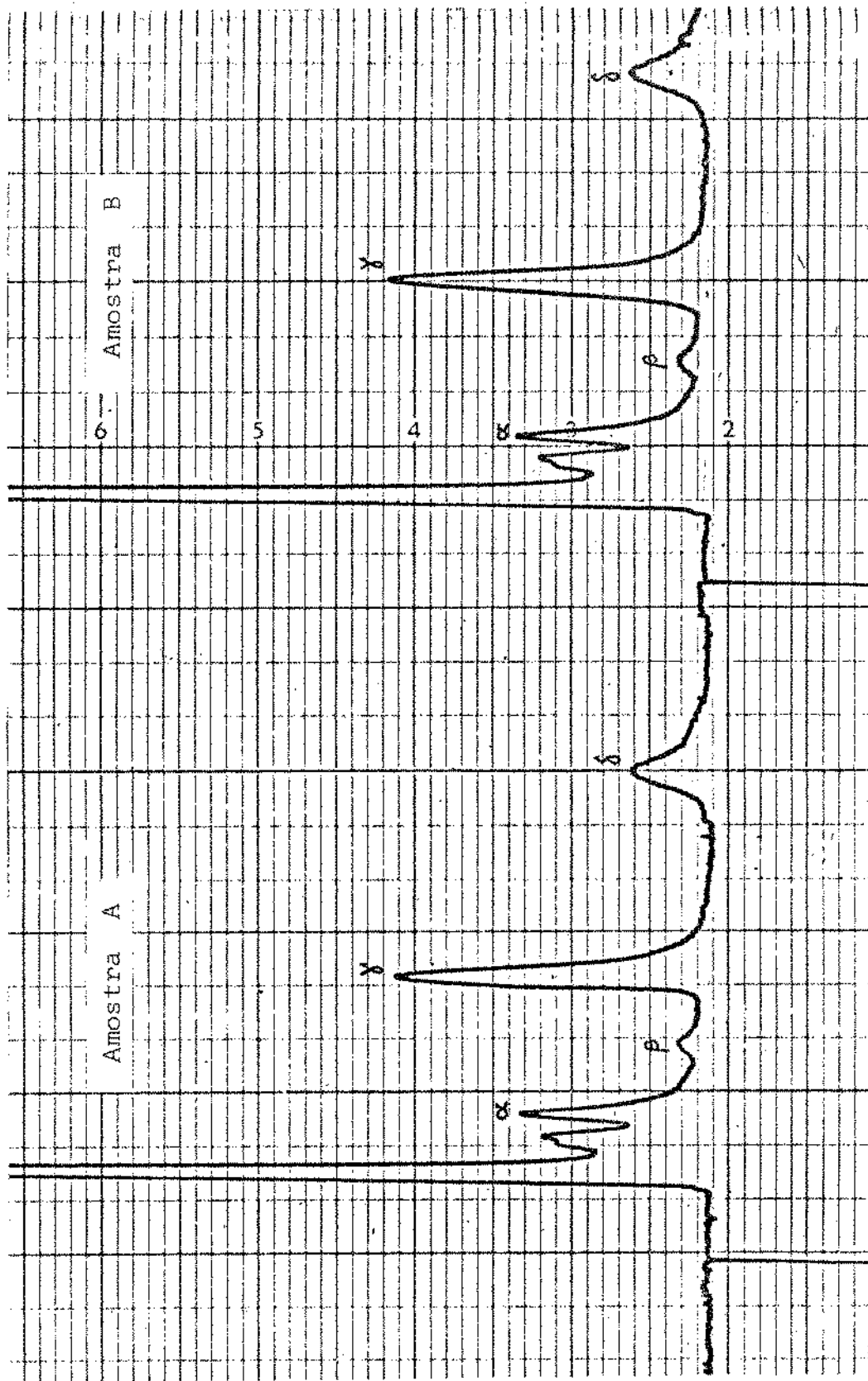


FIGURA 9. CROMATOGRAMA DA SEPARAÇÃO POR TIPOS DE TOCOFERÓIS DO DDOS

tipos α e γ ficaram um pouco acima dos dados citados por CONTRE-RAS e BARATTA (1984). É conveniente ressaltar que com as técnicas antigas de análise não se podiam separar os tipos β e γ , como é reportado na literatura (ver Quadro 3). A Figura 9 mostra a sensibilidade e a eficiência da separação de cada um dos diferentes tocoferóis pela CLAP, que permite a quantificação individual com mais certeza.

Segundo SEHER e LÖSCHNER (1986), ISHIKAWA e YUKI (1975) e PON GRACZ (1984), as formas γ e δ têm o maior poder antioxidante e isto é conveniente para os fins deste trabalho, pois o DDOS utiliza do contém em torno de 80% destes dois tocoferóis.

4.5 MUDANÇAS NOS ÍNDICES QUÍMICOS DOS LIPÍDIOS DAS FARINHAS ESTOCADAS

4.5.1 Estocagem em condições normais

(a) Índice de iodo

Os resultados da evolução do índice de iodo mostraram-se no Quadro 10 e nas Figuras 10 (a) e (b). No controle A, o índice diminuiu mais rapidamente que em qualquer um dos tratamentos - sendo que nos primeiros 45 dias a queda foi mais da metade da diminuição total; entretanto nos tratamentos C, D, B, H e G no mesmo período, diminuiu apenas um terço do total. Nestes tratamentos o índice de iodo permaneceu ainda relativamente alto após 2 meses, diminuindo 50% do total após 3 meses de estocagem.

A queda do índice de iodo esteve em razão inversa ao incremento do DDOS adicionado, mostrando que os tocoferóis protegeram a farinha da oxidação. A adição de 0,25% de DDOS ($\approx$ 250 ppm Toc) apresentou uma certa proteção da farinha mas depois dos 2 meses mostrou-se insuficiente. A níveis de 0,5% de DDOS a diminuição

QUADRO 10. MUDANÇAS NOS ÍNDICES QUÍMICOS DA OXIDAÇÃO DA FARINHA DE SARDINHA
TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADAS EM CONDIÇÕES NORMAIS

Tempo (dias)	Índice de iodo	Índice de peróxidos (meqO_2/kg)	Ácidos gra- xos livres (%)	Valor de TBA (A_{530}/kg)	Valor de Kreis (A_{545}/g)	Valor de anisidina (A_{430}/g)	Lípídios oxidados (%)
A. Controle, sem antioxidante							
0	132,5	76,9	7,5	0,138	1,91	1,72	7,46
7	121,7	92,4	7,3	0,121	2,78	2,10	9,72
15	126,8	97,6	8,5	0,145	3,64	2,40	8,94
30	117,9	108,0	8,9	0,186	2,95	2,76	10,41
45	109,1	121,5	10,2	0,198	3,16	3,14	11,20
70	103,2	128,3	10,7	0,235	3,90	3,95	11,38
90	98,4	+	11,4	0,293	4,55	4,30	13,45
120	96,2	+	12,3	0,346	4,92	5,72	15,40
150	90,3	+	13,8	0,317	5,97	6,80	20,56
B. BHT + BHA (1:1) 500 ppm							
0	132,6	46,7	6,9	0,135	2,20	1,68	7,63
7	130,4	58,2	7,5	0,169	3,17	1,83	7,33
30	129,9	61,0	7,7	0,158	2,65	1,95	8,45
45	122,6	78,7	8,3	0,142	3,01	2,10	10,10
70	123,7	83,0	8,2	0,187	3,46	2,24	10,02
90	119,2	+	8,9	0,234	3,98	2,70	10,47
120	112,3	+	9,2	0,292	3,23	2,93	10,40
150	102,5	+	10,4	0,311	4,64	3,56	12,23
C. TBHQ 500 ppm							
0	130,7	46,5	6,3	0,140	2,06	2,15	8,02
7	132,0	58,0	7,0	0,132	2,21	2,30	7,95
30	125,8	70,0	7,8	0,152	3,17	2,70	8,94
45	126,0	61,2	8,3	0,158	2,35	2,82	9,01
70	120,7	88,5	8,7	0,167	3,03	2,90	9,60
90	115,4	+	9,0	0,191	3,19	3,10	10,05
120	118,1	+	9,5	0,214	4,18	3,26	11,47
150	105,3	+	10,2	0,257	3,95	3,97	13,00
D. EQ 500 ppm							
0	129,3	46,1	7,1	0,142	2,50	2,12	8,05
7	131,5	59,7	6,8	0,171	2,39	2,05	7,53
30	122,0	64,2	8,0	0,206	2,60	2,60	9,42
45	126,8	76,5	8,6	0,165	2,85	2,73	9,30
70	117,4	83,3	8,9	0,192	3,07	2,80	10,46
90	113,0	+	9,3	0,242	3,22	3,12	10,58
120	116,2	+	9,7	0,265	3,27	3,28	11,00
150	104,7	+	10,5	0,281	4,16	4,25	12,15

continua.../

QUADRO 10. MUDANÇAS NOS ÍNDICES QUÍMICOS DA OXIDAÇÃO DA FARINHA DE SARDINHA
TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADAS EM CONDIÇÕES NORMAIS

Tempo (dias)	Índice de iodo	Índice de peróxidos (meqO ₂ /kg)	Ácidos gra- xos livres (%)	Valor de TBA (A ₅₃₀ /kg)	Valor de Kreiss (A ₅₄₅ /g)	Valor de anisidina (A ₄₃₀ /g)	Lipídios oxidados (%)
E. DDOS 0,25%							
0	130,9	49,2	9,0	0,127	2,27	1,95	7,18
7	125,8	56,8	10,2	0,141	2,64	2,30	7,27
30	127,3	68,4	10,2	0,139	4,50	2,13	9,61
45	120,4	81,6	10,8	0,159	3,18	2,52	10,53
70	111,4	98,9	11,3	0,178	3,85	3,40	11,89
90	112,0	+	11,8	0,193	4,76	3,90	12,82
120	105,3	+	12,6	0,248	4,24	4,38	14,19
150	98,6	+	12,9	0,320	5,78	5,08	17,24
F. DDOS 0,50%							
0	129,9	26,2	9,7	0,150	2,30	1,98	8,48
7	131,5	39,8	10,3	0,142	3,72	2,25	8,76
30	128,3	57,6	10,5	0,153	2,91	2,21	9,85
45	124,5	65,4	10,9	0,135	3,03	2,29	10,69
70	119,1	88,2	11,6	0,171	3,50	2,70	10,74
90	117,2	+	11,9	0,210	3,85	3,10	11,88
120	109,0	+	12,4	0,259	4,50	4,02	13,26
150	103,2	+	12,9	0,313	5,30	4,45	14,65
G. DDOS 0,75%							
0	129,5	32,0	10,5	0,142	2,60	2,05	8,04
7	130,2	43,1	10,8	0,157	2,29	2,10	8,43
30	123,8	61,3	11,1	0,172	2,64	2,50	8,51
45	124,9	58,7	11,6	0,185	4,15	2,80	9,37
70	119,4	81,2	12,2	0,194	3,58	3,00	10,28
90	114,8	+	12,7	0,230	3,92	3,40	11,90
120	110,7	+	13,1	0,256	4,45	3,60	13,10
150	105,6	+	13,5	0,301	4,80	4,20	14,42
H. DDOS 1,0%							
0	132,4	29,4	11,7	0,133	2,04	2,10	7,65
7	130,6	40,8	11,8	0,142	2,11	2,20	8,00
30	128,7	56,5	12,6	0,159	3,12	2,18	9,43
45	126,9	63,1	12,9	0,142	2,66	2,35	9,78
70	120,4	74,8	13,4	0,183	3,07	2,60	11,22
90	117,8	+	13,7	0,202	3,81	2,90	12,76
120	115,4	+	14,2	0,223	3,98	3,20	14,21
150	109,9	+	14,5	0,277	4,25	3,90	14,95

continua.../

QUADRO 10. MUDANÇAS NOS ÍNDICES QUÍMICOS DA OXIDAÇÃO DA FARINHA DE SARDINHA
TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADAS EM CONDIÇÕES NORMAIS

Tempo (dias)	Índice de iodo	Índice de peróxidos (meqO_2/kg)	Ácidos gra- xos livres (%)	Valor de TBA (A_{530}/kg)	Valor de Krels (A_{545}/g)	Valor de anisidina (A_{430}/g)	Lípídios oxidados (%)
I. DDOS 0,25% + lecitina 0,075%							
0	133,0	30,1	8,9	0,151	2,25	2,20	7,40
7	129,8	65,8	8,7	0,145	2,97	2,45	7,51
30	123,5	83,5	9,3	0,174	3,51	3,06	8,12
45	121,7	84,6	9,9	0,203	2,83	3,51	10,38
70	110,5	93,7	10,7	0,246	3,32	4,27	12,64
90	102,3	+	11,8	0,280	3,64	4,62	13,75
120	98,4	+	12,5	0,315	4,60	4,89	15,10
150	93,0	+	13,4	0,347	4,88	5,30	17,06
J. DDOS 0,50% + lecitina 0,075%							
0	131,1	22,4	10,0	0,137	2,50	2,24	8,63
7	128,3	54,9	10,5	0,145	2,63	2,57	8,85
30	127,9	71,9	10,8	0,155	2,74	2,66	9,92
45	124,5	68,4	11,6	0,169	3,59	2,95	10,50
70	118,6	86,2	11,9	0,198	3,71	3,13	12,04
90	110,3	+	12,1	0,241	4,13	3,79	13,38
120	102,3	+	12,9	0,295	4,32	5,26	14,67
150	97,9	+	13,2	0,330	4,70	5,44	16,10
K. DDOS 0,75% + lecitina 0,075%							
0	132,7	28,5	10,7	0,177	2,17	2,32	8,30
7	128,4	27,4	10,9	0,156	2,74	2,47	8,26
30	125,6	67,4	11,2	0,164	2,50	2,71	10,24
45	125,5	69,6	11,3	0,181	3,06	2,93	11,62
70	119,4	80,2	11,6	0,212	3,44	3,48	12,57
90	112,3	+	12,2	0,236	3,47	4,02	14,21
120	103,9	+	12,9	0,285	4,20	4,99	15,44
150	100,7	+	13,8	0,309	4,98	5,26	16,53
L. Lecitina 0,075%							
0	130,4	69,5	6,3	0,130	2,32	2,36	8,89
7	125,0	72,8	7,0	0,151	2,21	2,07	9,32
15	122,1	78,9	7,8	0,176	3,30	2,58	9,67
30	120,6	86,3	8,9	0,199	3,25	2,91	11,42
45	115,6	101,1	9,2	0,241	3,81	3,28	12,38
70	108,4	131,0	9,9	0,283	3,50	4,46	13,25
90	109,8	+	10,5	0,298	4,24	4,25	14,80
120	101,4	+	12,1	0,324	5,33	5,51	18,07
150	94,3	+	13,4	0,357	6,28	6,30	22,68

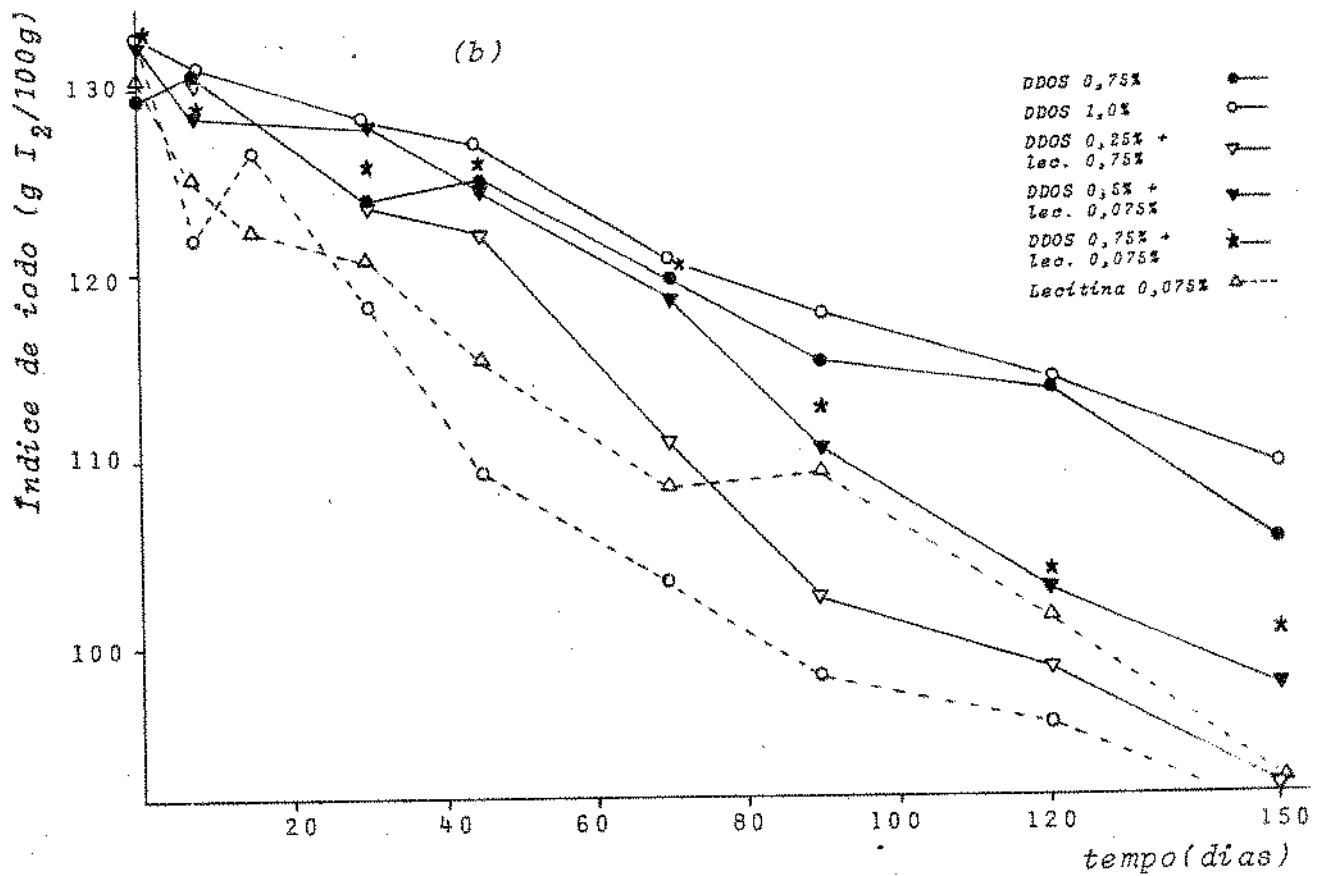
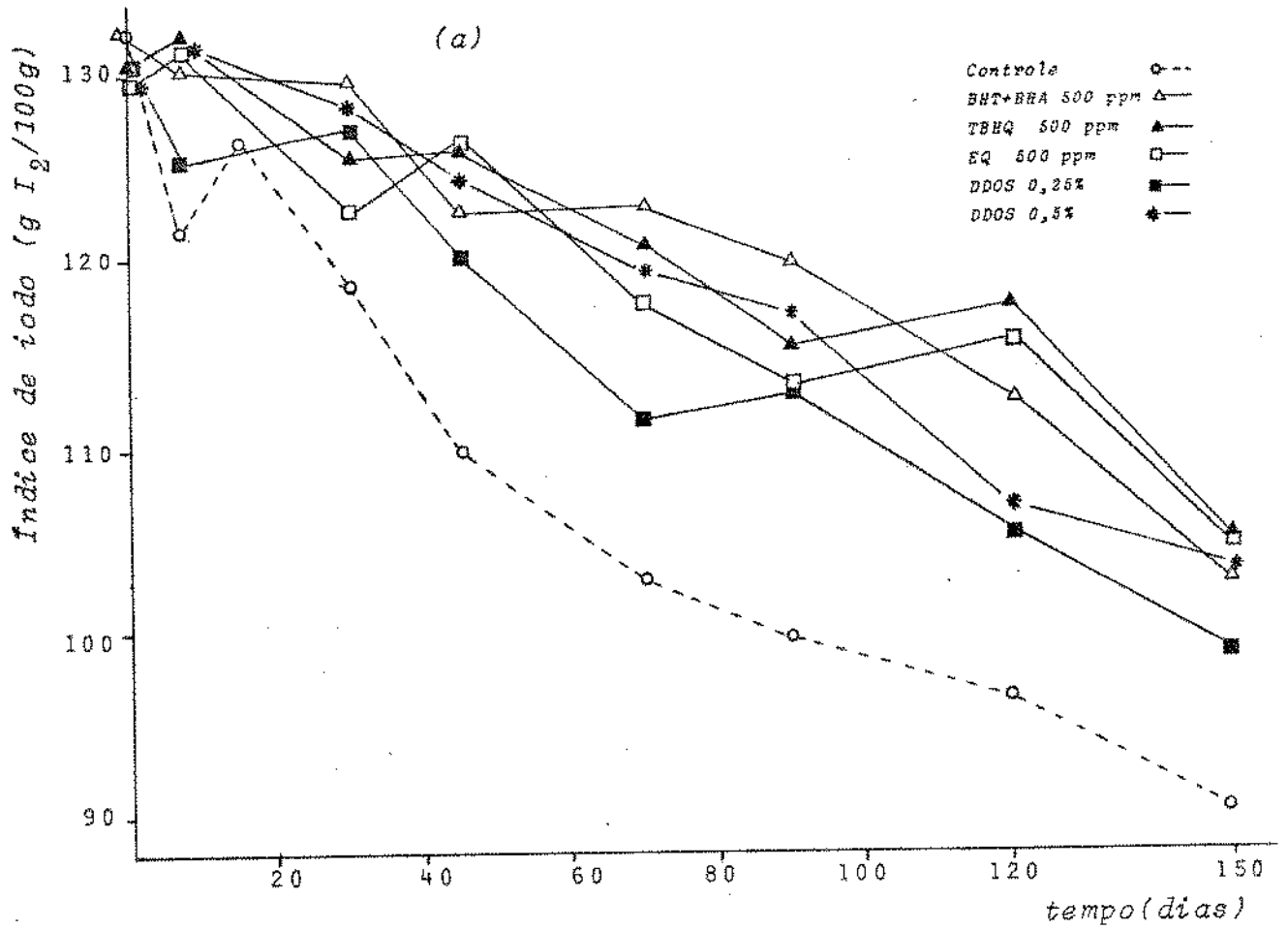


FIGURA 10. MUDANÇAS NO ÍNDICE DE IODO NOS DIVERSOS TRATAMENTOS DA FARINHA DE SARDINHA COM ANTIOXIDANTES ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

do índice de iodo foi menor, mas ainda assim não foi comparável com os obtidos nos tratamentos com antioxidantes sintéticos (B, C e D). Só a níveis de 0,75% de DDOS obtiveram-se resultados semelhantes e a 1,0% foram superiores aos sintéticos.

A adição de lecitina (tratamentos I, J e K) não causou acréscimo no efeito antioxidante de DDOS mas pelo contrário, acelerou a queda do índice de iodo podendo-se observar que este efeito foi em ordem decrescente para I, J e K. Pode-se afirmar então que o índice de iodo foi menor quanto menor a concentração do DDOS em presença de lecitina (0,075%).

Na comercialização da farinha de pescado é considerado um valor mínimo de 100 para o índice de iodo (KIFER et al., 1968) sendo que o controle A e o tratamento I atingiram este valor nos 85-90 dias, os tratamentos E, F, J e K precisaram no mínimo 120 dias e os tratamentos C, D, B, H e G não atingiram este limite mesmo depois dos 150 dias.

(b) Índice de peróxidos

Dos resultados apresentados no Quadro 10 e nas Figuras 11 (a) e (b), pode-se observar que o valor inicial do índice de peróxidos na farinha diminuiu instantaneamente devido a adição de antioxidantes sintéticos, lecitina e, especialmente, de DDOS. Segundo YANISHLIEVA et alii (1977) e PONGRACZ (1984) os antioxidantes tais como tocoferol, TBHQ e outros; decompõem os peróxidos a produtos mais estáveis. Por outro lado, MIYASAWA et alii (1984) e LEE et alii (1983) acharam que os fosfolipídios decompõem os peróxidos em seus respectivos hidroxilos. Este efeito inicial na queda do índice de peróxidos, pela adição de DDOS, poderia ter sido coadyuvado pelo alto teor de ácidos graxos livres contidos no DDOD os quais, segundo STAHL e SIMS (1986), aceleram a decomposi-

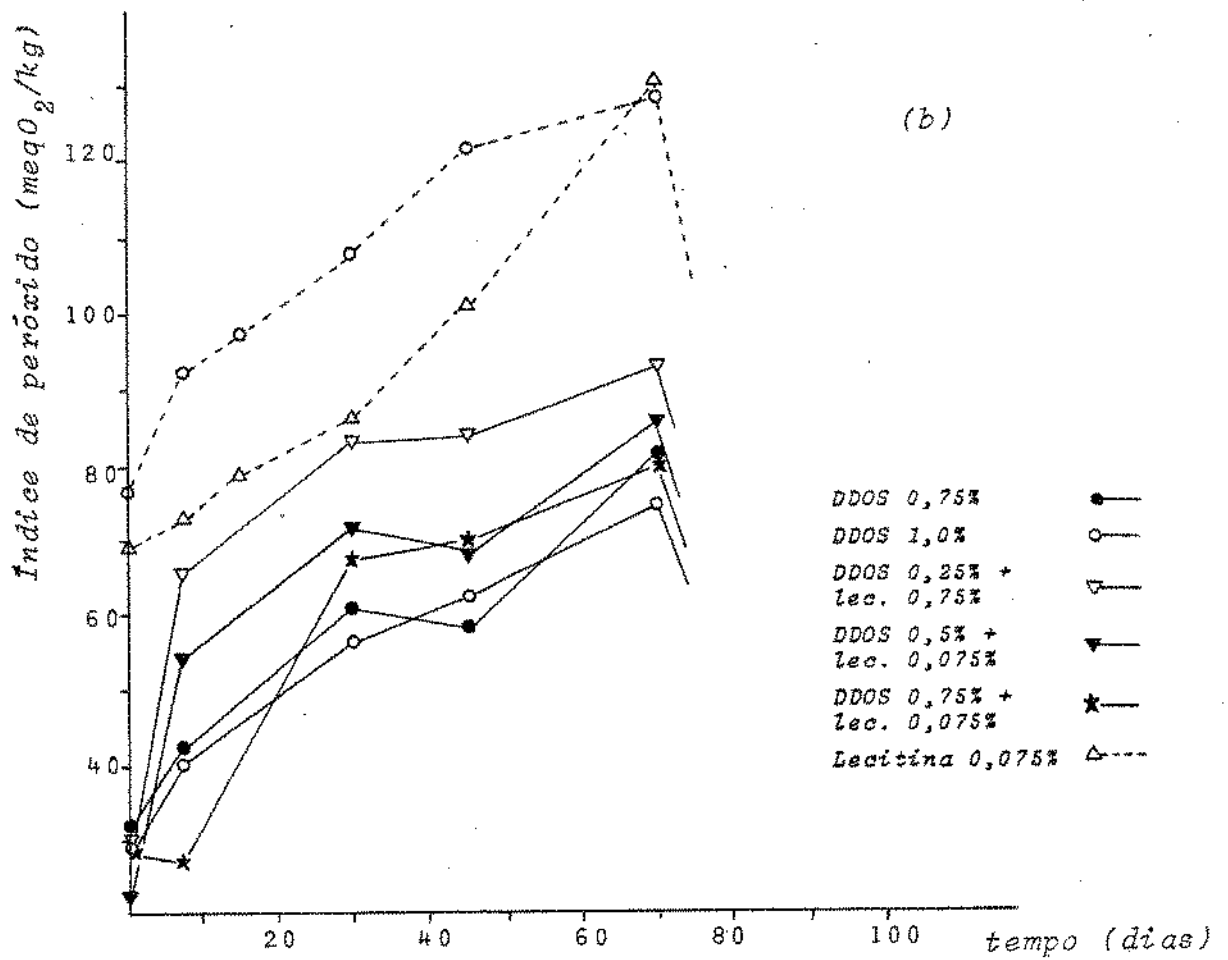
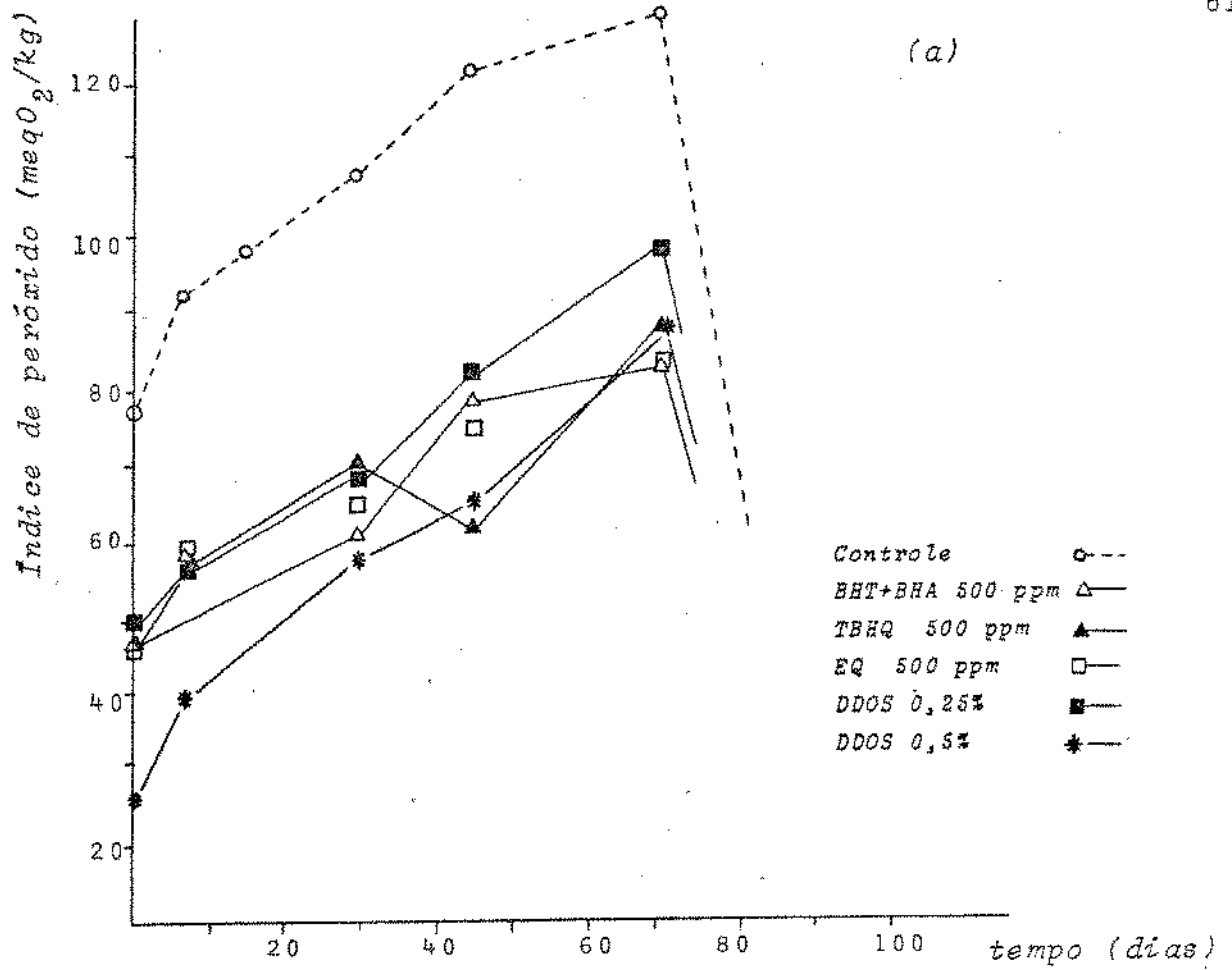


FIGURA 11. MUDANÇAS NO ÍNDICE DE PERÓXIDO NOS DIVERSOS TRATAMENTOS DA FARINHA DE SARDINHA COM ANTIOXIDANTES ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

ção dos hidroperóxidos em grande medida. Após a diminuição inicial ocorre uma elevação do índice de peróxidos na estocagem que foi maior no controle A e no tratamento L. As peroxidações menores ocorreram nos tratamentos G e H. Os níveis de peróxidos destes tratamentos foram menores que os determinados nas amostras com antioxidantes sintéticos (B, C e D) enquanto que o tratamento F até os 70 dias mostrou uma taxa similar ao das amostras B, C e D.

Outro aspecto importante foi que após 70 dias de estocagem não foram detectados níveis significativos de peróxidos. O método espectrofotométrico de ASAKAWA e MATSUSHITA (1978) revelou uma quantidade pequena, menor de $1 \text{ meqO}_2/\text{kg}$, para todos os tratamentos. Este fato poderia ser atribuído a 4 razões:

- em condições de alta concentração de peróxidos e relativamente baixa temperatura os hidroperóxidos tendem a associar-se por pontes de hidrogênio,
- a presença de traços de metais pesados na farinha colaboraram na decomposição dos peróxidos,
- interação de radicais livres formando dímeros não propagadores, e
- associação dos peróxidos com aminoácidos e proteínas formando compostos não propagadores.

(c) Índice de ácidos graxos livres

As mudanças no teor de ácidos graxos livres mostram-se no Quadro 10 e nas Figuras 12 (a) e (b). A adição do DDOS no tempo zero aumentou artificialmente os níveis de AGL tornando-os maiores que os da farinha controle A e do que os tratamentos B, C D e L. Isto é consequência do alto conteúdo de AGL no DDOS, portanto o incremento foi maior quanto maior foi a percentagem do DDOS incorporado. Para permitir comparações foram calculados os acrés-

QUADRO 11. INCREMENTO DO ÍNDICE DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES NA FARINHA DE SARDINHA
TRATADA COM ANTIOXIDANTES DURANTE A ESTOCAGEM EM CONDIÇÕES NORMAIS

Tempo (dias)	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
7	-0,2	0,6	0,7	-0,3	1,2	0,6	0,3	0,1	-0,2	0,5	0,2	0,7
15	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	1,4	0,8	1,5	0,9	1,2	0,8	0,6	0,9	0,4	0,8	2,6	-
45	2,7	1,4	2,0	1,5	1,8	1,2	1,1	1,2	1,0	1,6	0,6	2,9
70	3,2	1,3	2,4	1,8	2,3	1,9	1,7	1,7	1,8	1,9	0,9	3,6
90	3,9	2,0	2,7	2,2	2,8	2,2	2,2	2,0	2,9	2,1	1,5	4,2
120	4,8	2,3	3,2	2,6	3,6	2,7	2,6	2,5	3,6	2,9	2,2	5,8
150	6,3	3,5	3,1	3,4	3,9	3,2	3,0	2,8	4,5	3,2	3,1	7,1

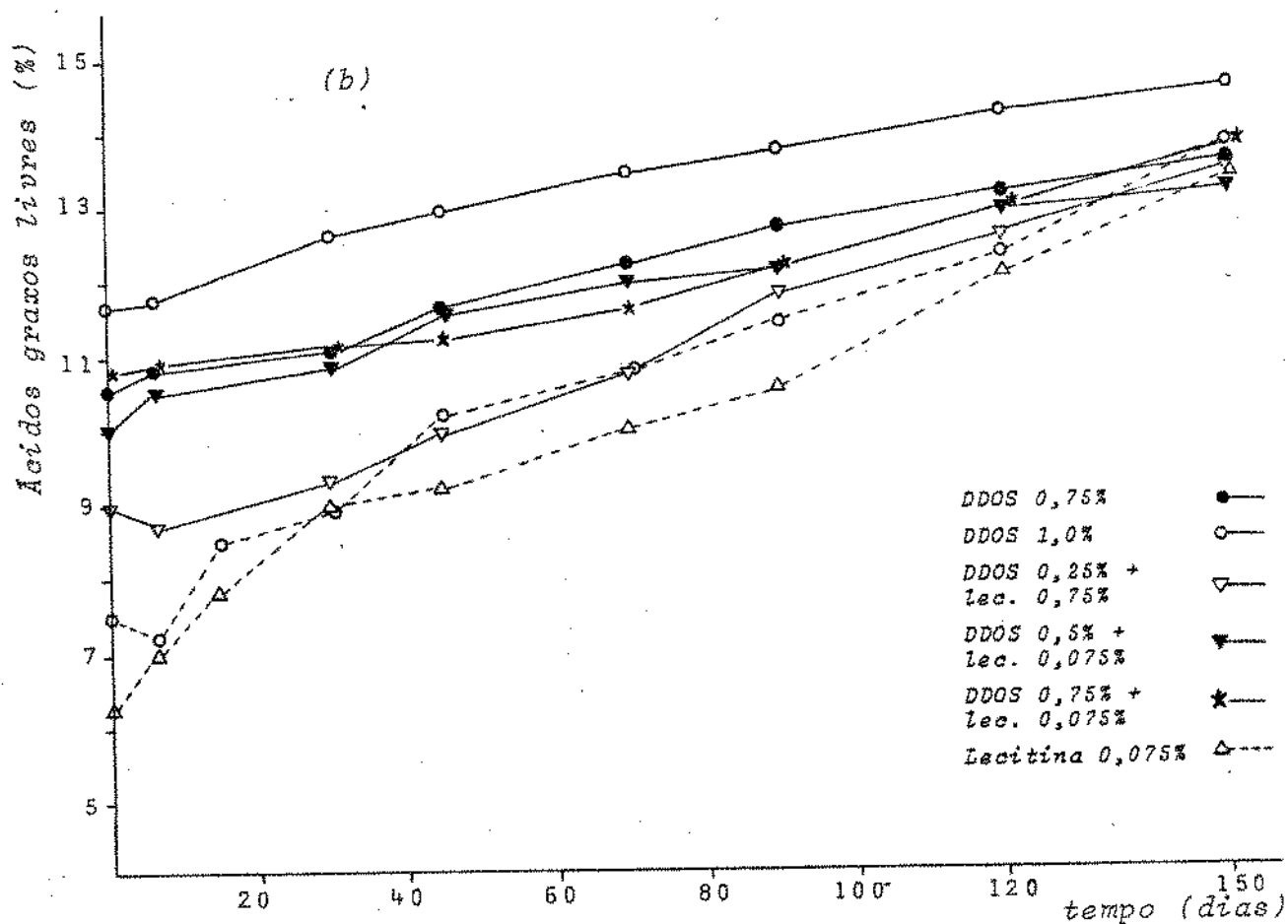
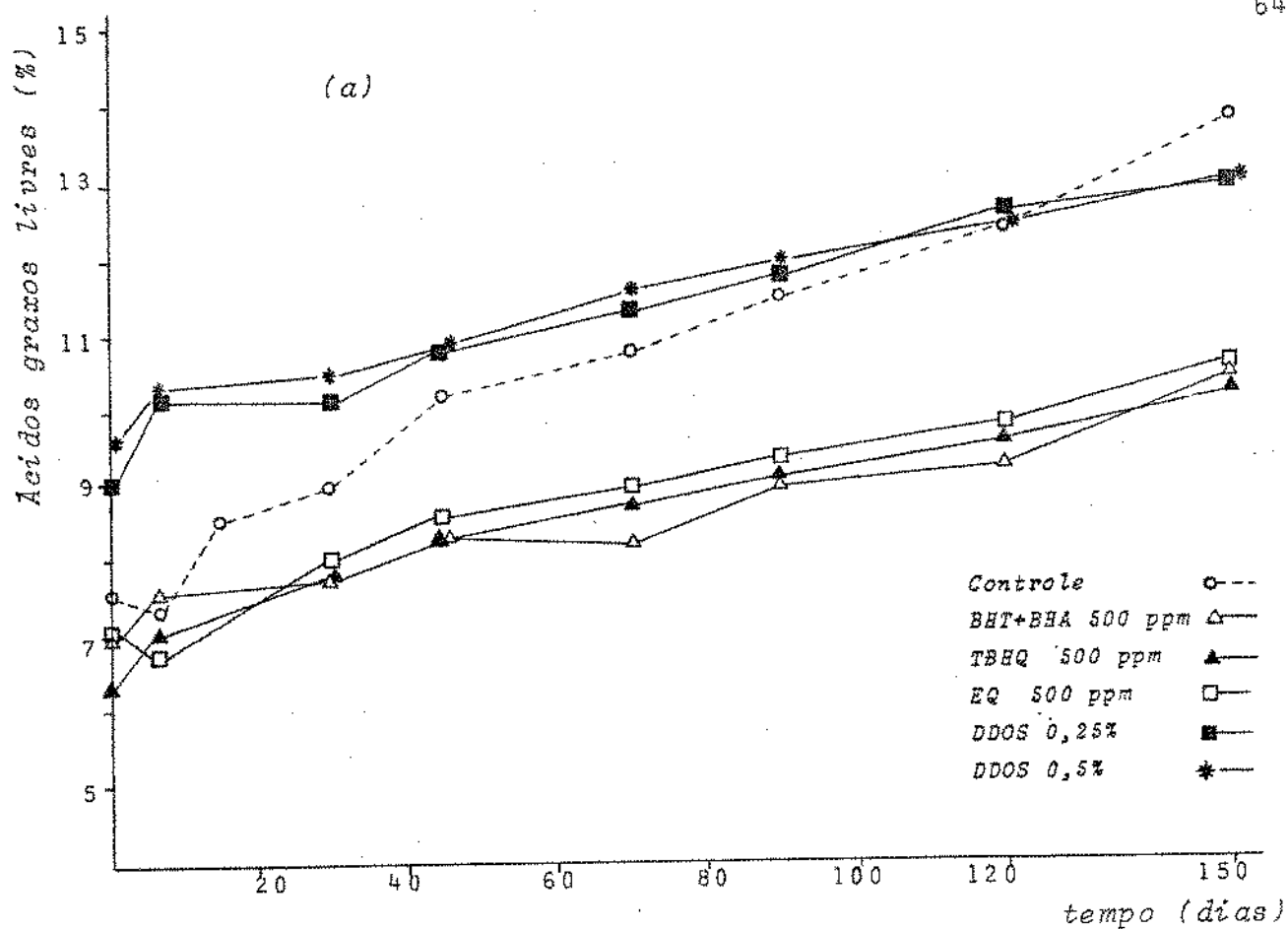


FIGURA 12. MUDANÇAS NO ÍNDICE DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

cimos que aconteceram durante a estocagem nos diferentes tratamentos, e que aparecem no Quadro 11.

Os resultados do Quadro 11 revelaram que o acréscimo no teor de AGL foi maior no controle A e no tratamento L. Nas amostras o menor acréscimo se verificou na amostra da farinha com 1% de DDOS, igualmente os tratamentos G e F apresentaram níveis similares aos obtidos com antioxidantes sintéticos.. A comparação entre A e L mostrou que a adição de lecitina provocou um maior incremento de AGL. Entretanto este aumento é neutralizado pela maior adição de DDOS tal como se deduz dos tratamentos I, J e K e também quando comparada com seus homólogos sem lecitina.

MAR'IN (1970) achou um comportamento similar na farinha de pescado adicionada de BHT, na qual a mudança dos AGL foi mais vagarosa que no controle sem antioxidante.

(d) Teste de TBA

Os resultados do valor de TBA estão no Quadro 10 e nas Figuras 13(a) e (b). Neles pode-se observar que os valores de TBA foram muito variáveis independente do tratamento, especialmente nos primeiros 45 dias. Mesmo assim, é provável visualizar uma tendência a aumentar ao longo do tempo. Os antioxidantes sintéticos demonstraram ser os melhores, ainda que os tratamentos com DDOS também mostraram ser eficientes e apresentaram uma evolução mais demorada dos valores de TBA. Os menores valores corresponderam ao tratamento H (DDOS 1,0%).

O teste de TBA permite avaliar a formação de malonaldeído, produto secundário da oxidação, mas tem-se demonstrado que também reage com outros aldeídos (SINNHUBER e YU, 1977 e KOKUGI e KIKUGAWA, 1986), hidroperóxidos (ASAKAWA e MATSUSHITA, 1979) e com

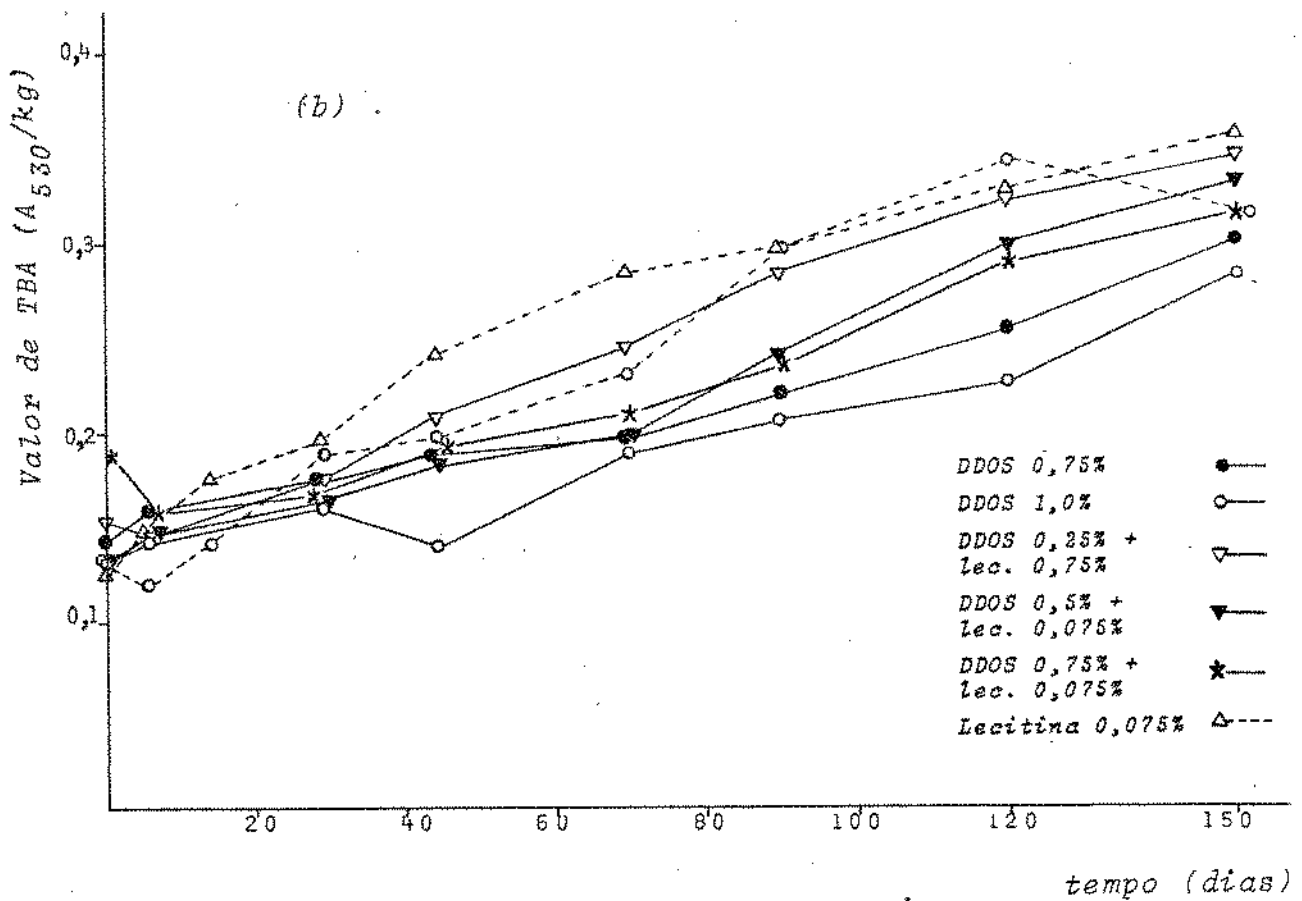
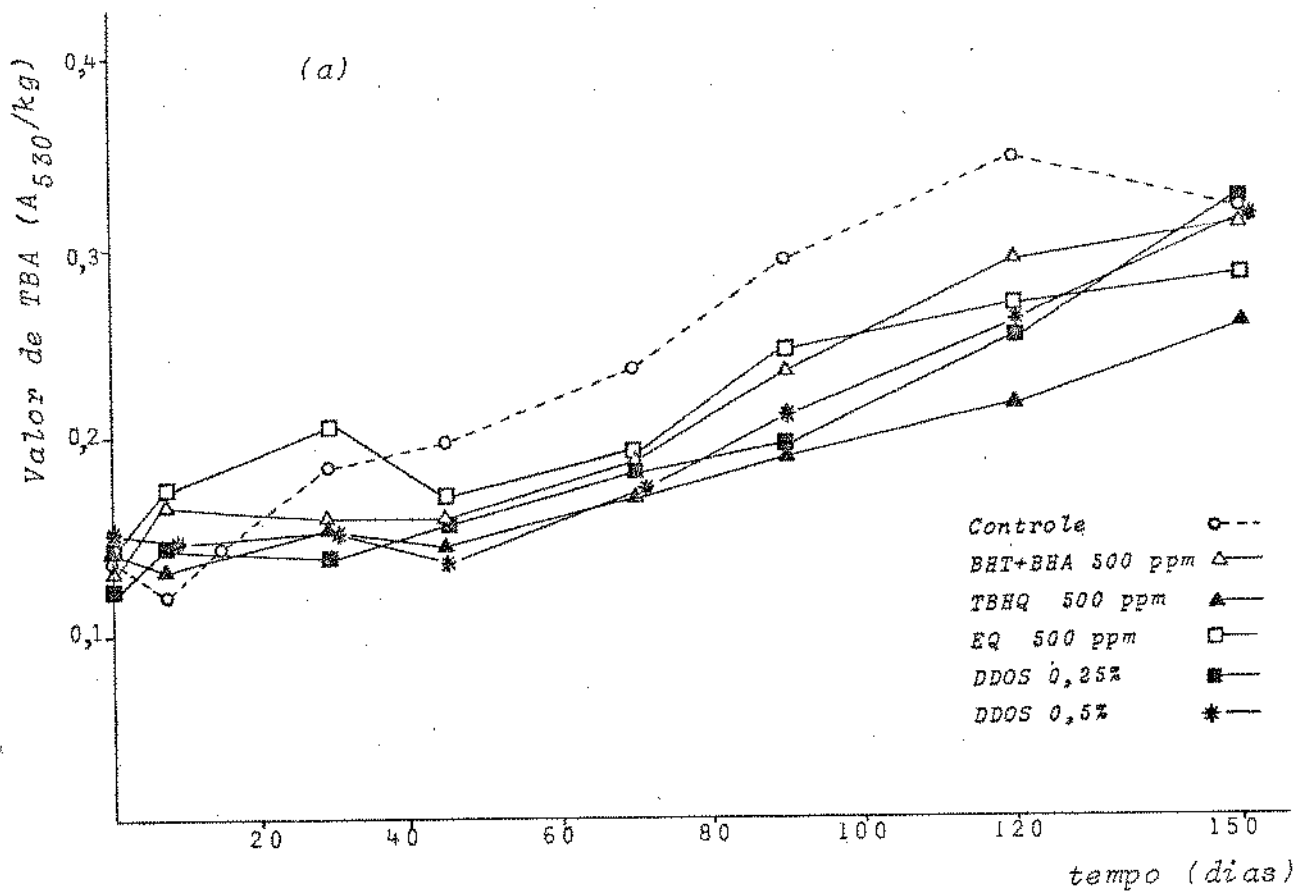


FIGURA 13. MUDANÇAS NO VALOR DE TBA NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

postos parecidos com a prostaglandina (NAKAMURA, 1986) . Tendo-se em conta que a farinha de pescado é um sistema muito reativo, com um processo oxidativo em andamento onde ocorrem reações muito complexas, é possível que existam muitas interferências na determinação química do valor de TBA.

(e) Teste de Kreis

Os resultados do teste de Kreis mostram-se no Quadro 10 e nas Figuras 14(a) e (b). Observam-se valores muito variáveis mais ainda que no teste de TBA . Estas variações apresentaram-se em todos os tratamentos. A variabilidade foi maior nos primeiros períodos da estocagem. O teste de Kreis pretende determinar o epíhidrin aldeído, mas as referências consultadas salientam sua pouca especificidade (COCKS e REDE, 1973 e MEHLENBACHER, 1970). Mesmo assim, considerando apenas as tendências das curvas, pode-se afirmar que os antioxidantes inibem parcialmente a formação de epíhidrin aldeído sendo que o controle A e o tratamento L exibiram valores claramente superiores depois dos 70 dias e tenderam a aumentar mais ainda no transcorrer da estocagem. O DDOS mostrou ser efetivo nas concentrações mais altas. Com respeito aos antioxidantes sintéticos, estes mostraram tanta efetividade quanto o tratamento H. A adição de lecitina aparentemente diminuiu a capacidade antioxidativa do DDOS pois os tratamentos I, J e K mostraram valores maiores que seus respectivos tratamentos sem lecitina.

(f) Teste de anisidina

Os resultados das determinações de anisidina encontram-se no Quadro 10 e nas Figuras 15 (a) e (b). Pode-se apreciar que os valores foram menos variáveis e mais consistentes que nos testes anteriores. Nos primeiros dias não foram apreciadas diferenças importantes entre o controle A e os tratamentos, porém

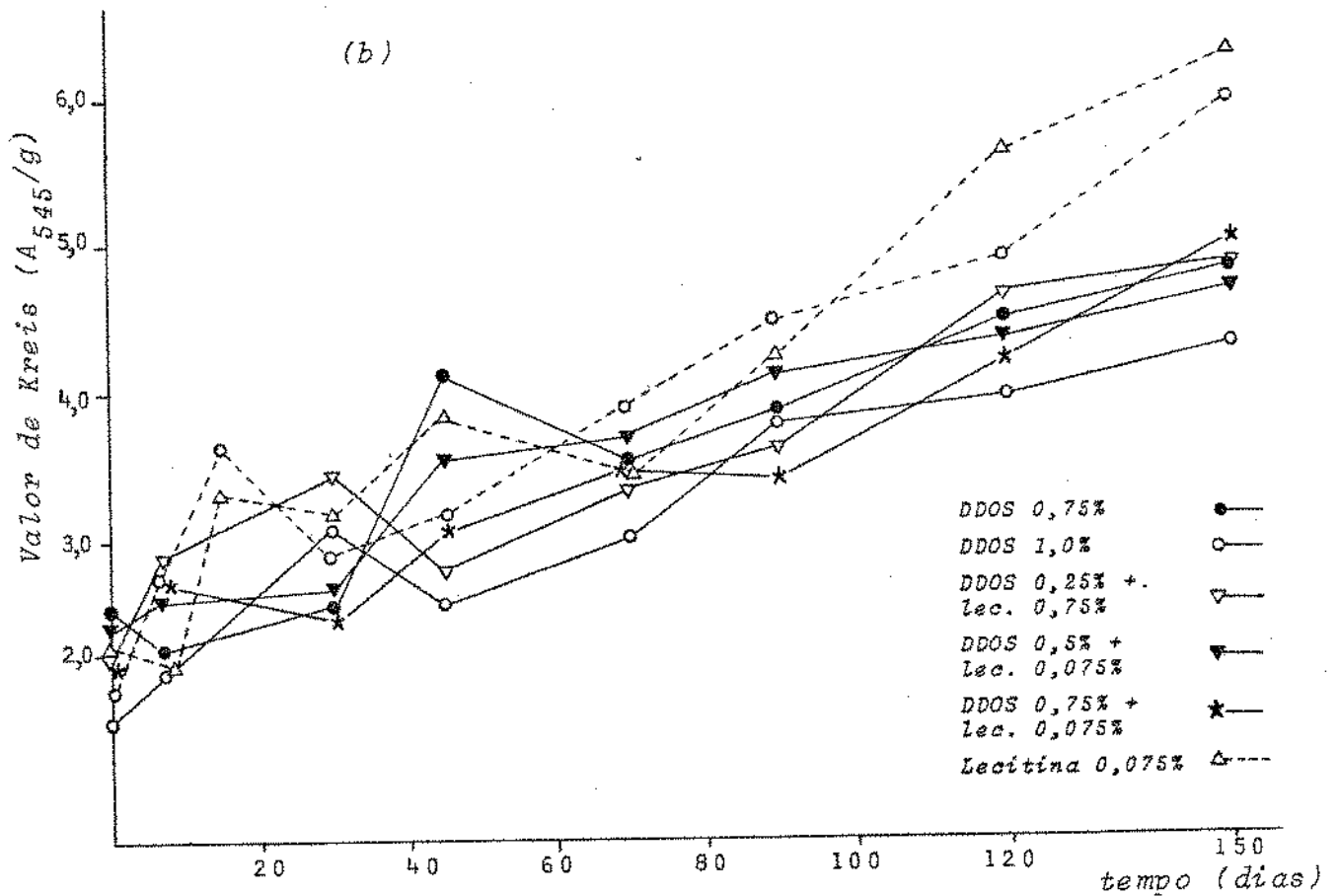
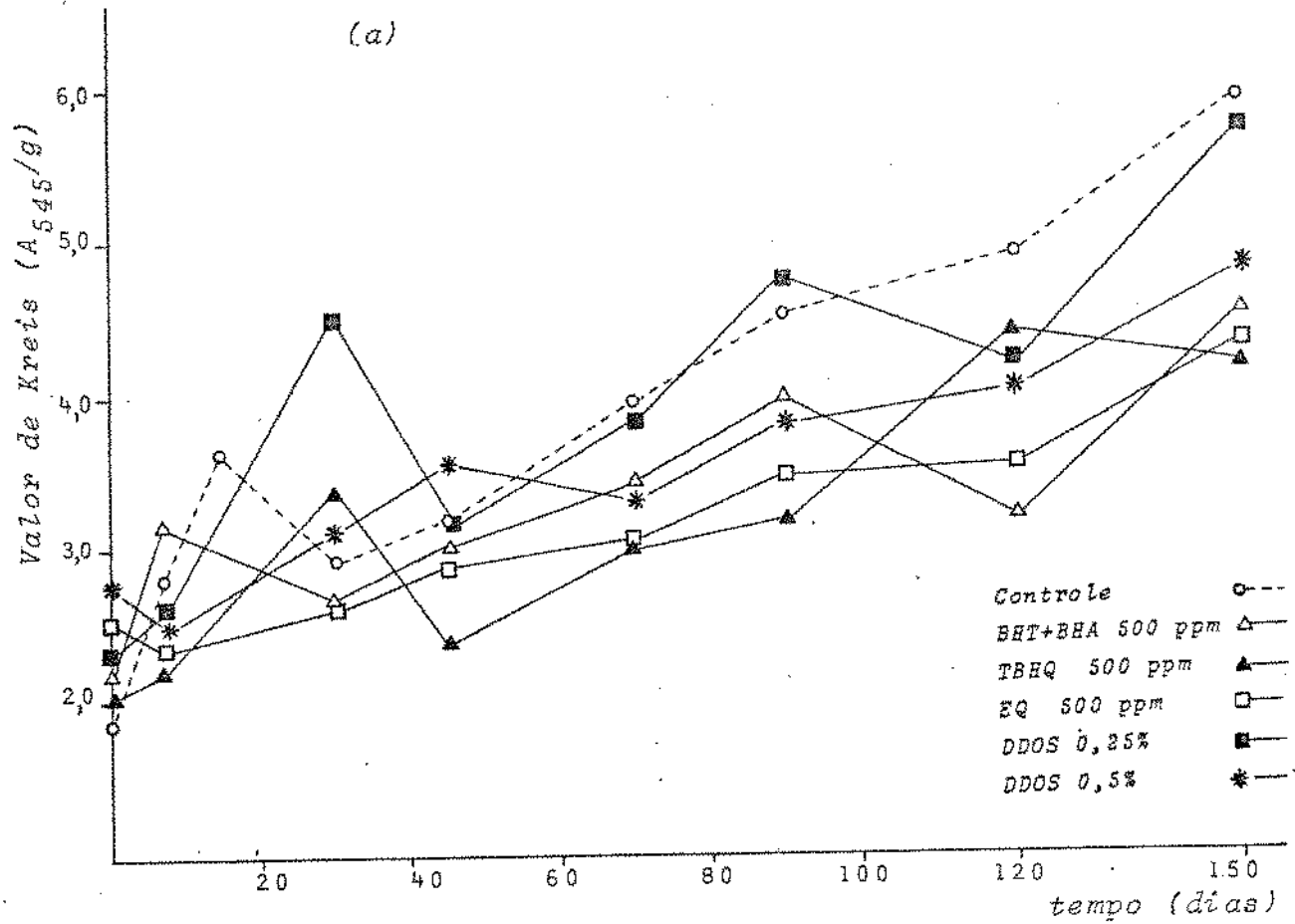


FIGURA 14. MUDANÇAS NO VALOR DE KREIS NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

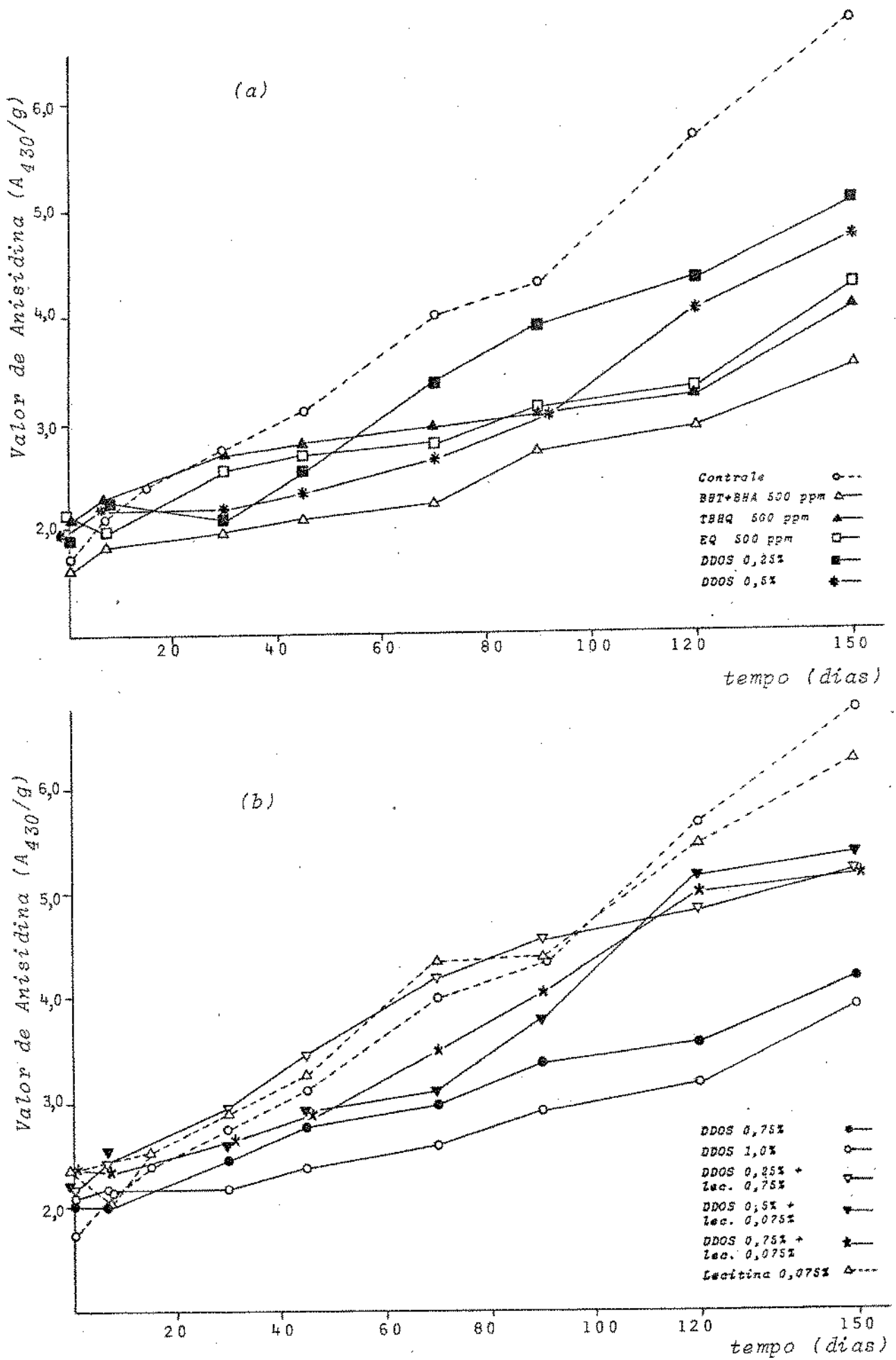


FIGURA 15. MUDANÇAS NO VALOR DE ANISIDINA NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

estas se tornaram perceptíveis depois dos 30 dias. O tratamento C (TBHQ) foi o mais efetivo, embora os tratamentos B e D mostraram ser eficientes. A adição do DDOS se mostrou favorável pois os valores de anisidina ficaram muito menores que o controle A.

Os melhores resultados na adição do DDOS foram obtidos nos tratamentos G e H, comparáveis com a eficiência obtida com os antioxidantes sintéticos. Por outro lado, a adição de lecitina foi prejudicial pois os tratamentos I, J e K apresentaram valores bem mais altos que seus homólogos sem lecitina, inclusive os valores de anisidina neles foram superiores ao tratamento E.

(g) Lipídios oxidados

Os valores obtidos para lipídios oxidados encontram-se no Quadro 10 e nas Figuras 16(a) e (b). Este teste foi realizado para determinar a quantidade do material oxidado e de natureza polar produzidos durante a estocagem. Os valores iniciais foram relativamente altos indicando assim que a farinha já tinha sofrido oxidação antes de ser estocada, tal como se indicou em 4.2. Pode-se afirmar então que a formação de polímeros oxigenados na farinha produz-se durante a elaboração (e.g. na secagem). Segundo MIYASHITA et alli (1984) durante as etapas iniciais da oxidação ocorre a interação de dois radicais peróxido com a conseguinte formação de dímeros. Ao passo que CHEFTEL e CHEFTEL (1976) mencionam que a formação de polímeros estão se formando simultaneamente com a formação de peróxidos e outros produtos secundários de oxidação. Isto explica os valores obtidos no tempo zero neste estudo.

O controle A e o tratamento L mostraram a maior formação de lipídios oxidados e/ou polimerizados. Os antioxidantes mostraram ser efetivos para diminuir a formação destes compostos. Os melhores tratamentos foram D, C e B, mas também o foram os tra

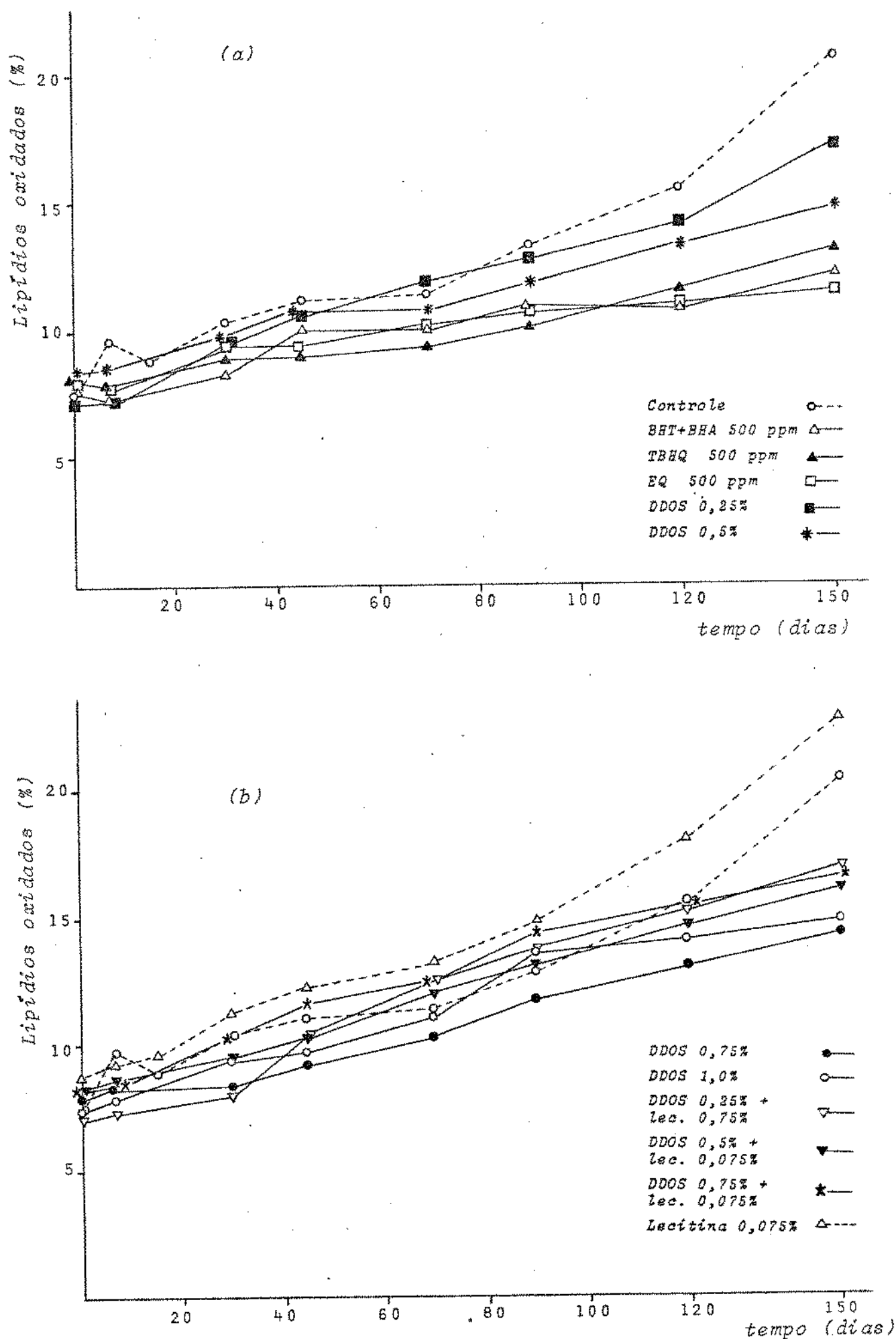


FIGURA 16. MUDANÇAS NOS LIPÍDIOS OXIDADOS NA FARINHA DE SARDINHA TRA-
 TRADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

tamentos envolvendo DDOS, especialmente a níveis de 0,75 e 1,0%.

Como já mencionado, este teste é empírico pois se baseia numa partição por solventes (heptano-metanol 95%) . Os lipídios contendo oxigênio se tornam mais solúveis na fase polar, mas pode-se tratar apenas de AGL, fosfolipídios ou de triglicerídios que contêm alguns de seus 3 ácidos graxos em vias de oxidação ou mesmo de polímeros contendo oxigênio. Por este motivo o empirismo do teste é óbvio, pois não avalia um composto específico senão um conjunto de lipídios que muda sua polaridade durante a estocagem. Assim, os acréscimos de compostos oxidados não necessariamente incidirão com a diminuição de ácidos graxos polinsaturados registrados pelo índice de iodo ou a cromatografia GL.

4.5.2 Estocagem em estufa

(a) Índice de iodo

Os resultados do índice de iodo podem-se observar no Quadro 12 e nas Figuras 17 (a) e (b). A diminuição do índice de iodo do controle A e o tratamento L foi mais rápida que nos outros tratamentos. A adição do DDOS foi benéfica sendo que 0,5% deste material manteve o índice de iodo em níveis semelhantes aos tratamentos com antioxidantes sintéticos (B, C e D). Com adições maiores de DDOS (G e H), a queda no índice de iodo foi ainda menos acentuada. A adição de lecitina não produziu efeitos sinérgicos com o DDOS senão que diminuiu o poder antioxidante deste pois os tratamentos I, J e K, tiveram menores valores que seus homólogos sem lecitina (E, F e G). Aparentemente a temperatura da estocagem (50°C) não influenciou o comportamento da lecitina pois na estocagem em condições normais houve uma situação semelhante.

O valor de iodo 100 foi alcançado pelo controle depois das 70-75 horas, no tratamento L as 85-90 horas; em E, I ; J

QUADRO 12. MUDANÇAS NOS ÍNDICES QUÍMICOS DA OXIDAÇÃO DA FARINHA DE SARDINHA
TRATADAS COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADAS EM ESTUFA (50°C)

Tempo (horas)	Índice de iodo	Índice de peróxidos (meqO ₂ /kg)	Ácidos gra- zos livres (%)	Valor de TBA (A ₅₃₀ /kg)	Valor de Kreiss (A ₅₄₅ /g)	Valor de anisidina (A ₄₃₀ /g)	Lipídios oxidados (%)
A. Controle, sem antioxidante							
0	130,9	70,1	7,5	0,130	1,96	1,90	6,24
12	119,1	89,3	8,2	0,161	2,74	2,11	8,47
20	112,4	102,6	9,7	0,250	3,63	3,52	8,40
63	98,9	153,4	10,1	0,271	3,89	4,38	10,63
109	96,7	99,8	12,5	0,246	4,68	5,12	15,16
153	88,6	50,3	15,2	0,403	5,98	6,41	20,87
B. BHT + BHA (1:1) 500 ppm							
0	132,4	53,7	7,0	0,157	2,10	2,16	7,32
12	127,4	62,5	7,5	0,131	2,18	2,61	6,56
63	118,8	102,3	8,0	0,208	2,87	2,65	9,10
109	110,7	68,7	9,4	0,234	3,23	3,35	10,22
153	102,5	39,1	10,3	0,299	3,97	4,12	12,05
C. TBHQ 500 ppm							
0	131,2	36,9	7,2	0,144	2,23	2,00	7,01
12	127,8	58,2	7,4	0,173	2,29	2,41	7,58
63	122,0	111,4	7,6	0,162	2,42	3,12	8,67
109	110,5	64,6	9,1	0,213	3,32	3,51	10,84
153	101,4	30,8	10,9	0,280	4,08	3,85	11,32
D. EQ 500 ppm							
0	131,7	44,0	6,9	0,148	2,30	2,21	6,56
12	129,1	53,9	7,1	0,152	2,47	2,33	7,10
63	125,2	98,2	7,5	0,183	3,28	3,02	7,47
109	114,6	62,8	8,9	0,210	3,31	3,84	11,71
153	103,5	37,5	10,1	0,271	4,20	4,27	13,15
E. DDOS 0,25%							
0	129,8	38,0	9,7	0,140	2,29	1,97	5,98
12	125,1	48,7	10,0	0,182	2,73	2,12	6,73
63	117,2	119,1	10,6	0,203	3,04	3,43	8,02
109	103,3	79,6	12,7	0,259	4,29	4,02	13,29
153	93,6	57,5	14,9	0,325	4,88	5,05	17,21
F. DDOS 0,50%							
0	131,0	31,4	11,2	0,117	2,13	1,95	6,81
12	127,2	40,1	11,3	0,113	3,80	2,76	7,95
63	117,6	116,3	11,9	0,194	3,58	3,30	9,83
109	110,6	55,6	13,7	0,237	4,16	4,14	11,02
153	100,8	34,2	15,2	0,310	4,60	4,46	14,66

continua.../

QUADRO 12. MUDANÇAS NOS ÍNDICES QUÍMICOS DA OXIDAÇÃO DA FARINHA DE SARDINHA
TRATADAS COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADAS EM ESTUFA (50°C)

Tempo (horas)	Índice de iodo	Índice de peróxidos (meqO ₂ /kg)	Ácidos gra xos livres (%)	Valor de TBA (A ₅₃₀ /kg)	Valor de Kreiss (A ₅₄₅ /g)	Valor de anisidina (A ₄₃₀ /g)	Lipídios oxidados (%)
G. DDOS 0,75%							
0	130,7	24,9	11,3	0,158	2,18	1,93	5,74
12	128,1	36,7	11,5	0,177	2,60	2,48	7,48
63	119,5	93,2	11,9	0,189	3,54	3,31	10,46
109	110,3	55,1	13,7	0,251	4,10	4,08	11,30
153	105,2	29,8	15,1	0,316	4,48	4,39	13,94
H. DDOS 1,0%							
0	132,2	28,5	12,3	0,127	2,58	2,03	7,15
12	129,4	32,7	12,2	0,150	2,42	2,26	6,12
63	123,1	83,6	12,8	0,221	3,14	3,23	9,37
109	118,0	49,8	14,4	0,239	3,99	3,82	10,02
153	107,8	30,1	15,6	0,282	4,27	4,13	12,14
I. DDOS 0,25% + lecitina 0,075%							
0	130,4	40,1	9,9	0,163	2,26	2,08	6,87
12	124,7	56,2	10,1	0,178	2,31	3,84	6,79
63	115,2	108,0	11,0	0,245	3,38	3,96	9,02
109	102,7	62,7	13,4	0,303	4,35	4,49	11,70
153	90,9	40,8	15,4	0,352	5,44	5,23	18,31
J. DDOS 0,50% + lecitina 0,075%							
0	131,0	31,4	10,8	0,160	2,73	2,18	5,30
12	123,9	49,6	10,9	0,181	2,68	2,91	7,66
63	112,4	101,2	12,3	0,252	3,83	3,65	9,98
109	106,1	53,7	13,9	0,292	4,42	4,29	12,74
153	95,3	35,3	15,7	0,340	5,29	4,90	16,83
K. DDOS 0,75% + lecitina 0,075%							
0	130,6	38,3	11,7	0,134	2,02	2,17	5,92
12	125,2	50,6	11,8	0,141	2,31	2,73	5,26
63	118,4	95,7	12,5	0,265	3,60	3,80	7,84
109	107,9	58,1	15,0	0,297	4,64	4,34	13,32
153	96,3	40,2	16,5	0,328	5,15	4,68	15,01
L. Lecitina 0,075%							
0	131,4	53,8	6,9	0,145	2,46	2,06	5,51
12	121,6	69,1	7,6	0,216	3,32	2,48	5,10
20	115,2	95,2	7,5	0,310	3,08	2,89	7,88
63	101,6	144,9	8,9	0,332	3,45	3,90	12,41
109	95,3	78,2	11,5	0,377	4,53	4,85	14,25
153	87,1	32,9	15,0	0,464	6,31	6,74	22,33

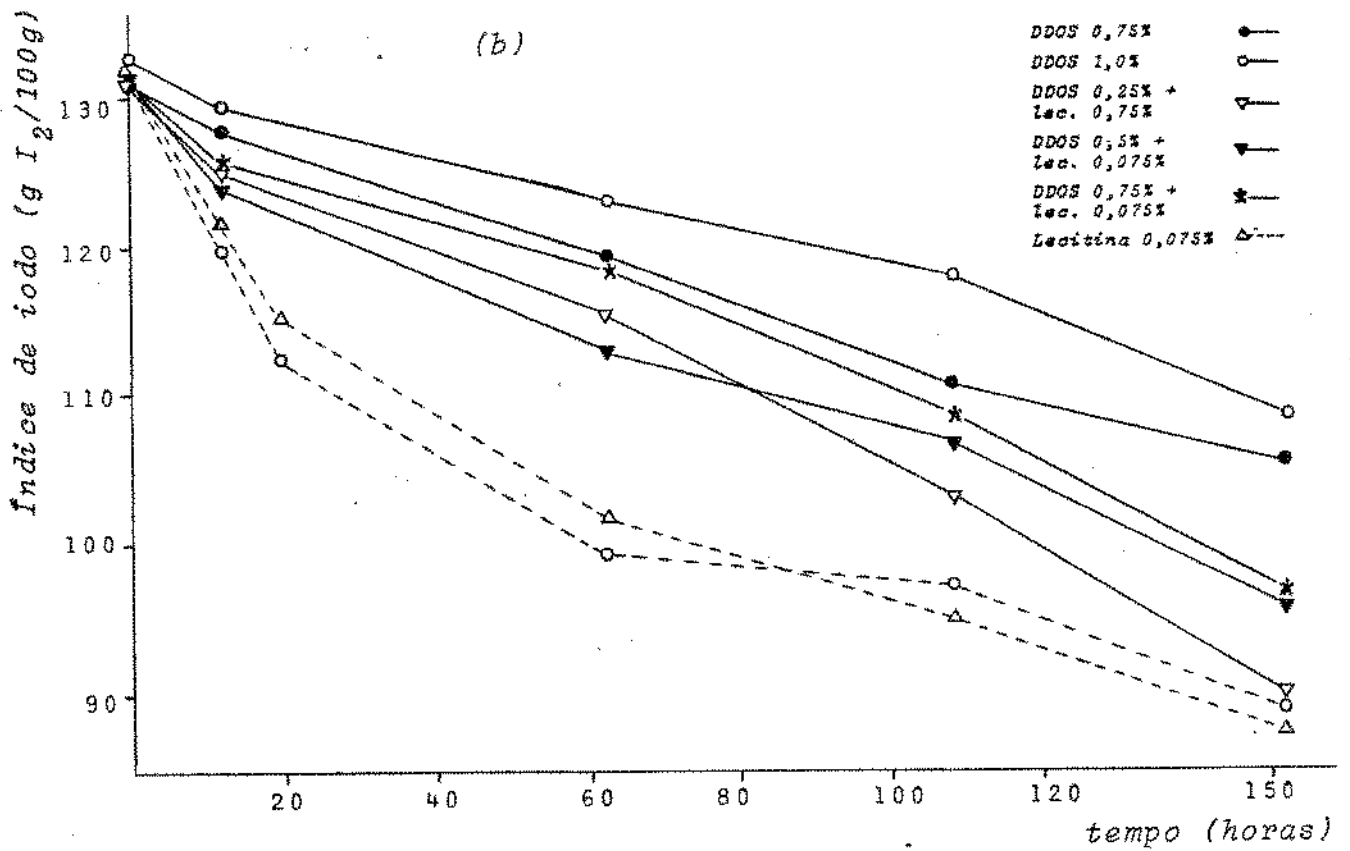
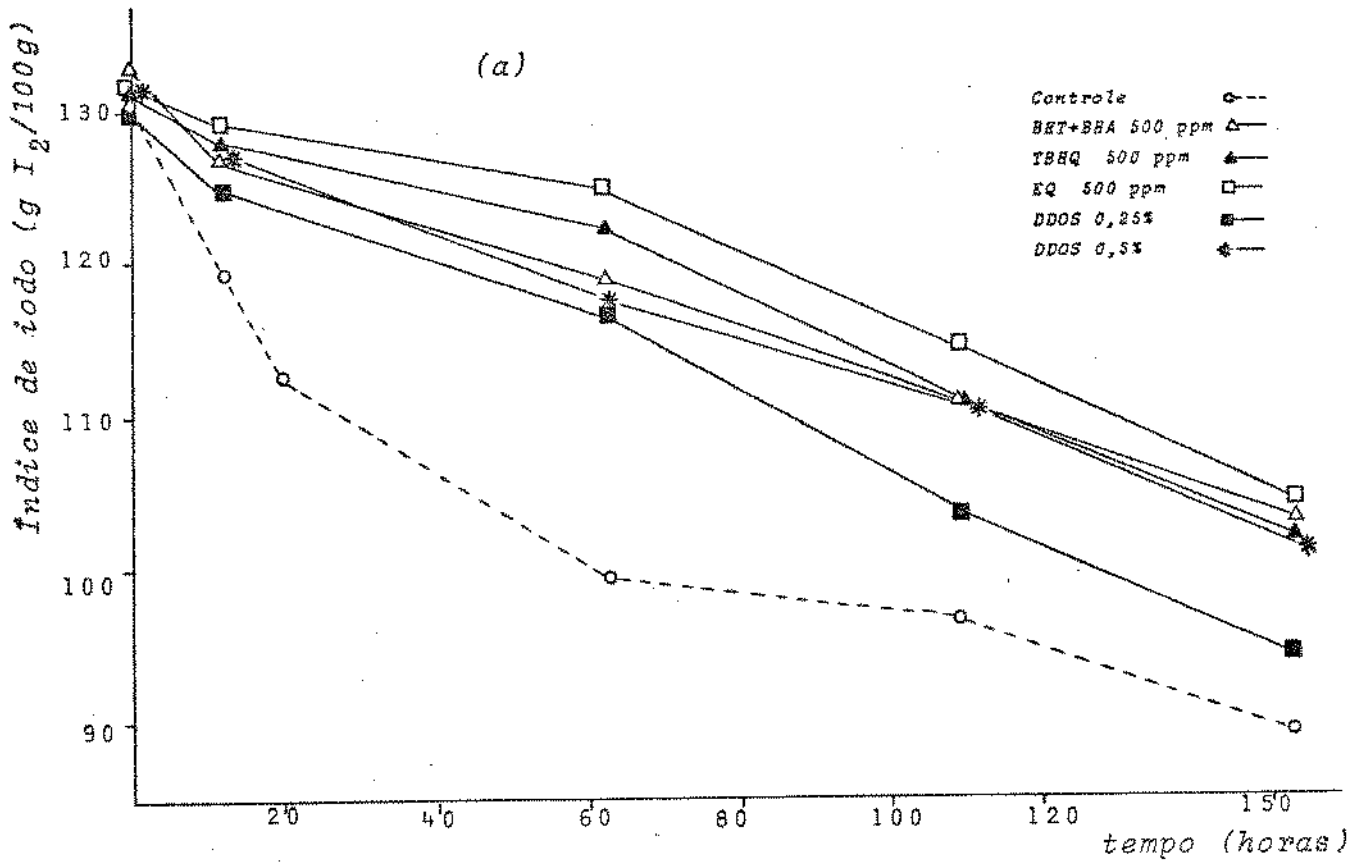


FIGURA 17. MUDANÇAS NO ÍNDICE DE IODO NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)

e K entre as 120-130 horas e em B,C,D,G e H após 153 horas. MARCH et al. (1961) acharam uma queda muito mais rápida do índice de iodo para uma farinha sem antioxidante quando comparada com outra adicionada de BHT, obtendo índices de iodo de 90 e 100 nas farinhas já ranças. Os resultados do presente estudo concordam plenamente com esses dados.

(b) Índice de peróxidos

Os resultados encontram-se no Quadro 12 e nas Figuras 18 (a) e (b). Pode-se observar que no tempo zero da estocagem apresentou-se o mesmo fenômeno que nas amostras estocadas em condições normais. Isto é, houve uma diminuição dos peróxidos assim que os antioxidantes foram adicionados. Da mesma forma que no caso de 4.5.1(b), a maior alteração produziu-se com a adição do DDOS. As curvas mostraram o comportamento típico da evolução do índice de peróxidos em óleos durante o processo oxidativo, porém a queda não foi nem tão brusca nem chegou a níveis não detectáveis, como aconteceu na estocagem em condições normais. Obviamente a temperatura desempenhou um papel muito importante neste comportamento, provavelmente provocou uma maior ativação das duplas ligações dos AGP de modo que o acúmulo de peróxidos foi superior a suas taxas de decomposição. O controle A e o tratamento L mostraram nítida diferença em seus índices de peróxidos quando comparados com os outros tratamentos. Estes últimos não manifestaram diferenças notórias entre eles exceto o tratamento H. A adição de DDOS mostrou então ser tão efetivo como os antioxidantes sintéticos, sendo melhores as concentrações acima de 0,5%. As amostras com lecitina + DDOS tiveram índices de peróxidos levemente maiores que os tratamentos com DDOS só.

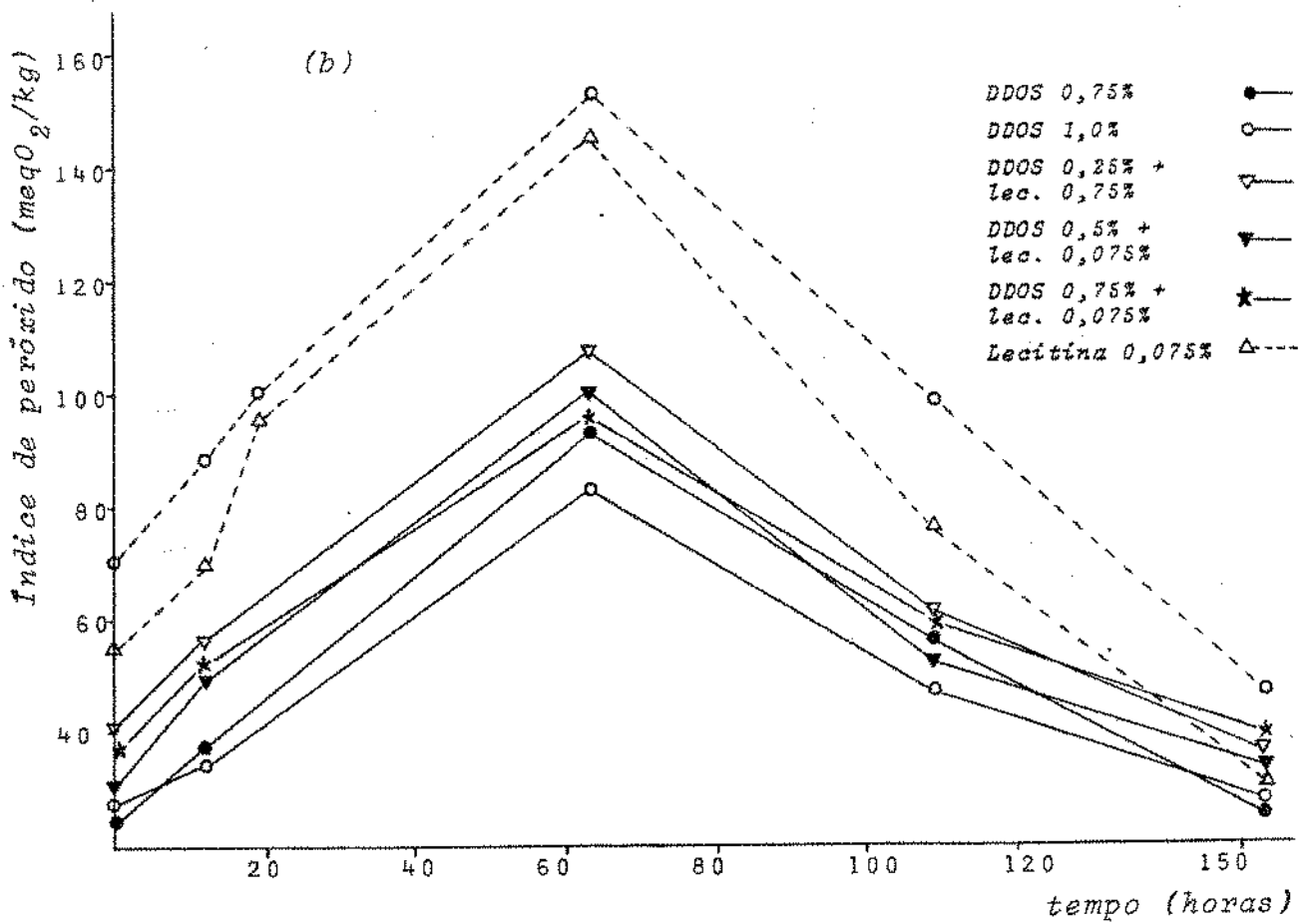
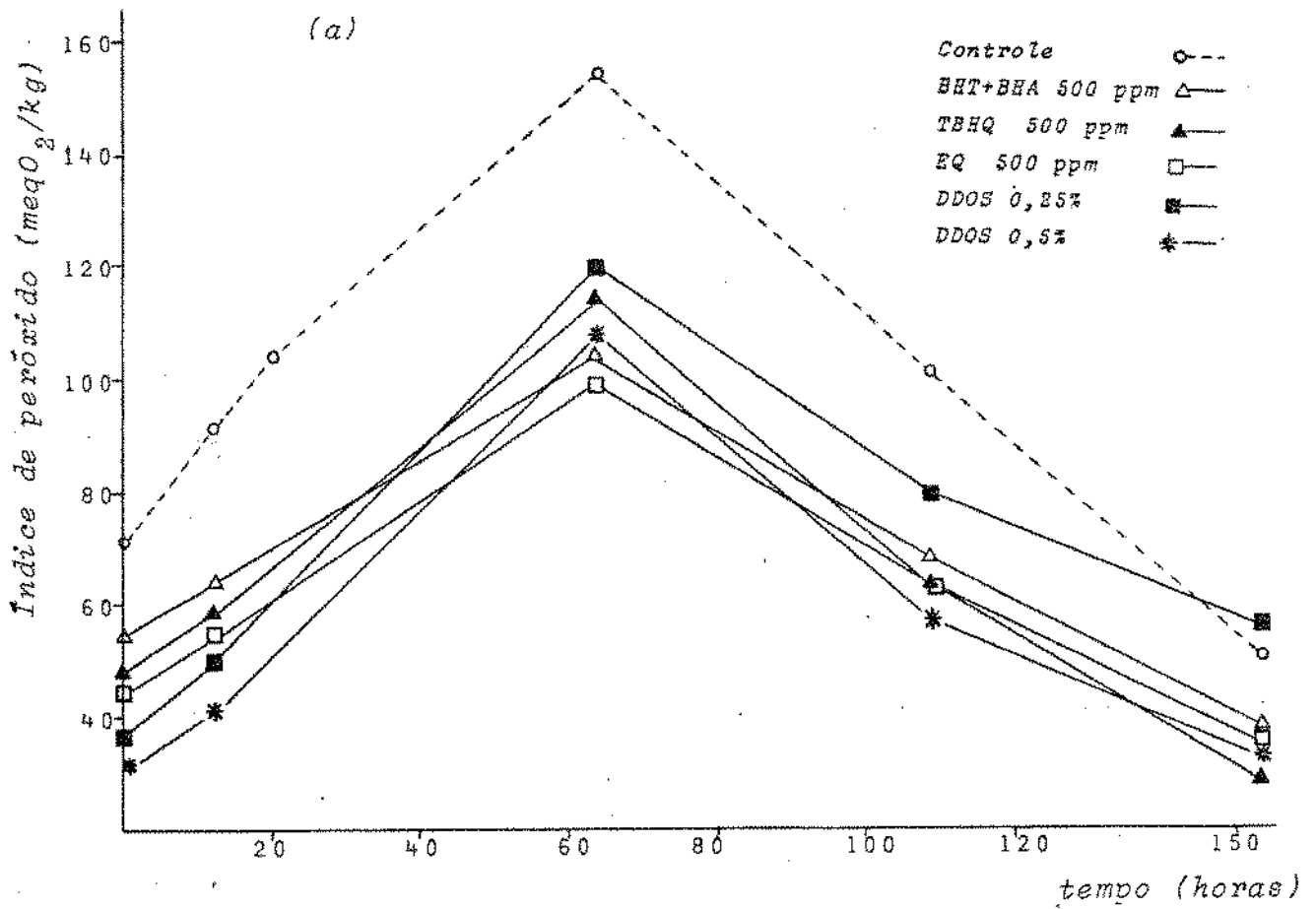


FIGURA 18. MUDANÇAS NO ÍNDICE DE PERÓXIDO NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)

(c) Índice de ácidos graxos livres

Os resultados do índice de AGL observam-se no Quadro 12 e nas Figuras 19(a) e (b). A adição do DDOS provocou um incremento inicial do conteúdo de AGL no tempo zero da estocagem, pelo que procedeu-se a calcular o incremento real. Os resultados aparecem no Quadro 13

QUADRO 13. INCREMENTO DO ÍNDICE DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES DURANTE A ESTOCAGEM EM ESTUFA (50°C)

Tratamento	Tempo de estocagem (horas)				
	12	20	63	109	153
A	0,7	2,2	2,6	5,0	7,7
B	0,5	-	1,0	2,4	3,3
C	0,2	-	0,4	1,9	3,7
D	0,2	-	0,6	2,0	3,2
E	0,3	-	0,9	3,0	5,1
F	0,1	-	0,7	2,5	4,2
G	0,2	-	0,6	2,4	3,8
H	-0,1	-	0,5	2,1	3,3
I	0,2	-	1,1	3,5	5,5
J	0,1	-	2,5	3,1	4,9
K	0,1	-	0,8	3,3	4,8
L	0,7	0,6	2,0	4,6	8,1

Apreciando os dados de incrementos pode-se concluir que os tratamentos A e L apresentaram os valores mais altos , enquanto que os tratamentos G e H exibiram os valores mais baixos e próximos dos obtidos com antioxidantes sintéticos (B, C e D) .

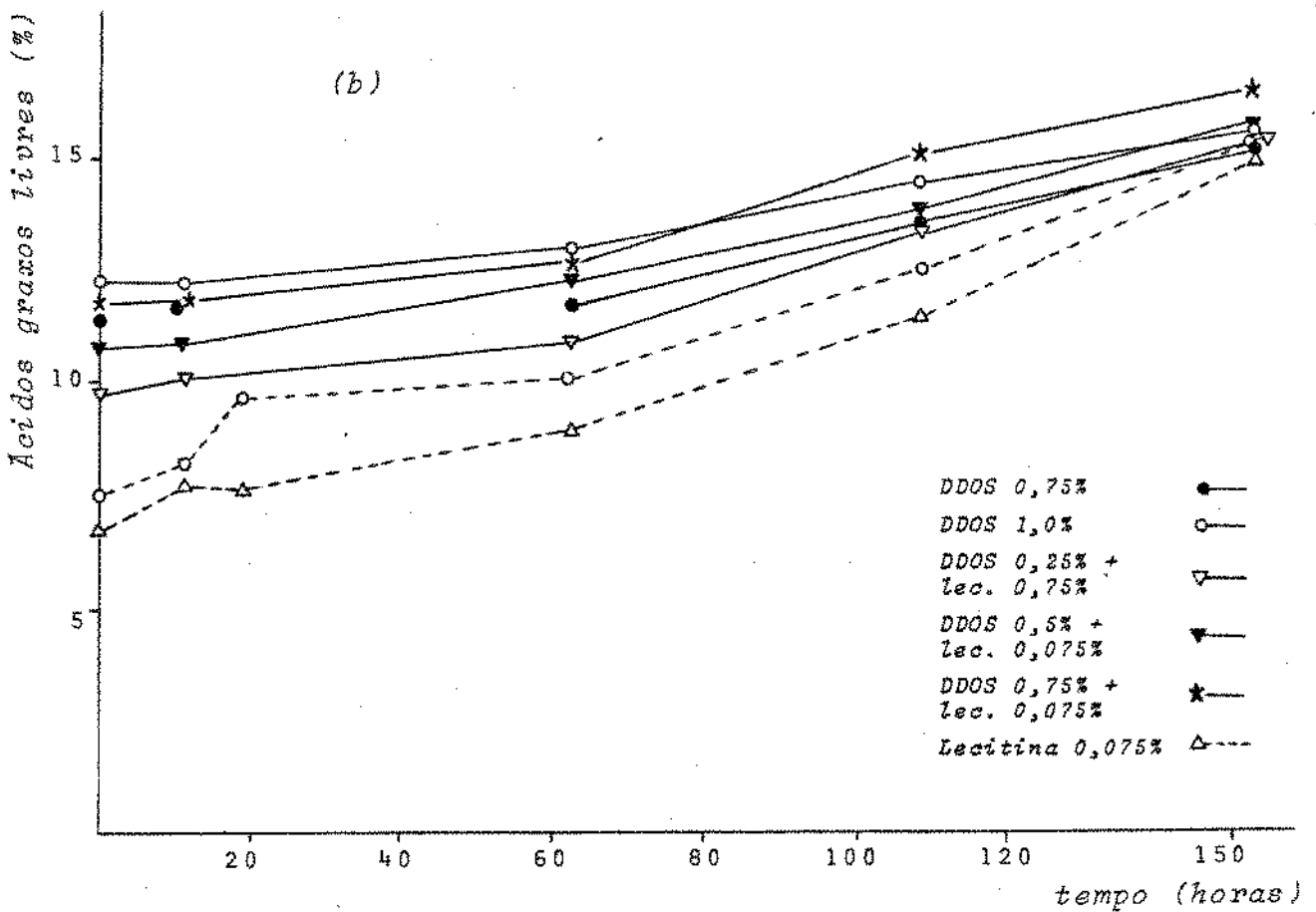
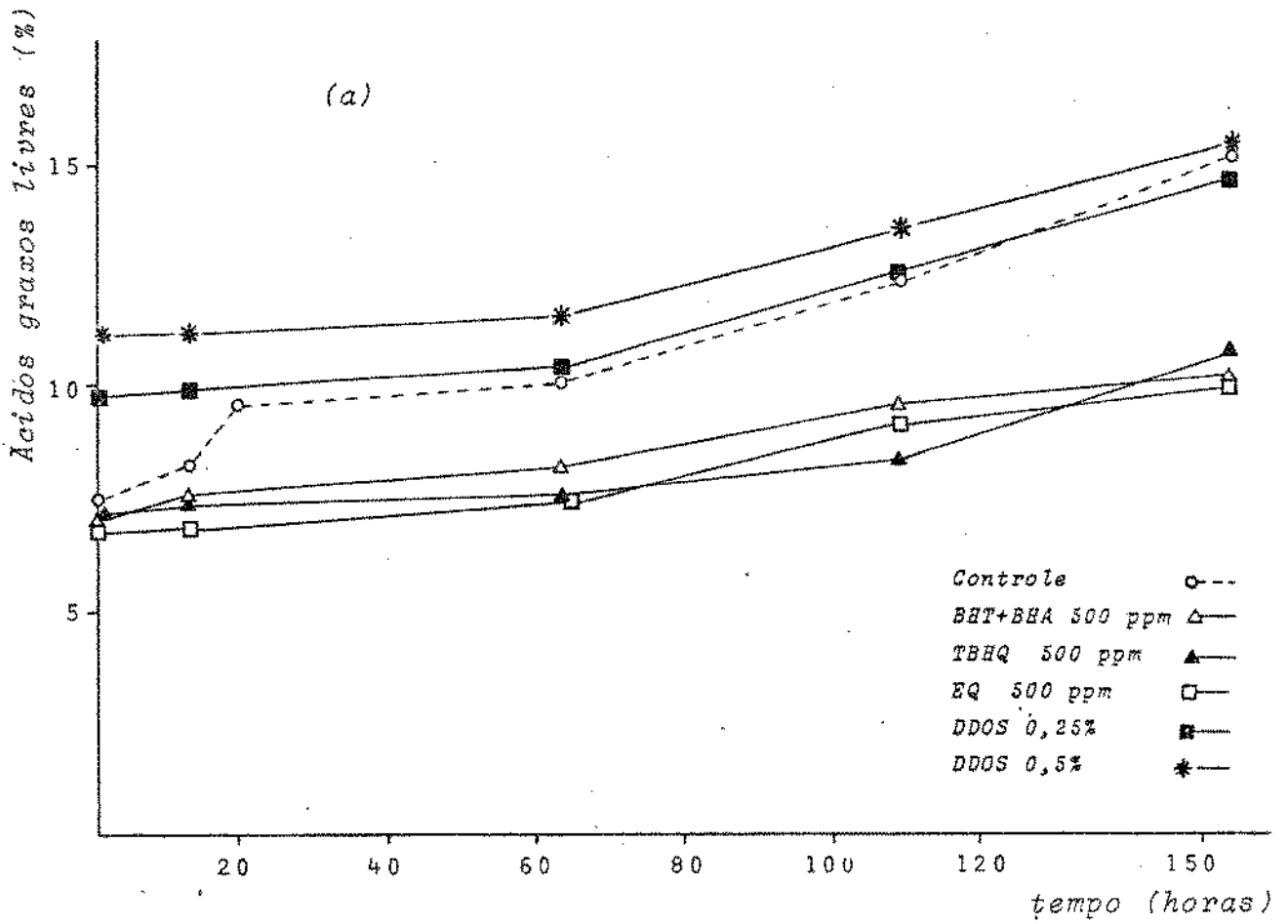


FIGURA 19. MUDANÇAS NO ÍNDICE DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)

Comparando os tratamentos com adição de lecitina e seus homólogos sem lecitina, pode-se notar que a adição deste composto causou um aumento dos AGL, inclusive no tratamento L os valores foram maiores que no controle A.

KROLL e ROLOF (1974) e MAR'IN (1970), acharam que a adição de α -tocoferol e BHT, respectivamente, diminuíram a formação de AGL na farinha de pescado. Os valores obtidos por estes autores no final da estocagem estiveram na faixa de 10 a 16% . No presente trabalho obtiveram-se resultados semelhantes.

(d) Teste de TBA

Os valores de TBA encontram-se no Quadro 12 e nas Figuras 20 (a) e (b). Os resultados mostraram que os valores foram menos variáveis que os registrados em 4.5.1 (d). Os valores mais consistentes podem ser atribuídos à temperatura que possivelmente causou formação contínua de malonaldeído ou de outras substâncias que reagem com o TBA. Observa-se, igualmente, que a adição do DDOS na farinha teve efeito positivo relacionado diretamente com a percentagem incorporada. Os melhores tratamentos foram G e H, comparãveis aos antioxidantes sintéticos . O controle A e o tratamento L apresentaram os maiores valores de TBA, enquanto que os tratamen-
tos I, J e K mostraram valores levemente superiores aos correspon-
dentes sem lecitina . Por tanto neste caso não se poderia afirmar com certeza se a lecitina induziu ou não o incremento dos valores de TBA . EL-LAKANY (1974) achou que o número de TBA foi menor em farinha de arenque tratada com antioxidante quando comparada com o controle sem antioxidante , e que os valores foram um tanto variáveis.

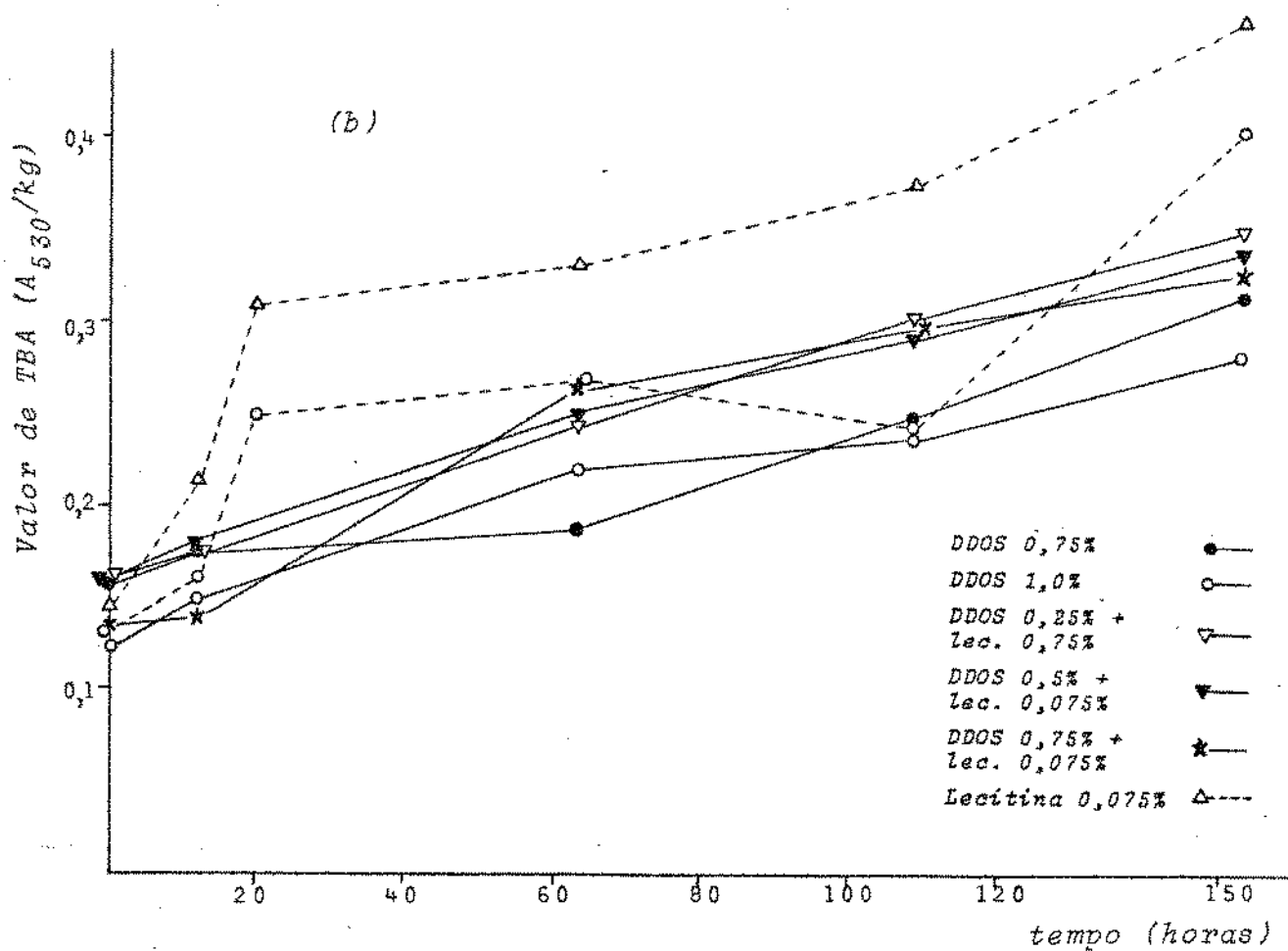
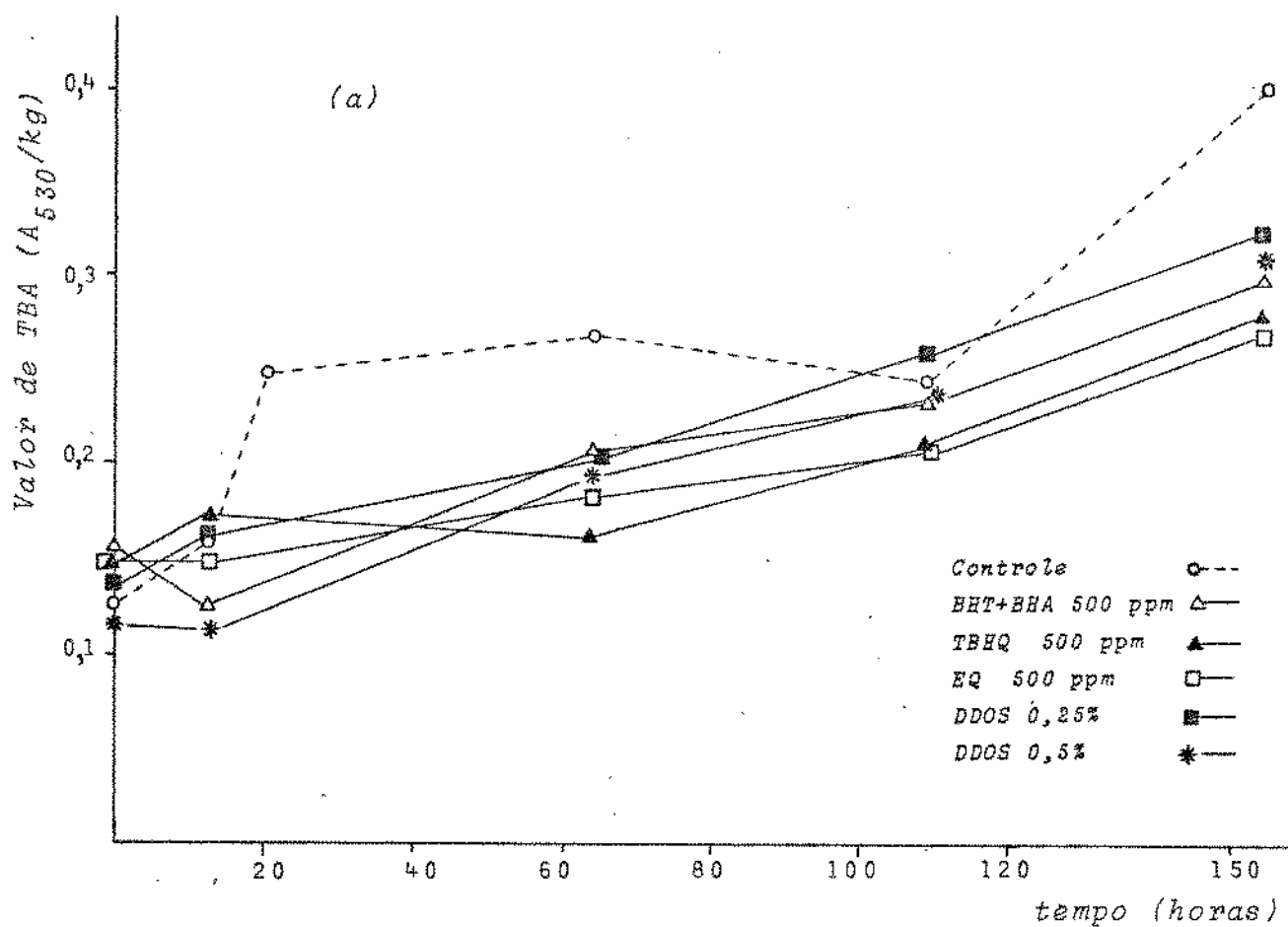


FIGURA 20. MUDANÇAS NO VALOR DE TBA NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)

(e) Teste de Kreis

Com relação ao teste de Kreis, os resultados mostram-se no Quadro 12 e nas Figuras 21 (a) e (b). Neste caso, assim como no anterior, as condições do teste influenciaram na uniformidade e consistência dos valores obtidos. Os melhores tratamentos (B, C, D e H) deram os valores de TBA mais baixos. Os tratamentos com adição de lecitina apresentaram valores maiores que os correspondentes sem lecitina, evidenciando que a adição desta substância em nada melhora a performance do DDOS mas pelo contrário diminuiu sua ação protetora.

(f) Teste de anisidina

Os resultados do teste de anisidina apreciam-se no Quadro 12 e nas Figuras 22 (a) e (b). De maneira similar ao acontecido em 4.5.1 (f) as determinações mostraram uma tendência definida no decorrer do teste. Pode-se observar claramente que o controle A e o tratamento L diferenciam-se dos outros tratamentos, particularmente depois das 63 horas. A ação do DDOS foi benéfica, mostrando os tratamentos F, G e H resultados semelhantes aos obtidos com antioxidantes sintéticos. Também percebeu-se a ação negativa da combinação lecitina + DDOS, pois os resultados obtidos nos tratamentos I, J e K tiveram valores um tanto mais elevados que seus respectivos tratamentos com DDOS e sem lecitina.

(g) Lipídios oxidados

Os valores obtidos encontram-se no Quadro 12 e nas Figuras 23 (a) e (b). Observa-se que no tempo zero da estocagem os níveis de lipídios oxidados foram relativamente altos. Isto é consequência da oxidação e polimerização sofrida pela farinha durante a secagem. A respeito disso, MARCH et alli (1961) obtiveram

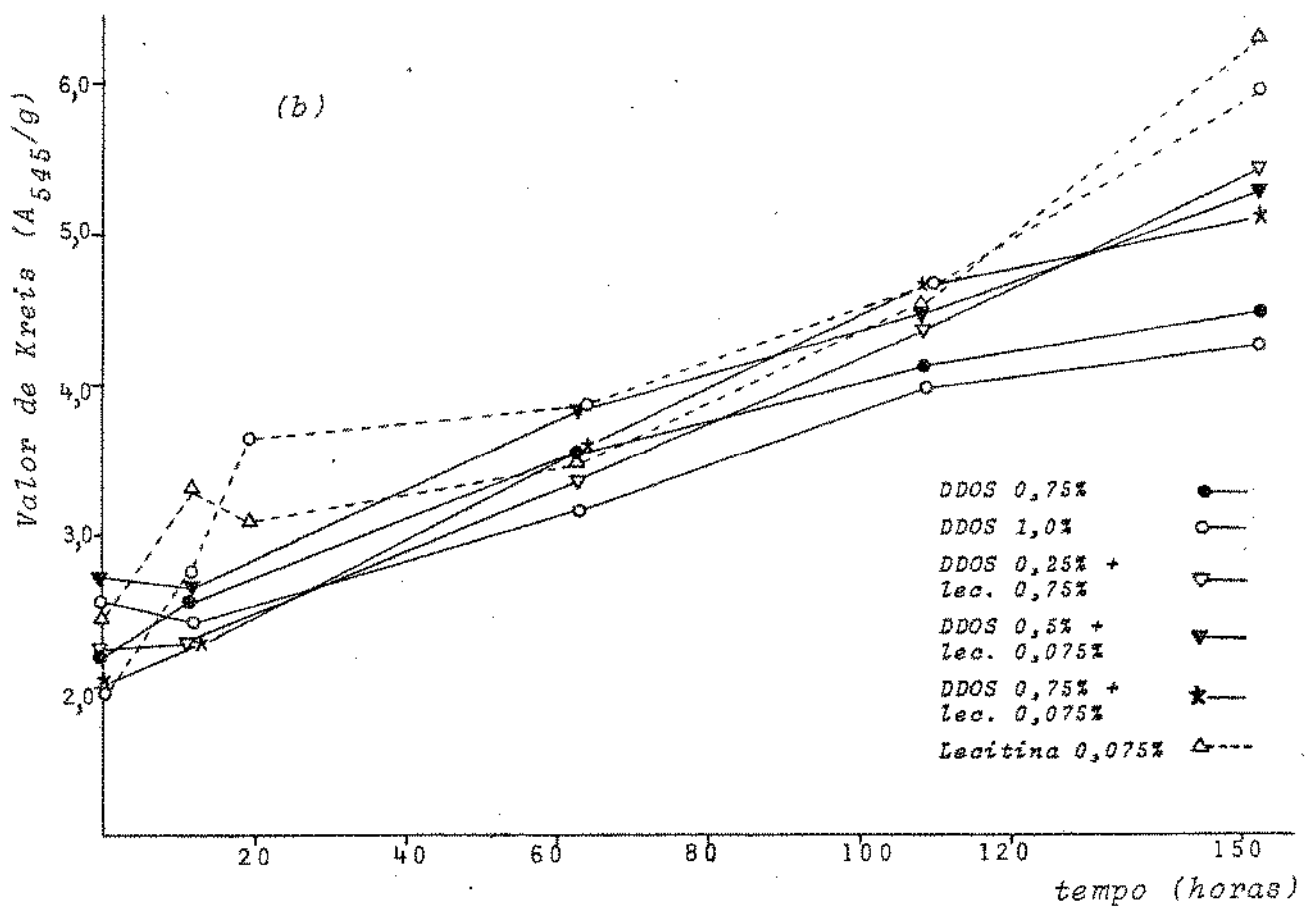
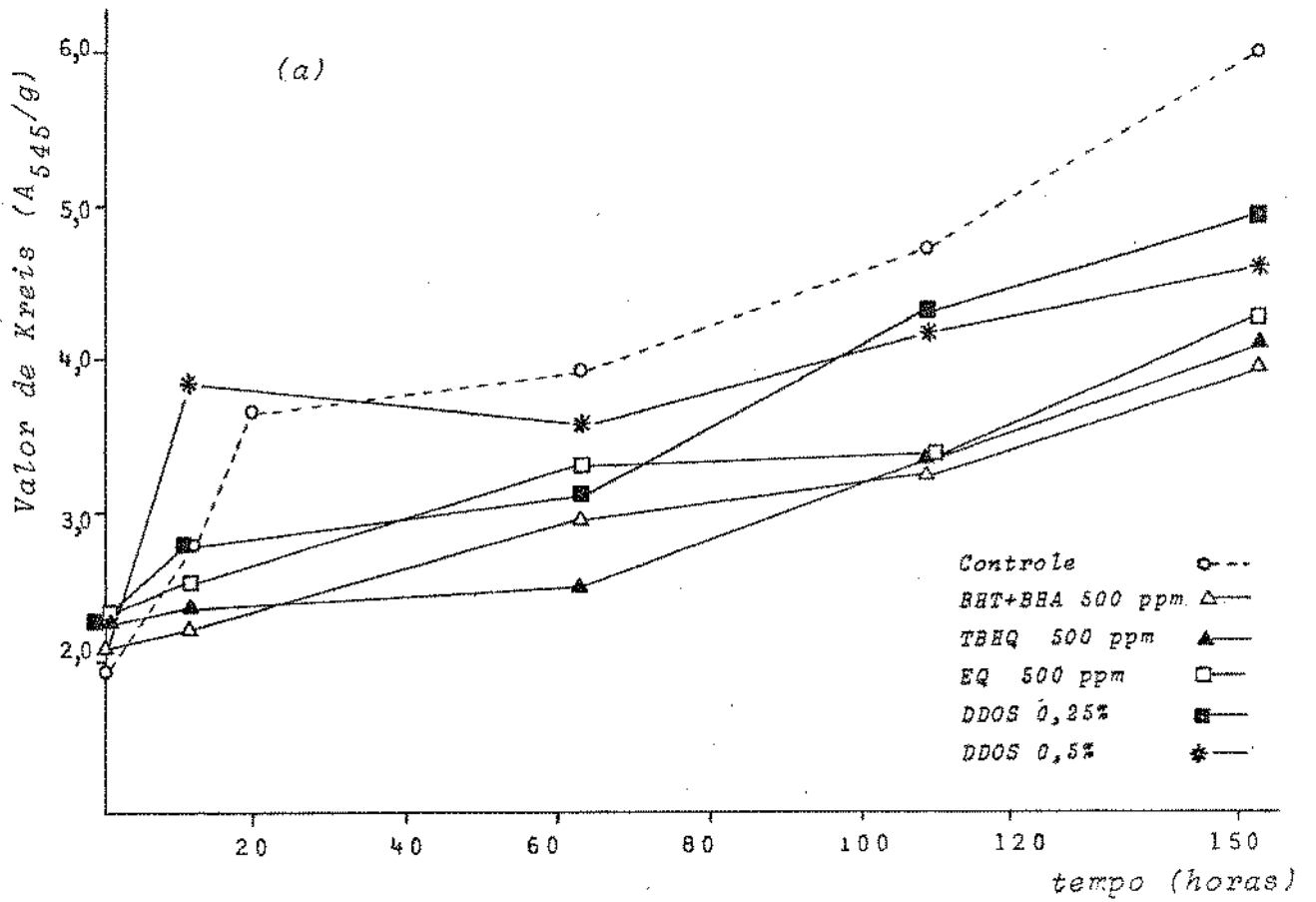


FIGURA 21. MUDANÇAS NO VALOR DE KREIS NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)

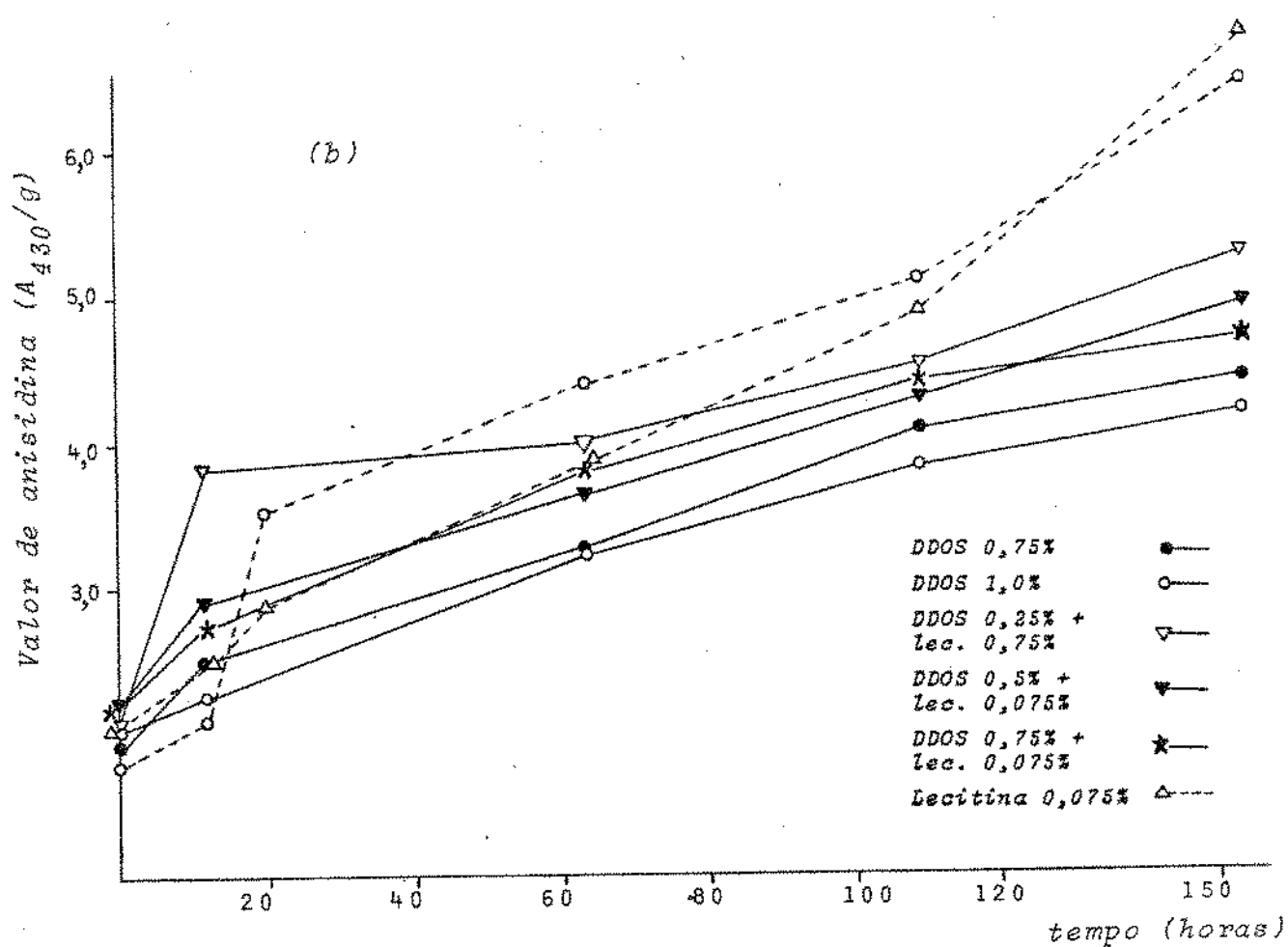
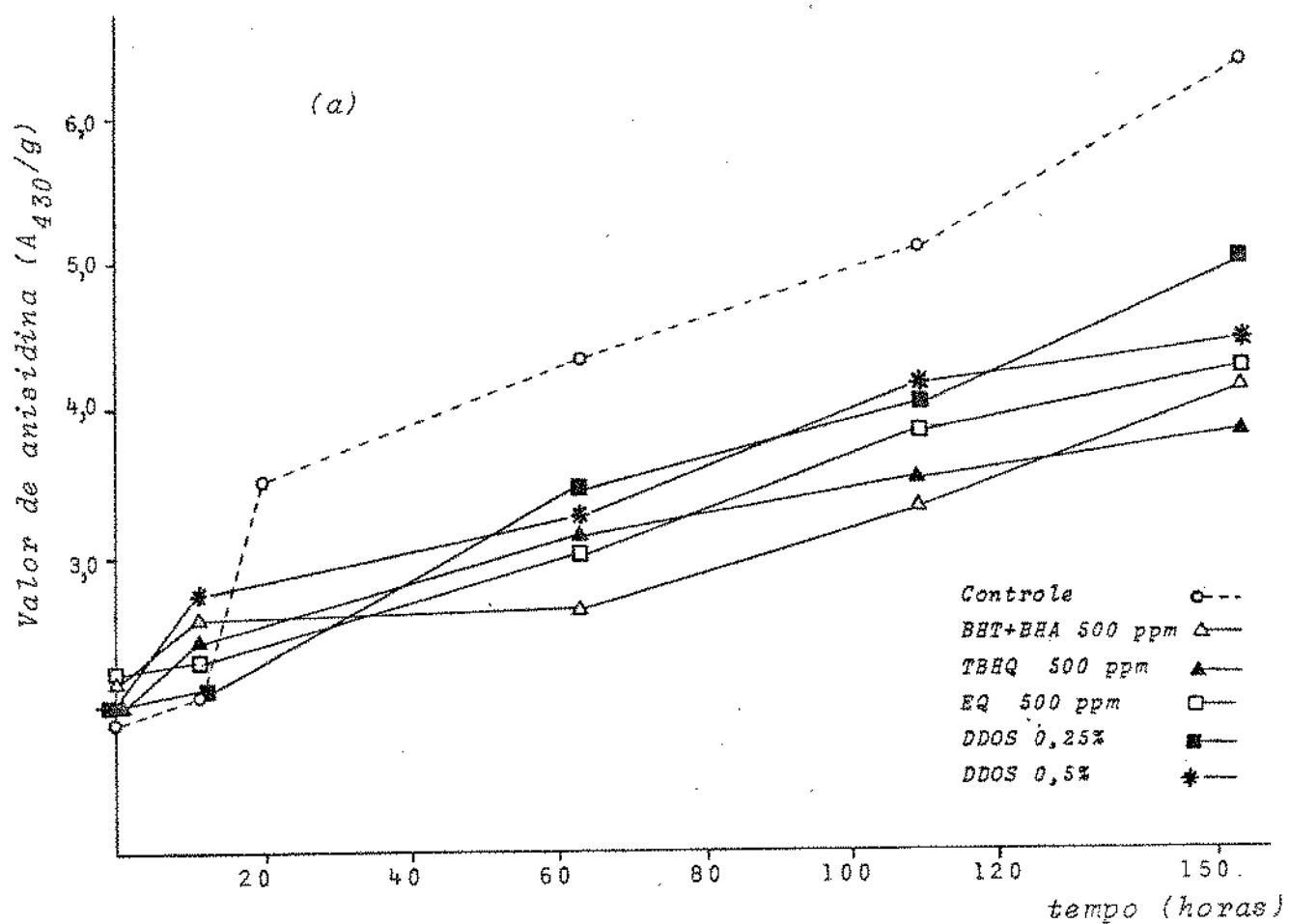


FIGURA 22. MUDANÇAS NO VALOR DE ANISIDINA NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)

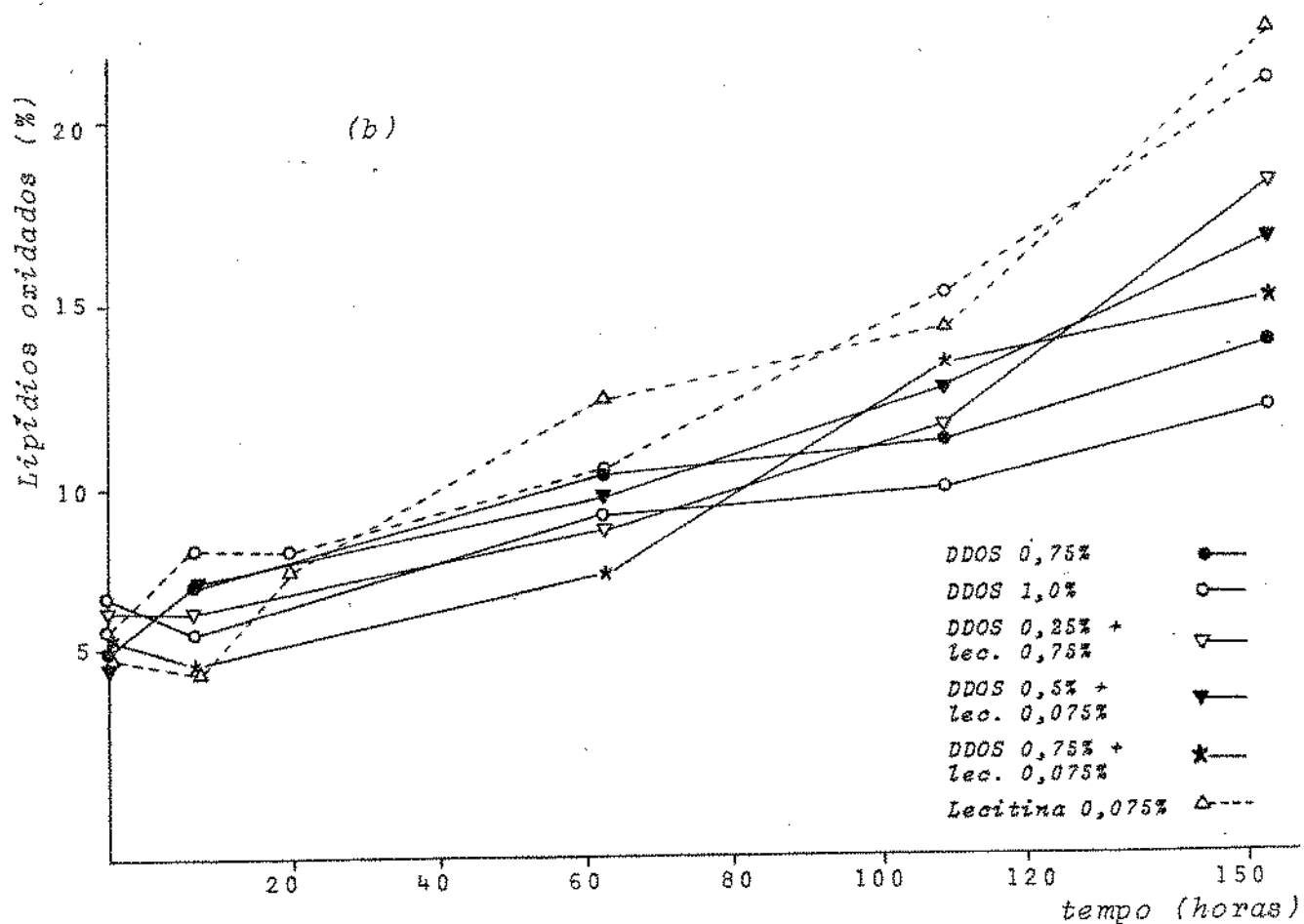
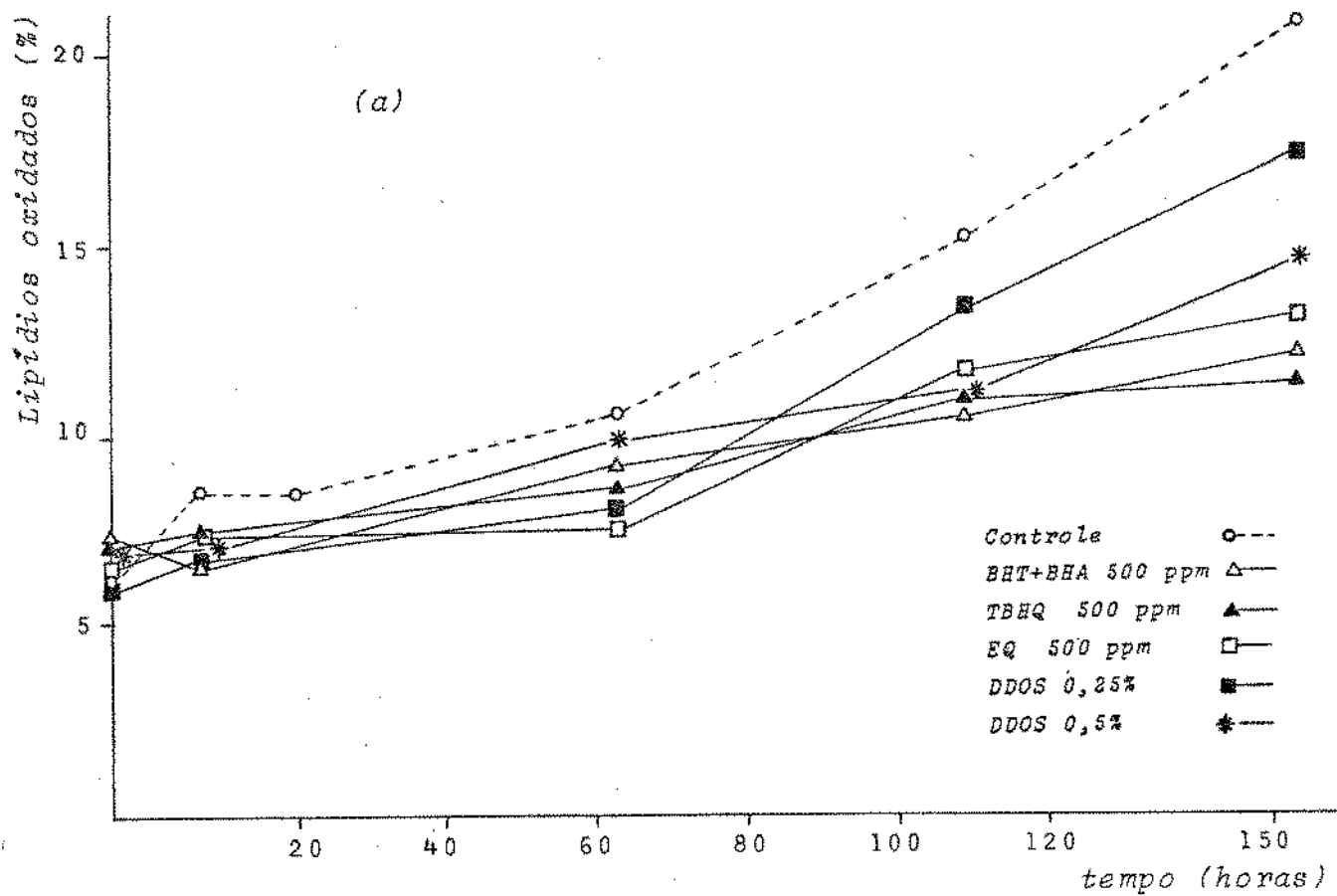


FIGURA 23. MUDANÇAS NOS LIPÍDIOS OXIDADOS NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM ESTUFA (50°C)

quantidades significativas de material oxidado não extraível com éter no início de um teste de estocagem de farinha de arenque. Os resultados mostraram que o controle A e o tratamento L apresentaram os maiores valores de lipídios oxidados. A adição de DDOS foi favorável e sua eficiência foi maior no nível mais elevado. O tratamento F foi eficiente e os tratamentos G e H comparáveis aos obtidos com o uso de antioxidantes sintéticos. Os tratamentos com adição de DDOS e lecitina apresentaram teores maiores de lipídios oxidados. O fato de adicionar lecitina (fosfolipídios) causou um acréscimo inicial do material insolúvel em heptano, e como consequência, resultou em um aumento artificial no valor dos lipídios oxidados.

4.6 EVOLUÇÃO NA COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS NA FARINHA DE SARDINHA NA ESTOCAGEM

Os resultados das composições em ácidos graxos dos lipídios da farinha de sardinha estocada em condições normais encontram-se no Quadro 14. De maneira geral, o processo oxidativo provocou profundas mudanças na composição em ácidos graxos. Os cromatogramas da farinha fresca e das armazenadas por 45 e 103 dias, acusaram pequenas quantidades de ácidos graxos de cadeia curta que no óleo de sardinha normalmente não aparecem (ver Quadro 4). Estes componentes, referidos como ácidos graxos leves, poderiam ser hidrocarbonetos pois ambos são produtos secundários da oxidação de lipídios. A respeito disso, TOKARSKA *et alli* (1986) acharam 34 compostos voláteis produto da oxidação de óleos e a maioria foram hidrocarbonetos, aldeídos e ácidos graxos de cadeia curta. As amostras armazenadas por 162 dias não apresentaram estes ácidos graxos, provavelmente porque estes volatilizaram-se ou participaram de rea-

QUADRO 14. EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DA FARINHA
DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA
EM CONDIÇÕES NORMAIS (%)

ÁCIDO GRAXO	Fari nha(0)	A(1)	A(2)	A(3)	D(1)	D(2)	E(1)	E(2)
C 9:0	+	+	+	0,0	+	+	+	+
C10:0	+	+	+	0,0	+	+	+	+
C11:0	+	+	+	0,0	+	+	+	0,4
C12:0	+	+	+	0,0	+	+	+	0,0
C13:1	0,0	0,3	0,8	0,0	0,8	0,4	0,0	1,0
C14:0	3,9	5,1	7,9	10,4	4,9	5,3	5,9	6,6
C14:1	0,5	0,5	1,3	1,6	0,7	0,7	0,7	0,9
C15:0	1,7	1,3	2,0	3,1	1,4	1,3	1,4	1,8
C16:0	16,2	23,5	26,1	28,0	18,1	20,3	19,0	22,8
C16:1	3,8	4,6	6,7	8,4	4,6	5,1	5,2	5,7
C17:0	2,2	3,6	3,7	4,6	2,5	2,4	2,5	1,6
C16:2	1,3	3,2	2,0	2,6	1,0	1,4	1,4	2,8
C18:0	4,9	7,7	7,9	9,0	5,8	6,1	5,6	7,3
C18:1	7,8	8,0	10,9	13,3	9,1	8,8	9,2	10,1
C18:2 n-6	6,5	3,2	2,8	3,7	5,4	3,4	4,4	5,0
C18:3 n-3	2,5	3,6	2,0	1,9	2,2	1,5	1,9	1,7
C18:4 n-6	2,1	2,0	1,7	2,4	1,3	1,8	0,1	2,1
C20:0	0,0	0,5	2,1	1,3	1,7	0,0	0,0	2,0
C20:1	4,0	6,4	4,1	2,1	3,0	3,4	3,8	0,0
C20:2 n-6		3,2	1,8	0,8	2,4	2,1	2,2	2,2
C20:3 n-3	4,3	4,4	3,6	0,5	4,2	3,9	4,1	3,8
C20:5 n-3	13,8	8,8	6,1	4,2	12,5	11,4	12,1	12,5
C22:4 n-6	3,2	0,7	0,0	0,0	1,8	3,2	3,7	2,3
C22:5 n-3	4,2	0,6	0,1	+	4,2	4,7	3,4	0,0
C22:6 n-3	14,8	8,7	6,1	2,2	12,3	12,7	11,5	9,6

+ = traços

Tempo de estocagem: (0) início, (1) 45 dias, (2) 103 dias e

(3) 162 dias

continua...

QUADRO 14. EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DA FARINHA
DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA
EM CONDIÇÕES NORMAIS (%)

ÁCIDO GRAXO	F(2)	F(3)	H(1)	H(2)	J(1)	J(2)	K(2)	K(3)
C 9:0	+	0,0	+	+	+	+	+	0,0
C10:0	+	0,0	+	+	+	+	+	0,0
C11:0	+	0,0	+	+	+	+	+	0,0
C12:0	+	0,0	+	+	+	+	+	0,0
C13:1	0,5	0,0	0,4	0,2	0,0	0,3	0,5	0,0
C14:0	5,6	9,2	4,7	5,0	6,2	6,6	5,9	9,9
C14:1	0,8	2,5	0,7	0,6	0,7	0,2	0,6	1,5
C15:0	1,5	3,5	1,2	1,3	1,5	1,5	1,5	2,5
C16:0	19,9	24,7	16,4	18,1	20,6	21,8	21,9	25,9
C16:1	5,4	7,8	4,1	4,8	5,2	6,0	5,9	8,2
C17:0	2,4	2,2	2,3	2,2	2,7	2,9	2,5	2,4
C16:2	1,5	4,0	1,4	1,3	1,4	2,0	1,4	3,5
C18:0	6,3	8,0	5,1	5,5	6,3	7,4	6,1	8,9
C18:1	9,5	12,9	8,8	9,8	10,3	12,2	12,1	13,0
C18:2 n-6	5,7	7,4	6,9	7,2	5,9	6,1	6,8	6,6
C18:3 n-3	2,1	2,0	2,4	2,3	2,0	1,9	2,1	1,8
C18:4 n-6	2,1	1,3	1,8	1,7	1,7	1,7	1,6	2,2
C20:0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2
C20:1	3,9	0,9	4,1	3,9	3,7	3,9	3,5	1,5
C20:2 n-6	2,2	+	2,4	2,2	2,1	1,3	1,9	0,6
C20:3 n-3	4,1	0,5	4,6	4,0	3,6	3,3	3,5	0,7
C20:5 n-3	11,6	5,0	13,3	11,8	11,1	9,8	10,7	4,4
C22:4 n-6	2,6	0,1	1,3	2,8	2,2	1,1	0,7	0,1
C22:5 n-3	3,2	0,4	3,5	4,0	3,0	1,8	0,6	0,3
C22:6 n-3	9,1	6,9	14,7	11,4	9,7	8,2	9,3	4,9

+ = traços

Tempo de estocagem: (0) início, (1) 45 dias, (2) 103 dias e
(3) 162 dias

ções complexas com proteínas ou com outros componentes da farinha. Os ácidos graxos saturados (AGS) que mais mudaram foram C14:0, C16:0 e C18:0; entre os ácidos graxos monoinsaturados (AGM), C16:1 e C18:1 e entre os ácidos graxos polinsaturados (AGP), C20:5 e C22:6.

A ação antioxidante foi claramente percebida nas variações destes ácidos graxos como pode-se notar na Figura 24; assim o tratamento H (DDOS 1%) mostrou menor queda no teor de C20:5 e C22:6, paralelamente menor acréscimo de C16:0 e C18:0; os tratamentos D (EQ 500 ppm) e F (DDOS 0,5%) também protegeram os AGP, se bem que menos eficientemente que o tratamento H. A adição de lecitina prejudicou a ação antioxidante do DDOS. Pode-se notar que os acréscimos percentuais de C14:0, C16:0 e C18:0 foram maiores em J e K, entretanto as percentagens de C20:5 e C22:6 foram mais altas em F. É conveniente salientar que, indistintamente do tratamento, os elementos mais característicos foram o acréscimo de C16:0 e a diminuição de C20:5 e C22:6. HEISS (1973) e WAISSBLUTH et alii (1970) acharam um comportamento semelhante na mudança dos ácidos graxos no óleo da farinha de anchoveta em estudos de oxidação acelerada. Os autores registraram variações nos ácidos C16:0, C20:5 e C22:6, coincidindo com o obtido no presente estudo apesar de ter trabalhado com espécies diferentes. Além disso, HEISS (1973) achou quantidades significativas de C20:5 e C22:6 em farinhas completamente ranças. A presença de AGP em farinhas altamente oxidadas e ranças poderia-se explicar porque no peixe, segundo MALINS (1967), a esterificação dos AGP (especialmente C20:5 e C22:6) ocorre preferentemente na posição 2 do glicerol. Tem sido publicado que esta disposição diminui a velocidade da oxidação quando comparada com as posições 1 e 3 (RAGHUVeer e HAMMOND, 1967; citados por HARDY, 1980). No presente estudo também permaneceram quantidades ainda signifi-

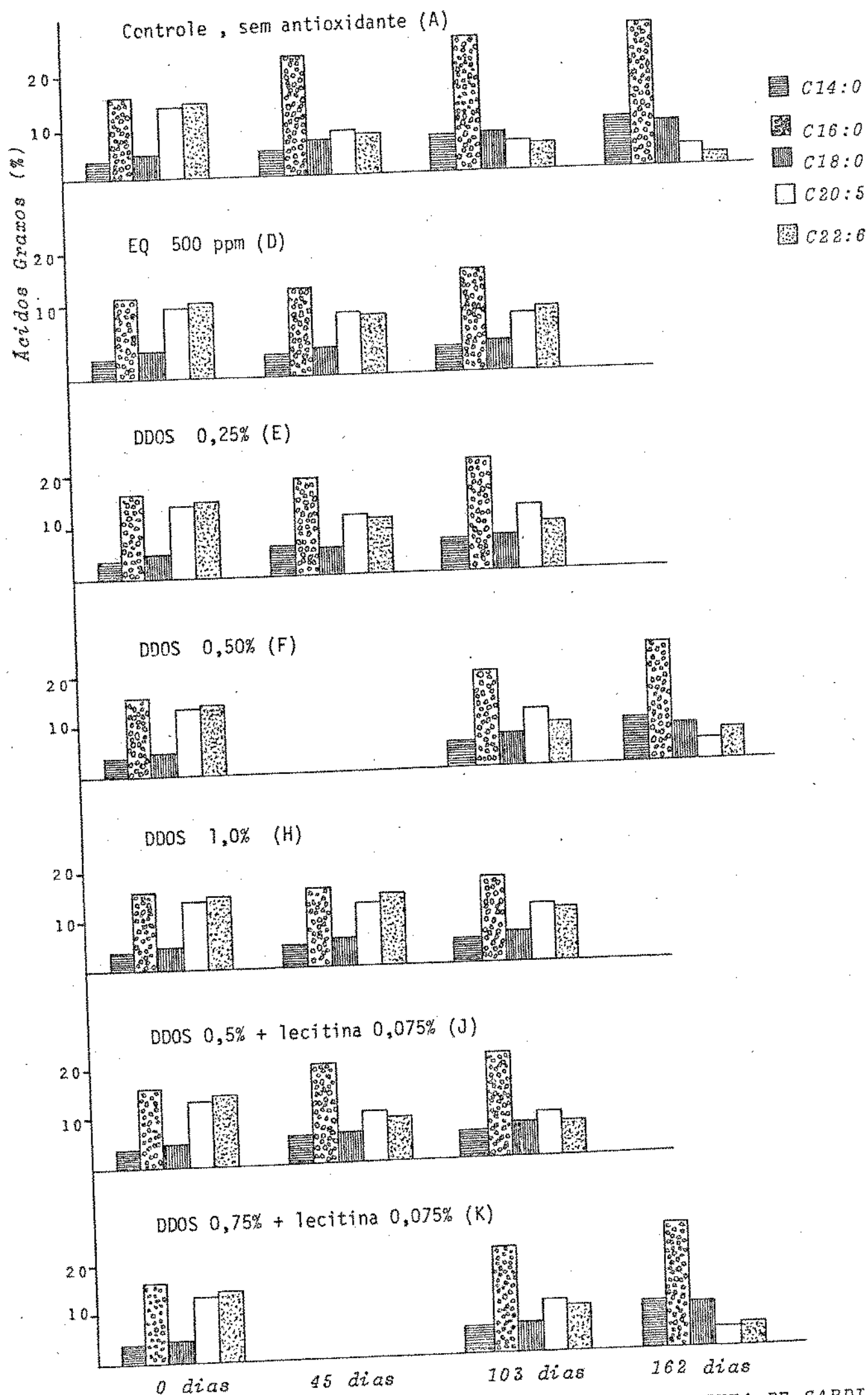


FIGURA 24. MUDANÇAS NOS PRINCIPAIS AGS e AGP NA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

cativas de C20:5 e C22:6, em todos os tratamentos e no controle A após 162 dias de estocagem.

No Quadro 15, apresenta-se um arranjo dos ácidos graxos agrupando-os por classe de ácidos para os diversos tratamentos ; além de apresentaram-se outros índices importantes. Nas Fig. 25 (a) e (b) pode-se observar que com este remanejamento a ação dos antioxidantes adquire maior nitidez . No controle A apreciou-se uma forte queda dos AGP e um acréscimo dos AGS e AGM, simultaneamente na estocagem. Os tratamentos apresentaram uma queda menor dos AGP associada a uma menor produção de AGS e AGM . Assim confirma-se que o melhor tratamento foi o H (DDOS 1,0%) seguido de D (EQ 500 ppm) e F (DDOS 0,5%). Por outro lado, comparando os tratamentos E (DDOS 0,25%), J (DDOS 0,5% + lecitina 0,075%) e K (DDOS 0,75%+ lecitina 0,075%) pode-se apreciar que E e K foram equivalentes em sua ação protetora. Considerando que as quantidades de DDOS adicionadas em E e K são diferentes (1 a 3) pode-se concluir mais uma vez que a lecitina provocou um bloqueio da ação antioxidante do DDOS diminuindo seu efeito protetor.

Na Figura 26, mostram-se as variações da relação P/S no tempo. Pode-se apreciar que o quociente P/S torna mais marcante as variações na composição em ácidos graxos que os valores de AGP e AGS considerados individualmente . É interessante notar que a relação P/S aos 45 dias é semelhante nos tratamentos D, E e J . Estes são muito superiores ao controle A e por sua vez inferiores a H . O tratamento F (DDOD 0,75%) mostrou uma efetividade similar à exibida por D (EQ 500 ppm).

A relação n-6/n-3 não apresentou uma correlação direta ou indireta com as mudanças dos ácidos graxos , individuais ou em grupo pelo qual pode-se dizer que não tem importância na avaliação da oxidação da farinha de sardinha.

QUADRO 15. GRUPOS DE ÁCIDOS GRAXOS (%) E ÍNDICES MAIS IMPORTANTES NA OXIDAÇÃO DA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

TRATAMENTO	GRUPO DE ÁCIDOS GRAXOS					ÍNDICES	
	AGS	AGM	AGP	AGP n-6	AGP n-3	P/S	n-3/n-6
Farinha (0)	28,9	16,1	54,9	14,0	39,6	1,90	0,35
A(1)	41,7	19,8	38,4	9,1	26,1	0,92	0,35
A(2)	49,7	23,8	26,2	6,3	17,9	0,53	0,35
A(3)	56,4	25,4	18,3	6,9	8,8	0,32	0,78
D(1)	34,4	18,2	47,3	10,9	35,4	1,38	0,31
D(2)	35,4	18,4	46,1	10,5	34,2	1,30	0,31
E(1)	34,4	18,9	46,5	12,1	33,0	1,35	0,37
E(2)	42,1	17,7	40,0	9,6	27,6	0,95	0,35
F(2)	35,7	20,1	44,2	12,6	30,1	1,24	0,42
F(3)	48,2	24,1	27,6	8,8	14,8	0,57	0,60
H(1)	30,1	18,1	52,3	12,4	38,5	1,74	0,32
H(2)	32,1	19,3	48,7	13,9	33,5	1,52	0,42
J(1)	37,3	19,9	42,7	11,9	29,4	1,15	0,41
J(2)	40,2	22,6	37,2	10,2	25,0	0,93	0,41
K(2)	37,9	22,6	39,6	11,0	27,2	1,05	0,40
K(3)	50,8	24,2	25,1	9,5	12,1	0,49	0,79

Tempo de estocagem: (0) início, (1) 45 dias, (2) 103 dias e (3) 162 dias

AGS = Σ ácidos graxos saturados

AGM = Σ ácidos graxos monoinsaturados

AGP = Σ ácidos graxos polinsaturados

AGP n-6 = Σ ácidos graxos polinsaturados n-6

AGP n-3 = Σ ácidos graxos polinsaturados n-3

P/S = Σ ác. gr. polinsaturados / Σ ác. gr. saturados

n-6/n-3 = Σ ác. gr. polinsat.n-6 / Σ ác. gr. polinsat. n-3

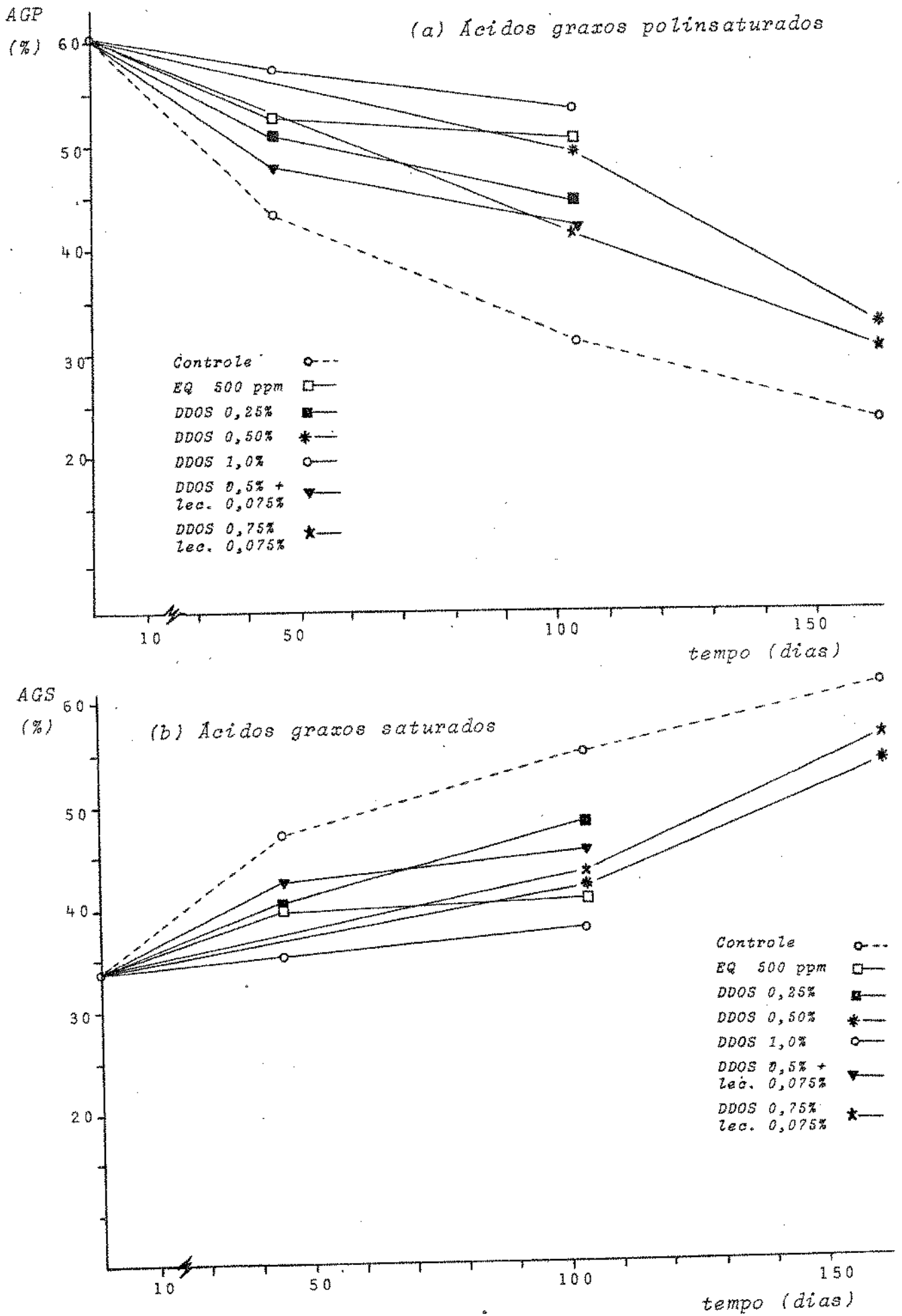


FIGURA 25. MUDANÇAS NOS ÁCIDOS GRAXOS DA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

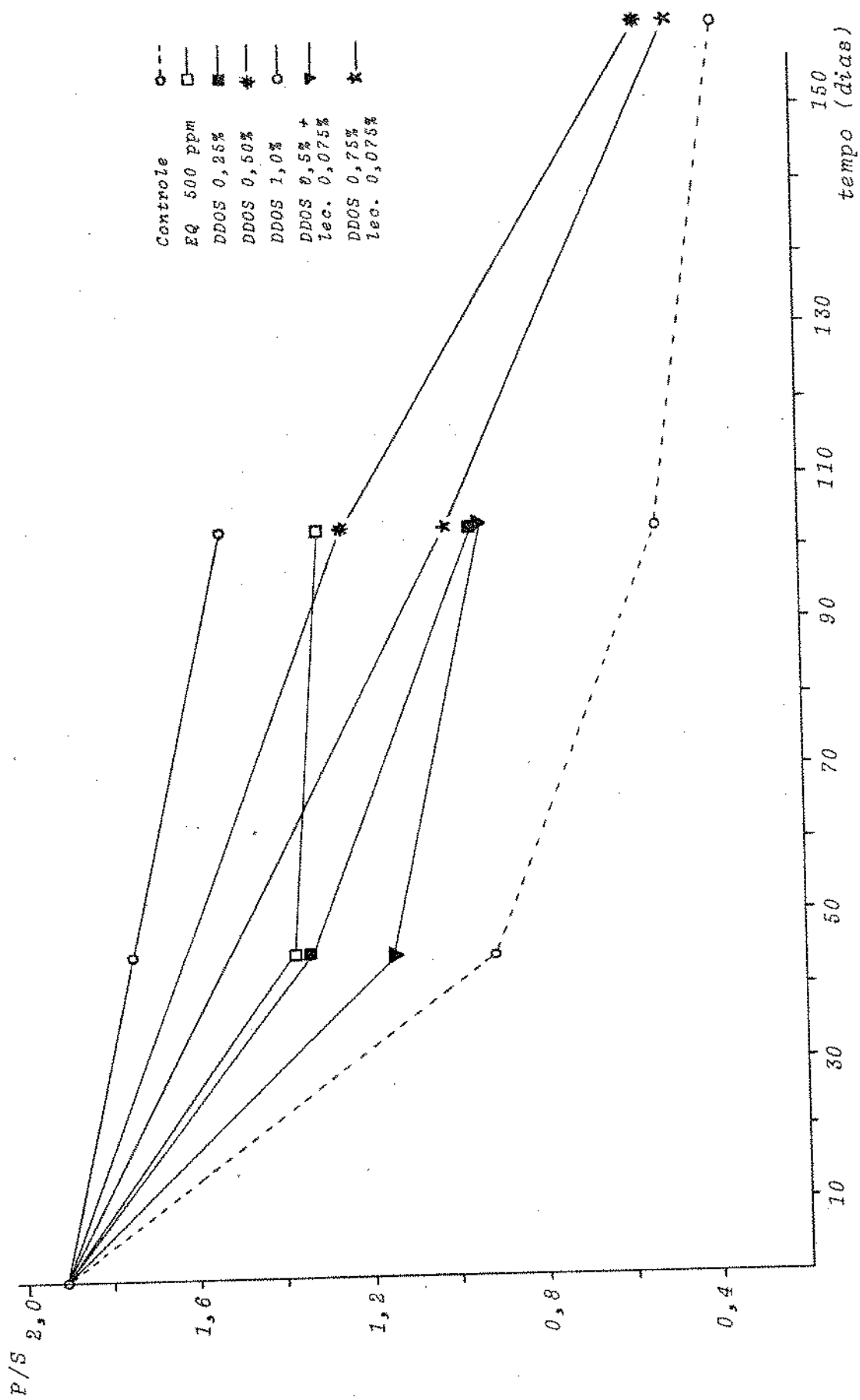


FIGURA 26. VARIAÇÕES NO ÍNDICE P/S DA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

4.7 PERDAS DE TOCOFERÓIS TOTAIS NA FARINHA DE SARDINHA ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

Durante a estocagem, o processo oxidativo do óleo da farinha de pescado resulta na formação de peróxidos e radicais livres que ao reagir com os tocoferóis, diminuem a sua concentração. Estas perdas de tocoferóis totais apreciam-se no Quadro 16 e na Figura 27.

QUADRO 16. PERDAS DE TOCOFERÓIS TOTAIS NA ESTOCAGEM DA
FARINHA DE SARDINHA ADICIONADA DE DDOS *
(mg/kg)

Tratamen to	Tempo de estocagem (dias)			
	0	48	105	157
A	29 (100)	08 (27,6)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)
E	258 (100)	125 (48,5)	72 (27,8)	34 (13,1)
F	513 (100)	324 (63,2)	169 (32,9)	58 (11,3)
G	745 (100)	491 (65,9)	246 (33,0)	98 (13,2)
H	1032 (100)	737 (71,4)	392 (38,0)	135 (13,1)
I	249 (100)	106 (42,6)	53 (21,3)	0,0 (0,0)
J	521 (100)	289 (55,5)	117 (22,5)	23 (4,4)
K	762 (100)	422 (55,4)	191 (25,1)	57 (7,5)

* As cifras entre parêntese estão em percentagem

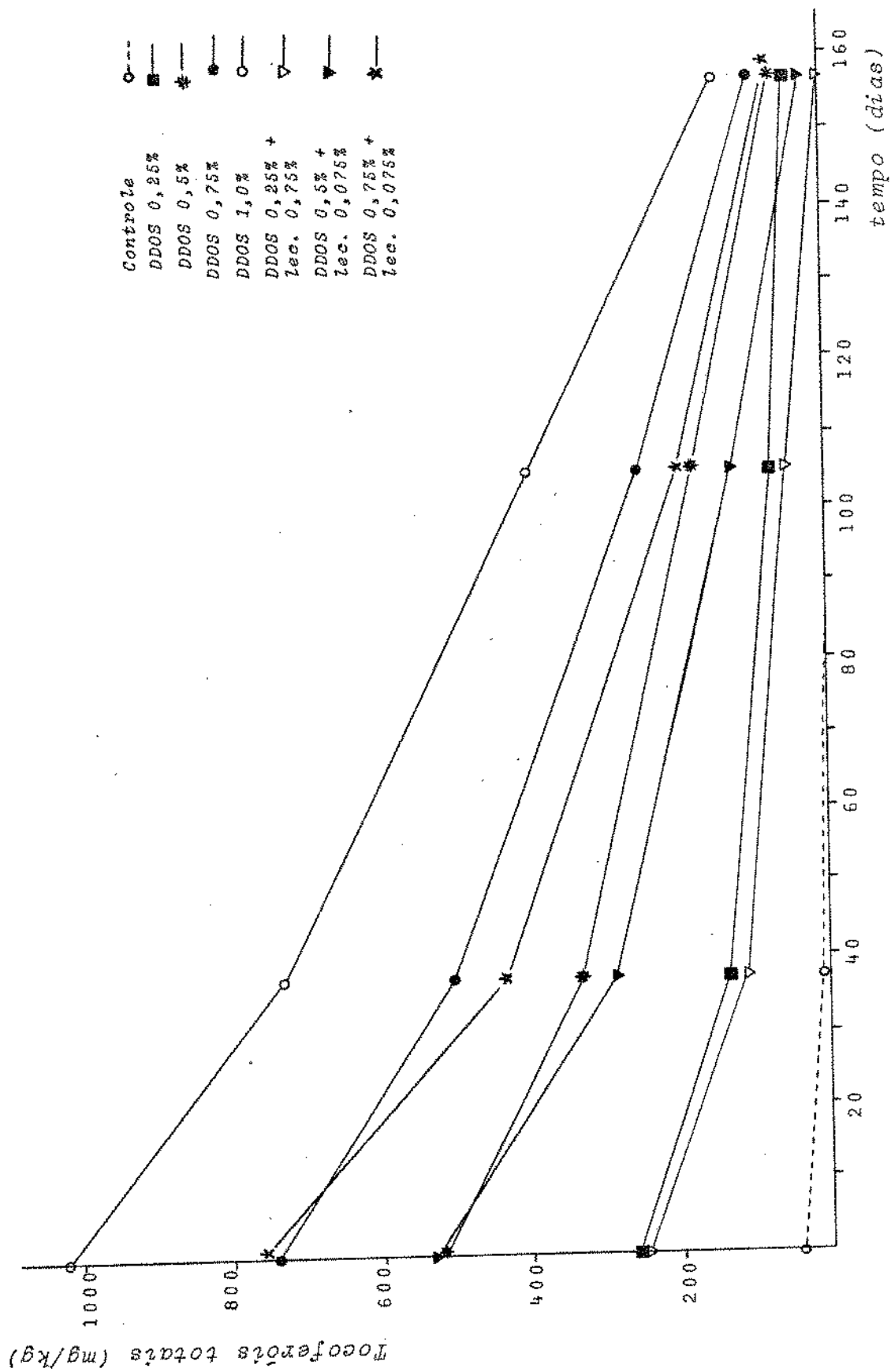


FIGURA 27. TOCOFERÓIS TOTAIS REMANESCENTES NA PARINHA DE SARDINHA ADICIONADA DE DDOS E ESTOCADA EM CONDIÇÕES NORMAIS

Pode-se observar que as perdas iniciais (48 dias) foram menos severas quando a quantidade de DDOS adicionada foi maior. A inclinação das curvas na Figura 28 mostrou que a perda nos primeiros 100 dias ocorreu de forma aproximadamente linear com o tempo. Após esse período, a velocidade de perda diminuiu com tendência à estabilização. Provavelmente o substrato oxidável (AGP) tenha diminuído demais ou então alguns produtos de natureza antioxidante se acumularam (dímeros dos tocoferóis ou produtos da reação de Maillard) economizando o consumo de tocoferóis. O teor de tocoferóis remanescentes foi maior a maiores níveis de adição de DDOS. KANE-MATSU et alli (1983) reportaram os mesmos resultados trabalhando com uma mistura natural de tocoferóis em óleos comestíveis. É interessante salientar que com exceção dos tratamentos I, J e K, que quase esgotaram os tocoferóis, os outros 4 tratamentos mantiveram após 150 dias em torno de 12% dos tocoferóis iniciais.

POKORNÝ et alli (1973), GERTIG e DUDA (1978) e KAJIMOTO e YOSHIDA (1971), acharam que a destruição dos tocoferóis em óleo de soja aconteceu como consequência de sua interação com os peróxidos e a formação de oligômeros dos tocoferóis. Além disso, POKORNÝ et alli (1973) relataram que a diminuição dos tocoferóis foi quase que proporcional ao tempo de reação ou estocagem. As curvas das perdas de tocoferóis neste trabalho foram semelhantes às obtidas pelos autores antes citados.

Aparentemente, a lecitina induziu a oxidação dos tocoferóis daí que a análise química detectou quantidades ligeiramente menores destes compostos quando comparadas com as amostras sem lecitina. YUKI et alli (1978) determinaram que a adição de lecitina em um sistema de α -, γ - e δ -tocoferol em parafina líquida impediu a oxidação térmica dos tocoferóis a altas temperaturas (150°-180°C).

YUKI et ali (1980) acharam também que a adição de lecitina comercial de soja inibiu a oxidação térmica dos tocoferóis. O diferente resultado obtido no presente estudo poderia ser creditado à presença de lipídios altamente insaturados (C20:5 e C22:6) da farinha de sardinha, complexidade do produto e às diferentes condições do teste.

4.8 ABSORÇÃO DE OXIGÊNIO DA FARINHA DE SARDINHA

A medição da absorção de oxigênio no aparelho de Warburg foi incluída como um teste auxiliar a fim de confirmar se a reatividade da farinha era diminuída pela adição do DDOS. Um abaixamento da reatividade (consumo de oxigênio) implicaria uma peroxidação menos acelerada na estocagem.

Os resultados de absorção de oxigênio estão no Quadro 17 e na Figura 28. Pode-se notar que o controle A e o tratamento L mostraram uma velocidade de absorção muito alta. Os outros tratamentos se diferenciaram bem entre eles, sendo que absorções menores foram os do tratamento H seguido de G, C, D e B. A resistência à absorção de oxigênio manifestou a potência dos antioxidantes usados, pode-se afirmar que a adição de 1% (H) e 0,75% (G) de DDOS foram um tanto superiores aos antioxidantes sintéticos C, D e B (500 ppm). A adição de 0,5% de DDOS todavia causou uma redução significativa no consumo de oxigênio. De um modo geral, a adição de lecitina e DDOS (tratamentos I, J e K) favoreceu a absorção de oxigênio porém o aumento da percentagem do DDOS se manifestou claramente. A respeito disso, ACOSTA et ali (1966) citados por LABUZA (1971), acharam uma anormal absorção de oxigênio no Warburg pelos tecidos do frango e afirmaram que isto foi consequência da alta taxa de absorção pelos fosfolipídios presentes nesses tecidos. KANEDA (1970) mencionou que os fosfolipídios de animais aquáticos consu-

QUADRO 17. EVOLUÇÃO DA ABSORÇÃO DE OXIGÊNIO, A 60°C, DA FARINHA DE SARDINHA
TRATADA COM ANTIOXIDANTES ($\mu\text{L/g/h}$)

Tempo (min)	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	5,6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5,7
2	8,7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10,1
3	19,7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	22,5
4	54,3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	62,8
5	109,6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	126,2
10	-	1,6	1,6	1,6	2,4	1,8	1,2	1,2	2,2	2,4	1,8	-
30	-	9,7	9,9	9,8	9,9	9,6	8,6	7,2	16,3	9,8	9,7	-
40	-	15,7	15,8	15,8	17,3	15,6	14,8	12,4	28,7	16,1	15,8	-
50	-	22,4	22,4	22,7	35,5	23,2	22,0	17,4	56,6	31,8	27,8	-
55	-	27,9	28,0	28,1	50,5	29,4	27,2	22,4	97,2	76,5	36,4	-
60	-	31,8	33,5	29,8	76,8	36,7	28,8	26,0	162,4	136,2	47,9	-
65	-	38,1	39,3	37,4	140,3	50,5	34,6	30,2	-	-	70,9	-
70	-	48,4	48,6	46,8	-	64,2	42,0	34,6	-	-	118,3	-
75	-	59,4	56,3	54,6	-	100,3	48,2	43,3	-	-	-	-
80	-	80,3	72,3	74,1	-	146,8	64,0	53,5	-	-	-	-
85	-	122,4	106,1	110,4	-	-	86,1	66,4	-	-	-	-
90	-	-	-	-	-	-	106,8	87,6	-	-	-	-

+ = traços

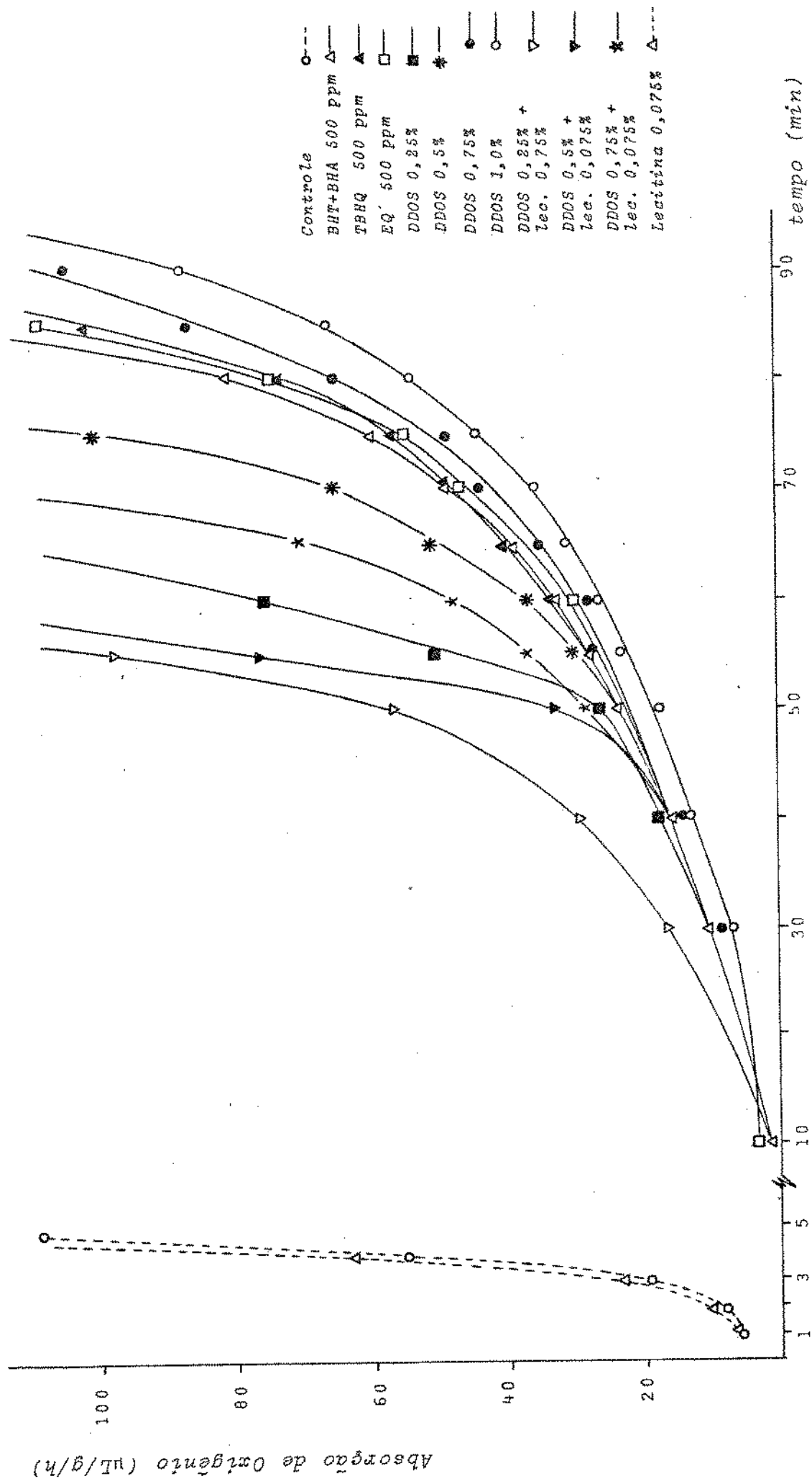


FIGURA 28. EVOLUÇÃO DA ABSORÇÃO DE OXIGÊNIO A 60°C DA FARINHA DE SARDINHA TRATADA COM ANTIOXIDANTES

mem mais oxigênio que os triglicerídios. Este fenômeno poderia ter acontecido nos tratamentos adicionados de lecitina, além de que a temperatura de 60°C do teste pode ter acelerado ainda mais a absorção.

WAISSBLUTH et alli (1971) e HEISS (1973), afirmaram que a absorção de oxigênio pela farinha de anchoveta esteve em relação direta com a desapareição dos AGP. Igualmente, estes autores acharam que o consumo de oxigênio foi dependente da temperatura, teor de umidade, tamanho da partícula e tempo de reação.

Este teste de absorção de oxigênio sirviu para confirmar que o DDOS possui atividade antioxidante, a qual inibe o consumo de oxigênio pela farinha de sardinha. Este efeito é inclusive um tanto superior à obtida com antioxidantes sintéticos.

4.9 COMPARAÇÃO ENTRE AS ANÁLISES DE AVALIAÇÃO DA OXIDAÇÃO

Dos resultados indicados e discutidos nos itens 4.5, 4.6, 4.7 e 4.8, pode-se fazer uma discussão global das mudanças aconteci das nos diversos tratamentos da farinha de sardinha neste estudo.

A adição do DDOS na farinha atuou como antioxidante retardando a oxidação. Isto confirma o mencionado por SEINO et alli (1971) os quais reportaram a efetividade do DDOS como antioxidante em óleos e o relatado por TOYAMA e SHIMAZU (1972) na proteção de produtos marinhos por uma mistura natural de tocoferóis. O efeito protetor do DDOS foi maior quanto maior foi a quantidade adicionada, sendo que os níveis mais adequados ficaram acima de 0,5% de DDOS. Estes exibiram um efeito antioxidante maior ou comparável aos obtidos com os antioxidantes sintéticos usados (BHT+BHA, TBHQ e EQ). A níveis de 0,25% de DDOS o efeito foi fraco embora muito superior ao controle sem antioxidante (A).

A adição de lecitina foi prejudicial na ação do DDOS diminuindo seu poder antioxidante, isto indica que não se precisaria adicionar lecitina juntamente com o DDOS. As conclusões acima mencionadas se apoiam principalmente nas análises do índice de iodo, composição em ácidos graxos e absorção de oxigênio, que foram os testes mais demonstrativos. Assim as mudanças do índice de iodo correlacionaram-se bem com as mudanças respectivas na composição em ácidos graxos, o que permitiria afirmar-se que o índice de iodo reflete diretamente o progresso da oxidação na farinha de sardinha. A respeito disso, LEA (1962) afirmou que o índice de iodo foi provavelmente um excelente indicador da oxidação, ou da oxidação mais polimerização, que ocorreu na farinha de arenque; enquanto que o índice de peróxidos, valor de TBA e número de acidez, têm pouco ou nenhum significado. COCKS e REDE (1973) e PEARSON (1973) assinalam que a validade e confiabilidade do teste de Kreis são duvidosas.

Os resultados obtidos no índice de peróxidos, valor de TBA e valor de Kreis, foram menos nítidas e flutuaram no decorrer das amostragens não fornecendo critérios para conclusões seguras.

As curvas de absorção de oxigênio da farinha proporcionaram uma idéia mais clara das diferenças entre os diversos tratamentos do experimento. Este teste teve correlação direta com as mudanças apresentadas na composição em ácidos graxos, sendo de muita utilidade na avaliação dos antioxidantes usados. THOMPSON e SHERWIN (1966) e SHERWIN et alli (1970), revisaram metodologias de avaliação da efetividade de antioxidantes em óleos vegetais e concluíram que o índice de peróxidos e o teste de TBA apresentaram dificuldades na interpretação da estabilidade quando comparado com o teste de absorção de oxigênio. DAHLE et alli (1962), citados por LABUZA (1971), acharam que a absorção de oxigênio forneceu uma me

dida direta da rancidez e o teste de TBA foi uma medida empírica.

As análises do índice de AGL, valor de anisidina e lipídios oxidados foram sensíveis para registrar as mudanças da oxidação na farinha de sardinha, mostrando assim uma correlação razoável com a oxidação, embora foram necessárias mais experiências para confirmar sua utilidade.

V. CONCLUSÕES

1. O DDOS exibiu forte ação antioxidante na farinha de sardinha retardando sua oxidação e rancidez.
2. A ação protetora de DDOS esteve em relação direta com a concentração adicionada.
3. Os níveis entre 0,5%-0,75% de DDOS apresentaram atividade semelhante aos antioxidantes sintéticos (BHT, BHA, TBHQ e EQ), enquanto que a percentagem de 1,0% foi definitivamente superior.
4. Os testes mais demonstrativos da efetividade do DDOS na farinha foram o índice de iodo, a absorção de oxigênio e a composição em ácidos graxos.
5. As determinações de índice de AGL, valor de anisidina e lipídios oxidados mostraram ser sensíveis as mudanças na oxidação da farinha, mas ainda precisam-se de maiores experiências para confirmar sua utilidade.
6. Observaram-se variações drásticas da composição em ácidos graxos nos diversos tratamentos da farinha na estocagem. Os ácidos graxos mais afetados foram C14:0, C16:0, C18:0, C20:5 e C22:6.
7. A perda de tocoferóis totais apresentou uma queda quase linear ao longo de 162 dias de estocagem, sendo que os tratamentos F, G e H mantiveram mais de um terço da quantidade inicial.
8. Não foram detectados peróxidos após 70 dias de estocagem em condições normais, entretanto após 7 dias de estocagem em estufa a 60°C os conteúdos de peróxidos se mantiveram relativamente altos em todos os tratamentos.

VI. BIBLIOGRAFIA

- ACKMAN, R.G. (1974) Marine Lipids and Fatty Acids in Human Nutrition. In: KREUZER, R., ed. Fishery Products. London, Fishing News Books Ltd. p. 112-131.
- ANDERSEN, A.J.C. (1965) Refinación de Aceites y Grasas Comestibles. México, D.F.: Comp. Edit. Continental, S.A. 335 p.
- ARAKAKI, J.; PIZARDI, C. e BRICEÑO, O. (1986) Efectos de la Ingesta de Aceite de Pescado en el Colesterol del Suero e Hígado de Ratas Albinas. Anales Científicos. Universidad Nacional Agraria-La Molina, Lima, Perú. Não publicado.
- ARNESEN, E.; SÁNCHEZ, J. e LAM, R. (1962) Nuevos Embalajes para Protección y Conservación Eficiente de la Calidad de la Harina de Anchoveta (I). Informe N°6, IMARPE, Callao, Perú.
- ARNESEN, E.; SÁNCHEZ, J. e LAM, R. (1963) Nuevos Embalajes para Protección y Conservación Eficiente de la Calidad de la Harina de Anchoveta (II). Informe N°16, IMARPE, Callao, Perú.
- ASAKAWA, T. e MATSUSHITA, S. (1978) Colorimetric Determination of Peroxides Value with Potassium Iodide-Silica Gel Reagent. J. Am. Oil Chem. Soc., 55(8) 619-620.
- ASAKAWA, T. e MATSUSHITA, S. (1979) Thiobarbituric Acid Test for Detecting Lipid Peroxidation. Lipids, 14(4) 401-404.
- BARATTA, L.E.S. e CONTRERAS, E. (1986) Determinação da Vitamina E e Tocoferóis por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). Anais do V Congresso Latino-Americano de Cromatografia. Rio de Janeiro.
- BERNARDINI, E. (1981) Tecnología de Grasas y Aceites. Madrid, Ed.

Alhambra, S.A. 449 p.

BLIGH, E.G. e DYER, W.J. (1959) A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. Can. J. Biochem. Physiol., 37:911-917.

BLOEMEN, F. (1975) Considérations sur les Économie de Vapeur, Réalisables dans la Désodorisation et la Distillation Neutralisante des Corps Gras. Revue Franç. Corps Gras., 22(10) 537-542.

BRODY, J. (1965) Fishery By-Products. Connecticut, The AVI Publ. Co. 232 p.

BURGEOIS, C.F. (1981) Propriétés Antioxygènes des Tocophérols et du Palmitate d'ascorbyle dans les Matières Grasses. Revue Franç. Corps Gras, 28(9) 353-356.

BURGESS, G.; CUTTING, C.; LOVERN, J e WATTERMANN, J. (1967). Fish Handling and Processing. New York, Chemical Publ. Co. Inc. 390 p.

COCKS, C.V. e REDE, C. van (1973) Laboratory Handbook for Oil and Fats. London, Academic Press. 2^a ed. 419 p.

CONTRERAS, E. (1969) Función de los Solubles de Pescado Durante el Secado de la Harina de Anchoveta. Informe Técnico s/n, Instituto de Fomento Pesquero, Santiago, Chile. 14 p.

CONTRERAS, E. (1972) Studies in Anchovy (*Engraulis mordax*) Utilization. Tese M.S., University of California, Davis, USA 153 p.

CONTRERAS, E. e NEVES, L. (1974) Empleo Industrial de Óleo de Pescado. Revista Nacional de Pesca, Nº 138. p. 23-28.

CONTRERAS, E. e STRONG, F.C. III (1982) Determination of Total Tocopherols in Grains, Grain Products and Commercial

Oils, with Only Slight Saponification , and by a New Reaction with Cupric Ion. J. Agric. Food Chem., 30(6) 1109-1112.

CONTRERAS,E. e BARATTA,L.S. (1984) Recuperação da Vitamina E dos Resíduos da Indústria de Óleos Vegetais . Relatório Técnico Nº 1, FUNCAMP.

CSALLAMY,A.S.; CHIU,M. e DROPER,H.H. (1970) Oxidation Products of α -Tocopherol Formed in Autoxidizing Methyl Linoleate. Lipids, 5(1) 63-70.

CHAN,H.W.-S.; COXON,D.T.; PEERS,K.E. e PRICE,K.R. (1982) Oxidative Reactions of Unsaturated Lipids. Food Chemistry, 9 (1/2) 21-34.

CHANG,S.S. (1967) Processing of Fish Oils. In : STANSBY,M.E., ed. Fish Oils. Connecticut, The AVI Publ. Co.,Inc. p. 206-221.

CHEFTEL,J.-C. e CHEFTEL,H. (1976) Introduction a la Biochimie et a la Technologie des Aliments. Paris, Technique et Documentation. Volume 1. 381 p.

DUGAN Jr.,Le Roy (1976) Lipids. In:FENNEMA,O.R.,ed. Principles of Food Science. New York,Marcel Dekker,Inc. p. 138-204.

DZIEDZIC,S.Z. e HUDSON,B.J.F. (1984) Phosphatidyl Ethanolamine as a Synergyst for Primary Antioxidants in Edible Oils. J. Am. Oil Chem. Soc., 61(6) 1042-1045.

El-LAKANY,S.M.H.(1973) Storage Changes in Natural and Model Lipid-protein Systems. Diss. Abstr. Intern., B33(12,Part 1).

FAO (1980) Las Grasas y Aceites en la Nutrición Humana. Colección FAO: Alimentación y Nutrición, Nº20. Roma. 108 p.

FEDELI, E. (1983) Recupero e Valorizzazzione degli Scarti dell'industrie degli oli, grassi e derivati. Riv. Ital. Sost.

Grasse, 60(12) 731-736.

FEDELI, E. e GASPAROLI, A. (1977) Composizione dei Destillati Industriali di Deodorazione. Riv. Ital. Sost. Grasse, 54(12) 494-501.

FEETER, D.K. (1974) Determination of Tocopherols, Sterols and Steryl Esters in Vegetable Oil Distillates and Residues. J. Am. Oil Chem. Soc., 51(4) 184-187.

FERNÁNDEZ, J.C. (1978) Hidrogenação do Óleo de Sardinha (*S. brasiliensis*) para a obtenção de Produtos Comestíveis. Tese de Mestre em Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, SP. 74 p.

FRANKEL, E.N. (1984) Lipid Oxidation: Mechanisms, Products and Biological Significance. J. Am. Oil Chem. Soc., 61(12), 1908-1917.

FUJITANI, T. e ANDO, H. (1981) Oxidative Dimerization of Tocopherols During the Course of Thermal Oxidation of Saturated and Unsaturated Triglycerides. I. Oxidative Dimerization of γ -tocopherol under AOM conditions. J. Japan Oil Chem. Soc., 30(3) 145-150.

GAVIN, A.M. (1981) Deodorization and Finished Oil Handling. J. Am. Oil Chem. Soc., 58(3) 175-184.

GERTIG, H. e DUDA, G. (1978) Effect of Thermal Processes on the Content of Tocopherols in Rapeseed Oil. Przemysł Spożywczy, 32(10) 378-379.

GRAMS, G.W. e INGLET, G.E. (1972) Sensitized Photooxidation of α -tocopherol and of 2,2,5,7,8-Pentamethyl-6-Chromanol in Ethyl Acetate. Lipids, 7(7) 442-444.

GUNSTONE, F.D. (1967) An Introduction to the Chemistry and Biochemistry of Fatty Acids and their Glycerides. London,

Chapman & Hall Ltd, 29 ed. 209 p.

- GUTFINGER, T e LETAN, A. (1974) Quantative Changes in Some Unsaponifiable Components of Soybean Oil due to Refining. J. Sc. Food Agric., 25(9) 1143-1147.
- GRUGER Jr., E. (1967) Fatty Acid Composition. In: STANSBY, M.E., ed. Fish Oils, Connecticut, The AVI Publ. Co., Inc. p. 3-30.
- HARDY, R. (1980) Fish Lipids, Part 2. In: CONNELL, J.J., ed. Advances in Fish Science and Technology. London, Fishing News Books Ltd. p. 103-110.
- HARTMAN, L. e LAGO, R.C.A. (1973) Rapid Preparation of Fatty Acid Methyl Esters from Lipids. Laboratory Practice, 22(8) 475-476, 494.
- HEISS, J. (1973) Generación de Calor y Factores Controlantes en la Oxidación de Lípidos en la Harina de Pescado. Tese de Ing. Civil Químico, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile. 117 p.
- HELME, J.P. (1975) Some Considerations on Decomposition Products - during Processing of Edible and Unsaponifiable Components. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 17(3) 155-159.
- HELME, J.P. (1980) Influence des Techniques sur la Qualité des Produits Alimentaires dans l'industrie des Corps Gras. Oléagineux, 35(2) 93-103.
- HILDEBRAND, D.H.; TERAOKA, J. e KITO, M. (1984) Phospholipids plus Tocopherols Increase Soybean Oil Stability. J. Am. Oil Chem. Soc., 61(3) 552-555.
- HORWITZ, W. (1980) Official Methods Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.; Published by A.O.A.C. 139 ed. 1018 p.

- HUDSON, B.J.F. e GHAVAMI, M. (1984a) Stabilizing Factors in Soybean Oil-Natural Components with Antioxidant Activity. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 17(2) 82-85.
- HUDSON, B.J.F. e GHAVAMI, M. (1984b) Phospholipids as Antioxidant Synergists for Tocopherols in the Autoxidation of Edible Oils. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 17(4) 191-194.
- HUNTER, J.E. (1981) Nutritional Consequence of Processing Soybean Oil. J. Am. Oil Chem. Soc., 58(3) 282-285.
- ISHIKAWA, Y. (1982) Effects of Amino Compounds on the Formation of γ -Tocopherol Reducing Dimers in Autoxidizing Linoleate. J. Am. Oil Chem. Soc., 59(12) 505-512.
- ISHIKAWA, Y. e YUKI, E. (1975) Reaction Products from Various Tocopherols with Trimethylamine Oxide and their Antioxidative Activities. Agric. Biol. Chem., 39(4) 851-857.
- ISHIKAWA, Y.; YUKI, E.; KATO, H. e FUJIMAKI, M. (1978) Synergistic Effect of Trimethylamine Oxide on the Inhibition of the Autoxidation of Methyl Linoleate by δ -Tocopherol. Agric. Biol. Chem., 42(4) 703-709.
- ISHIKAWA, Y.; SUGIYAMA, K. e NAKABAYASHI, K. (1984) Stabilization of Tocopherol by Three Components Synergism Involving Tocopherol, Phospholipid and Amino Compound. J. Am. Oil Chem. Soc., 61(5) 950-954.
- ITO, Y.; SANCHES, L. e DA SILVA, D.R. (1967) Seasonal Variation of the Chemical Composition of Sardine (*Sardinella aurita*). Inst. Oceanográfico da USP. Publicação N°262. 8p.
- JAWAD, I.M.; KOCHLAR, J.-P. e HUDSON, B.J.F. (1984) The Physical Refining of Edible Oils. 2. Effect on Unsaponifiable Components. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie; 17

(3) 155-159.

JULLIET, M.T. von (1974) Vergleich der Vitamin und Antioxidans-Wirkung der verschiedenen Tocopherole bei den wichtigsten. Fette, Seifen und Anstrichmittel, 76(2) 101-105.

JIROUSOVA, J. (1974) Determination of the Anisidine Value of Oxidized Fats and Oils. Prumysl Potravin, 25(6) 187-189.

KAJIMOTO, G. e YOSHIDA, H. (1971) Studies on the Decomposition of Tocopherol and Oxidation Products of Edible Oils. J. Japan Oil Chem. Soc., 20(9) 555-559.

KANEDA, T. (1970) A Symposium on Oxidation of Marine Animal Lipids. Bull. Japan. Soc. Scient. Fish., 36(8) 865-875.

KANEMATSU, H.; USHIGUSA, T.; MARUYAMA, T.; NIIYA, I.; FUMOTO, D.; TOYODA, T.; KAWAGUCHI, Y. e MATSUMOTO, T. (1983) Comparison of Tocopherol Contents in Crude and Refined Edible Vegetable Oils and Fats by HPLC. J. Japan Oil Chem. Soc. 32(2) 122-126.

KARAALI, A. (1985) The Effects of Refining on the Chemical Composition of Turkish Sunflower Seed Oil. Fette, Seifen und Anstrichmittel, 87(3) 112-117.

KARRICK, N.L. (1963) Fish Meal Quality. In: STANSBY, M.E., ed. Industrial Fishery Technology. New York, Reinhold Pub. Co. p. 253-259.

KEHSE, W. (1976) Lavage des Éluats et Récupération des Destillats en Désodorisation. Revue Franç. Corps Gras, 23(9) 493-496.

KERSHAW, S.J. (1986) Comparison of Two Standard Methods for Determination of Free Fatty Acids Content in Oils Extracted from Oilseeds and Vegetable Oils. J. Sc. Food Agr.

37(3) 267-272.

- KIFER, R.; PAYNE, W.; BAUERSFELD, P. e AMBROSE, M. (1968) The nutritive Value of Peruvian Anchovy Fish Meal Evaluation By Chemical Methods. Feedstuffs, 40(35) 32-33.
- KHAYAT, A. e SCHALL, D. (1983) Lipid Oxidation in Seafood. Food Technology, 37(7) 130-140.
- KOKUGI, H. e KIKUGAWA, K. (1986) Reaction of Thiobarbituric Acid - with Saturated Aldehydes. Lipids, 21(9) 537-542.
- KONING, A.J. de; EVANS, A.; HEYDENRYCH, C.; PURCELL, C. e WESSELS, J.P. (1985) A Critical Investigation of a Number of Different Methods of Lipid Determination in Fish Meal, with Particular Emphasis on Corrections Required in these Determinations. J. Sc. Food Agric., 36(3) 177-185.
- KROLL, J. e ROLOFF, M. (1974) On the Formation of Peroxides, Carbonyls and Free Fatty Acids and on the Degradation of D L- α -tocopherol During Autoclaving and Storage of Fat ty Foods. Nahrung, 18(4) 451-460.
- LABUZA, T.P. (1971) Kinetics of Lipid Oxidation in Foods. CRC Critical Reviews in Food Technology, 2(3) 355-405.
- LEA, C.H. (1962) The Oxidation Deterioration of Food Lipids. In: SCHULTZ, H.W., ed. Lipids and their Oxidation: Connecticut, The AVI Publ. Co., Inc. p. 3-28.
- LEE, Ch. (1963) Processing of Fish Meal and Oil. In: STANSBY, M.E., ed. Industrial Fishery Technology. New York, Reinhold Publ. Corporation. p. 219-235.
- LEE, J.-H.; FUJIMOTO, K. e KANADA, T. (1983) Peroxide-decomposing of Antarctic Krill Lipids and Certain Other Oils. Agric. Biol. Chem., 47(9) 2001-2007.

- LEITE,J.; ZAIDEN,C.A. e VIANNA,M.B. (1971) Variação Sazonal da --
Composição Química da Sardinha Verdadeira (*Sardinella aurita*). Instituto de Pesquisas da Marinha, RJ. Trabalho Nº 53. 19 p.
- LIEBING,H. von; LAU,J. e KARWIESE,R.(1983) Abwasser-Reinhaltung -
bei Deso-Anlagen durch 2stufige Fettsauremischkonden-
sation mit Gewinnung einer tocopherolangereicherten -
Fraktion. Fette, Seifen und Anstrichmittel,85(7)289.
- LOURY,M. (1970) L'Évolution des Vitamines dans la Technologie des
Huiles et Corps Gras Alimentaires. Annales de la Nu-
trition et de L'Alimentation, 24(2) B227-B246.
- LUDWICKI,J.; TAYEB,I.B. e DILLON,J.-C. (1986) Losses of Tocophe-
rols and Carotenes at Various Steps of the Refining Pro-
cess of Vegetable Oil. Sciences des Aliments,6(2) 287
-299.
- MALINS,D.C. (1967) Classes of Lipids in Fish. In: STANSBY,M.E.,ed.
Fish Oils. Connecticut, The AVI Pub. Co.,Inc.p. 31-42.
- MARCH,B.E.; BIELY,J.; GOUDIE,C.; CLAGETT,F. e TARR,H.L.A. (1961)
The Effect of Storage Temperature and Antioxidant Tre-
atment on the Chemical and Nutritive Characteristics
of Herring Meal. J. Am. Oil Chem. Soc., 38(2) 80-84.
- MAR'IN,G.N. (1970) The Effect of Antioxidants on the Quality of -
Stored Fish Meat Fat. Rybnoe Khozyaistvo,46(3) 62-64.
- MATTIL,K.F. (1964) Deodorization. In: SWERN,D.,ed. Bailey's Indus-
trial Oil and Fats Products. New York, John Wiley &
Sons,Inc. 3ª ed. p. 897-930.
- MEHLENBACHER,V.G. (1970) Análisis de Grasas y Aceites. Bilbao,Ed.
Urmo. 482 p.

- MELLO, R.A. (1986) Efeito de Dietas Lipídicas sobre a Atase Mitochondrial e a Composição de Ácidos Graxos de Lipídeos do Soro e de Mitocôndrias Hepáticas e Encefálicas de Ratos Normais e Tireoidectomizados. Tese de Doutor - em Ciências, Inst. Biologia, UNICAMP. Campinas. 117 p.
- MIYASAWA, T.; YAMAUCHI, M.; LEE, J.-H.; FUJIMOTO, K. e KANEDA, T. (1984) Decomposition of Lipid Hydroperoxide by Choline and E-thanolamine. Agr. Biol. Chem., 48(5) 1375-1377.
- MIYASHITA, K.; FUJIMOTO, K. e KANEDA, T. (1984) Structural Studies of Polar Dimers in autoxidized Methyl Linoleate during the Initial Stages of Autoxidation. Agr. Biol. Chem., 48(10) 2511-2515.
- MIYASHITA, K. e TOKAGI, T. (1986) Study on the Oxidative Rate and Prooxidant Activity of Free Fatty Acids. J. Am. Oil Chem. Soc., 63(10) 1380-1384.
- NAKAMURA, T. (1986) Prostaglandin-Like Substances Formed During Autoxidation of Methyl Linolenate. Lipids, 21(9) 553-557.
- NEFF, W.E.; FRANKEL, E.N. e WEISLEDER, D. (1982) Photosensitized Oxidation of Methyl Linolenate. Secondary Products. Lipids, 17(11) 780-790.
- NELSON, J.P. e MILUN, A.J. (1968) Gas Chromatographic Determination of Tocopherols and Sterols in Soya Sludges and Residues. J. Am. Oil Chem. Soc., 45 (12) 848-851.
- NOGALA-KALUCKA, M von; GOGOLENSKI, M. e LUCZŃSKI, A. (1986) Die Gehaltsänderungen der Tocochromanole Während der Raffination und Hartung von Soja-, Raps- und Palmöl. Fette Seifen und Anstrichmittel, 88(5) 184-186.
- OLCOTT, H.S. (1962) Marine Products. In: SCHULTZ, H.W.; DAY, E.A. e SINNHUBER, R.O., eds. Lipids and their Oxidation. Con-

necticut, The AVI Publ. Co., Inc. p. 173-189.

OLCOTT, H.S. (1967) Antioxidants. In: STANSBY, M.E., ed. Fish Oils.

Connecticut, The AVI Publ. Co., Inc. p. 56-65.

PAQUETTE, G.; KUPRANYCZ, D.B. e VOORT, F.R. van de (1985) The Mechanisms of Lipid Autoxidation. I. Primary Oxidation Products. Can. Inst. Food Sc. and Techn. J., 18(2) 1-8.

PAQUOT, C. (1979) Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. Part 1. IUPAC. Oxford, Pergamon Press Ltd. Sixth edition. 170 p.

PEARSON, D. (1973) Laboratory Techniques in Food Analysis. New York, John Wiley. 315 p.

PEARSON, D. (1974) The Assessment of Rancidity of Oils on a Common Chloroform Extract with Especial Reference to TBA Values. J. Assoc. Publ. Analysts, 12(9) 73-76.

PEARSON, A.M.; GRAY, J.I.; WOLZAK, A.M. e HORENSTEIN, N.A. (1983) Safety Implications of Oxidized Lipids in Muscle Foods. Food Technology, 37(7) 121-129.

PIGOTT, G.M. (1967) Production of Fish Oil. In: STANSBY, M.E., ed. Fish Oils, Connecticut, The AVI Publ. Co., Inc. p. 206-221.

PIKUL, J.; LESZCZYNSKI, D.E. e KUMMEROW, F.A. (1983) Elimination of Sample Autoxidation by Butylated Hydroxytoluene Additions before Thiobarbituric Acid Assay for Malonaldehyde in Fat from Chicken Meat. J. Agr. Food Chem., 31(6) 1338-1342.

POKORNÝ, J.; KUNDU, M.K.; LUÂN, N.-T. e JANÍČEK, G. (1973) Altération des Tocophérols pendant les Processus Technologiques et le Stockage des Huiles Végétales. Oléagineux, 28(8/9) 409-412.

- POKORNÝ, J.; VALENTOVÁ, H. e DAVIDEK, J. (1985) Modified Determination of 2-Thiobarbituric Acid Value in Fats and Oils. Nahrung, 29(1) 31-38.
- PONGRACZ, G. von (1984) γ -Tocopherol als natürliches Antioxidants. Fette, Seifen und Anstrichmittel, 86(12) 455-460.
- PORTER, N.A.; WEBER, B.A.; WEENEN, H. e KHAN, J.A. (1980) Autoxidation of Polyunsaturated Lipids. Factors Controlling the Stereochemistry of Product Hydroperoxides. J. Am. Chem. Soc., 102: 5597.
- PRYOR, W.A.; STANLEY, J.P. e BLAIN, E. (1976) Autoxidation of Polyunsaturated Fatty Acids. II. A Suggested Mechanism for the Formation of TBA-reactive Materials from Prostaglandin-like Endoperoxides. Lipids, 11(5) 370-379.
- REICHWALD, I. von (1976) Chemie der Fischlipide. Fette, Seifen und Anstrichmittel, 78(8) 328-333.
- SÁNCHEZ, J. e LAM, R. (1965) Estudio del Curado Progresivo de la Harina de Anchoveta Durante el Almacenamiento em Diver-sos Tipos de Envase. Boletín N°3, Vol 1, IMARPE; Callao, Perú. p. 103-132.
- SÁNCHEZ, J. (1967) The Fish Oil in South America. In: STANSBY, M.E., ed. Fish Oils, Connecticut, The AVI Publ. Co., Inc. p. 394-404.
- SEHER, A. von e IVANOV, St. A. (1973) Naturliche Antioxydantien I: Die antioxydative Wirkung der Tocotrienole. Fette, Seifen und Anstrichmittel, 75(10) 606-608.
- SEINO, H.; WATANABE, S. e ABE, Y. (1971) Studies on Antioxidative Compounds in the Deodorizer Sludge of Soybean Oil. J. Japan Oil Chem. Soc., 20(4) 218-223.

- SHERWIN, E.R. e LUCKADOO, B.M. (1970) Studies on Antioxidant Treatment of Crude Vegetable Oils. J. Am. Oil Chem. Soc., 47(1) 19-23.
- SINNHUBER, R.O. e YU, T.C. (1977) The Thiobarbituric Acid Reaction, An Objective Measure of the Oxidative Deterioration occurring in Fats and Oils. J. Japan Oil Chem. Soc., 26(5) 259-267.
- SLEETER, R.T. (1981) Effects of Processing on Quality of Soybean Oil. J. Am. Oil Chem. Soc., 58(3) 239-247.
- SPARRE, T. (1965) Fish Meal: Manufacture, Properties and Utilization. In: BORGSTROM, G., ed. Fish as Food, New York, Academic Press. Vol III. p. 411-430.
- STAGE, H. von (1985) Einfluß verschiedener Betriebsparameter bei der physikalischen Raffination von Speiseölen auf Qualität, Stabilität und Ausbente. Fette, Seifen und Anstrichmittel, 87(5) 532-540.
- STAHL, H.D. e SIMS, R.J. (1986) Tempeh Oil - Antioxidant (?). J. Am. Oil Chem. Soc., 63(4) 555-556.
- STANSBY, M.E. (1967) Misconceptions about Nutritional Properties of Fish Oils. In: STANSBY, M.E., ed. Fish Oils. Connecticut, The AVI Publ. Co., Inc. p. 283-288.
- TERAO, J. e MATSUSHITA, S. (1977) Geometrical Isomers of Monohydroperoxide Formed by Autoxidation of Methyl Linoleate. Agr. Biol. Chem., 41(12) 2401-2405.
- TERAO, J.; INOUE, T.; YAMAGATA, S.; MURAKAMI, H. e MATSUSHITA, S. (1984) Gas Chromatography Mass Spectrometric Analysis of Monohydroperoxide Isomers and their Secondary Oxidation Products of Methyl Linoleate and Methyl Linolenate. Agric. Biol.

Chem., 48(7) 1735-1743.

- THOMPSON, J.W. e SHERWIN, E.R. (1966) Investigations of Antioxidants for Polyunsaturated Edible Oils. J. Am. Oil Chem. Soc., 43(12) 683-686.
- TOGASHI, H.J.; HENICK, A.S. e KOCH, R.B. (1961) The Oxidation of Lipids in Thin Films. J. Food Sci., 26(2) 186-191.
- TOKARSKA, B.; HAERYSH, Z.J. e CLANDININ, M.T. (1986) Study of Effect of Antioxidants on Storage Stability of Canola Oil Using Gas Liquid Chromatography. Can. Inst. Food Sci. and Techn. J., 19(3) 130-133.
- UMBREIT, W.W. (1964) Manometric Techniques and Tissue Metabolism. Minneapolis, Burgess Publ., Co. 221 p.
- VICETTI, R. (1984) Variación Estacional de la Composición en Ácidos Grasos del Aceite de Sardina (*Sardinops sagax sagax*). Inst. Tecn. Pesquero, Callao, Perú. Boletín N°2 p. 16-23.
- WAISSBLUTH, M.; GUZMAN, L. e PLACHCO, F. (1971) Oxidation of Lipids in Fish Meal. J. Am. Oil Chem. Soc., 48(8) 420-424.
- WATSON, K.S. e MEIERHOEFER, C.H. (1976) Use or Disposal of By-Products and Spent Material from Vegetable Oil Processing Industry in the U.S. J. Am. Oil Chem. Soc., 53 (6) 437-442.
- WOERFEL, J.B. (1981) Processing and Utilization of By-Products from Soy Oil Processing. J. Am. Oil Chem. Soc., 58(3) 188-191
- YAMAUCHI, R.; KATO, K. e UENO, Y. (1981) Reaction of 8 α -Hidroperoxy Tocopherones with Ascorbic Acid. Agric. Biol. Chem., 45(12) 2855-2861.

- YANISHLIEVA, N. von; POPOV, A.; SEHER, A. e IVANOV, St. A. (1977) Natürliche Antioxidantien III. Zur Kinetik der antioxidativen Wirkung von α -Tocotrienol. Fette, Seifen und Anstrichmittel, 79(9) 357-360.
- YUKI, E.; MORIMOTO, K.; ISHIKAWA, Y. e NOGUCHI, H. (1978) Inhibition Effect of Lecithin on the Thermal Oxidation of Tocopherols. J. Japan Oil Chem. Soc., 27(7) 425-430.
- YUKI, E.; MORIMOTO, K. e ISHIKAWA, Y. (1980) Effect of Soybean Lecithin on the Thermal Oxidation of Tocopherol in Lard. J. Japan Oil Chem. Soc., 29(10) 764-766.
- 4 ZAITZEV, V.; KIZEVETTE, I.; LAGUNOV, L.; MAKAROVA, T.; MINDER, L. e PODSELANOV, V. (1969) Fish Curing and Processing. Moscow, MIR Publ. 722 p.

