

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

APROVEITAMENTO E CARACTERÍSTICAS
DA GORDURA CAVITÁRIA DO TAMBQUI,
Colossoma macropomum, Cuvier 1818.

FRANCISCO PEREIRA CASTELO
Médico Veterinário

Orientador:

Profa. Dra. DÉLIA RODRIGUES AMAYA

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos
e Agrícola da Universidade Estadual de Campinas, para
obtenção do título de mestre em Tecnologia de Alimentos.

- Área de Pescado -

C276a
2229/BC

- jan. / 1979 -

À minha mulher Ana Maria que datilografou os originais, organizou a citação bibliográfica e com muito carinho às minhas filhas Keila e Kelen, dedico este trabalho.

ÍNDICE GERAL

	página
RESUMO	5
SUMMARY	7
I - INTRODUÇÃO	9
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
II.1 - Biologia da espécie	14
II.2 - Tecnologia do óleo de pescado	16
II.2.1- Fluxograma do processo produtivo	16
II.3 - Classificação dos lipídeos	20
II.3.1- Origem dos ácidos graxos	22
II.3.2- Determinação dos ácidos por cromatografia de gás	28
II.4 - Determinações químicas e físico-químicas	32
II.4.1- Determinações de caráter físico	34
II.4.2- Determinações químicas	37
II.5 - Testes de estabilidade	41
III - MATERIAL E MÉTODOS	
III.1 - Material	45
III.2 - Métodos	49
IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO	
IV.1 - Índice de qualidade	55
IV.2 - Composição dos ácidos graxos	55
IV.3 - Teste de estabilidade	56
IV.4 - Testes sensoriais	58
QUADROS	62-73
FIGURAS	74-83
V - CONCLUSÕES	84
VI - AGRADECIMENTOS	85
VII - BIBLIOGRAFIA CITADA	86-90

ÍNDICE DE APRESENTAÇÃO DOS QUADROS

página

QUADRO 1 - Produção das principais espécies capturadas e desembarcadas em Manaus	62
QUADRO 2 - Importação de gordura e óleos comestíveis desembarcados no pôrto de Manaus	63
QUADRO 3 - Determinação da gordura muscular do tambaqui	63
QUADRO 4 - Características físico-químicas da gordura cavitária e muscular do tambaqui	64
QUADRO 5 - Comparação entre os logs. do tempo de retenção(tr) do padrão com os logs. do tr. da amostra dos ésteres metílicos da gordura cavitária do tambaqui	65
QUADRO 6 - Composição dos ácidos graxos da gordura cavitária do tambaqui nas diferentes épocas	66
QUADRO 7 - Composição percentual média dos ácidos graxos da gordura do tambaqui	67
QUADRO 8 - Determinações do valor de TBA no teste de estabilidade da gordura de tambaqui	68
QUADRO 9 - Determinações do índice de peroxido no teste de estabilidade da gordura de tambaqui	69
QUADRO 10- Determinações do índice de peroxido e TBA no óleo de soja e na gordura de tambaqui	70
QUADRO 11- Valores médios da preferência de provadores na avaliação da gordura de tambaqui imediatamente após a desodorização..	71
QUADRO 12- Valores médios da preferência de provadores na avaliação da gordura de tambaqui 94 dias após a desodorização.....	72
QUADRO 13- Valores médios de preferência quando a equipe de provadores foi analisada em dois grupos distintos	73

ÍNDICE DE APRESENTAÇÃO DE FIGURAS

	página
FIGURA I - Vista lateral do tambaqui pesando cerca de 15 kg	74
FIGURA II - Banda de tambaqui evidenciando a gordura cavitária após evisceração em exemplar pesando cerca de 16 kg ...	75
FIGURA III - Formação de ácidos graxos insaturados a partir de ácido palmítico	76
FIGURA IV - Esquema que evidencia a formação dos ácidos graxos típicos de pescado	77
FIGURA V - Esquema que evidencia a síntese do ácido araquidônico precursor de prostaglandinas	78
FIGURA VI - Esquema do aparelho de desodorização	79
FIGURA VII - Esquema empregado para retirar amostras	80
FIGURA VIII - Resultado do teste de estabilidade mostrando o valor de TBA na gordura de tambaqui	81
FIGURA IX - Resultado do teste de estabilidade mostrando o valor de peróxido na gordura de tambaqui	82
FIGURA X - Modelo da ficha empregada no teste de degustação	83

R E S U M O

O presente trabalho se refere a um estudo da gordura cavi-
tária do Collossoma macropomum, com relação às características físicas
e químicas e seu potencial como gordura de cozinha. Este peixe de á -
gua doce é conhecido na região amazônica com o nome de tambaqui.

As amostras foram coletadas em quatro épocas: julho e ou -
tubro de 1977 e fevereiro e abril de 1978. Na última amostra foi de -
terminado também o conteúdo de gordura muscular.

Várias determinações físicas e químicas foram efetuadas ,
dentre elas as mais significantes são:

Índice de acidez	0.14	-	2.16
Índice de Iodo	60.0	-	96.0
Ponto de fusão	27.5	-	45 °C

A baixa acidez indicou que poderíamos suprimir a etapa de
neutralização no processo de refinação da gordura. O baixo índice de
Iodo nos indica alta proporção de ácidos graxos saturados. A deter -
minação dos ácidos graxos por cromatografia gasosa constatou alto te -
or de ácidos graxos saturados (35.5 - 53.5%), que explica o estado se -
mi-sólido apresentado pela gordura.

As análises revelaram que a gordura do tambaqui se asseme -
lha mais à gordura e óleos vegetais e animais, do que óleos de peixe
de água salgada. Os ácidos graxos típicos de peixe de água do mar
eicosapentaenóico (C20:5) e docosahexaenóico (C22:6) não foram encon -
trados nas épocas estudadas.

O teste de estabilidade da gordura desodorizada foi acompanhado por desenvolvimento da rancidez. Esta foi medida pelo índice de peróxido e valor de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico). Os resultados indicaram a necessidade de adição de antioxidante para evitar a rápida oxidação da gordura. Os antioxidantes bitilato hidroxianisol (BHA) e propil galato (PG) usados na proporção de 0.01%, ambos foram satisfatórios para prevenir a oxidação durante o experimento.

Para testar a possibilidade de usar a gordura cavitária do tambaqui para cozinha, foi efetuado fritura de batatas em (1) gordura de tambaqui desodorizada e (2) em óleo de soja comercial que foram submetidos a análise sensorial com provadores treinados para degustar este tipo de produto. A preferência para batatas fritas em óleo de soja foi 35% dos provadores no primeiro teste e 40% no segundo teste que foi realizado 94 dias após a gordura ter sido estocada à temperatura ambiente. O restante dos provadores foram indiferentes à gordura usada na fritura das batatinhas.

Em uma escala de 1 a 10 pontos, sendo 1 "desgostei muitíssimo" e 10 "gostei muitíssimo", as médias dos provadores foram 5.2 e 5.5 no primeiro teste e 6.1 e 6.0 para o segundo teste da gordura contendo BHA e PG respectivamente. O grau recebido para as batatinhas fritas em óleo de soja foi a média de 7.2 e 6.8 nos dois testes.

Os resultados da análise de variância acusaram haver diferença significativa de sabor entre as batatas fritas na gordura de peixe e no óleo de soja nos dois testes efetuados, contudo não houve diferença significativa entre os dois tipos de antioxidantes empregados.

S U M M A R Y

The work reported here is a study of the peritoneal fat of the amazonian fish, Colossoma macropomum, known locally as "tambaqui", with respect to its physical and chemical characteristics and its potential use as a cooking fat.

Samples were taken at four different times during a period of a year -- June and October of 1977 and February and April of 1978. At the time of the last sampling, muscle fat was also sampled.

Various chemical and physical determinations were carried out, some of the most significant being:

Acid number	0.14	-	2.16
Iodine number	60.0	-	96.0
Melting point	27.5°	-	45°C

The low acidity indicates that the neutralization can be avoided in the purification of the fat, while the low iodine number shows the presence of a large quantity of saturated fatty acids. A complete determination of all fatty acids by gas chromatography verified this conclusion (35.5 - 53.5% saturated acids), which explains why it is a semi-solid.

These analyses revealed that the fat of the tambaqui is more closely related to animal and vegetable fats than to the oils of saltwater fish. Such acids as eicosapentaenoic (C20:5) and docosahexaenoic acid (C22:6) that are typical of marine fish oils were absent.

Stability tests were performed on the deodorized fat by following the development of rancidity. These were measurements of peroxide number and the TBA (thiobarbituric acid) value. The results indicated that it is necessary to add antioxidants to avoid oxidation of the fat within a few days. Butylated hydroxyanisole (BHA) and propyl gallate (PG), at levels of 0.01% were both found to be satisfactory for preventing oxidation during the experiments.

To test the possibility of using the fat of Colossoma for cooking, potato chips were prepared by deep frying in (1) deodorized fish fat, and (2) commercial soybean oil, and submitted to panels of taste testers. Of these, 35% preferred the chips fried in soybean oil in the first test and 40% in a second test when the oil and fat had been stored for 94 days at room temperature. The remaining tasters were indifferent to the oil used. On a taste scale of 1 to 10, from extreme dislike to liking very much, the ratings of potato chips fried in fish fat were 5.2 and 5.5 in the first test and 6.1 and 6.0 in the second for fat containing, respectively, BHA and PG. The scores for potatoes fried in soybean oil averaged 7.2 and 6.8 in the two tests. An analysis of variance for the test results showed that there was significant difference between the taste of potato chips fried in fish fat and those fried in soybean oil, but no significant difference with respect to the two preservatives.

I. I N T R O D U Z Ã O

O ponto prioritário para o desenvolvimento de uma população é a alimentação com a qual o homem vem se preocupando desde os primórdios da civilização devido o acentuado crescimento demográfico.

Aliado a esta problemática temos ainda que nos preocupar com os aspectos geográficos, climatológicos e ecológicos com a finalidade de melhorar a qualidade de vida e o bem estar das populações futuras. A região amazônica por apresentar condições potenciais para o desenvolvimento da piscicultura, interesses se voltam atualmente para o Estado do Amazonas que apresenta uma superfície de 1.564.445 Km², dos quais 5.458 são de águas interiores propícias à criação de peixes, os quais são fáceis de se adaptarem à piscicultura. Dentre as 609 espécies de peixes encontradas no rio Amazonas (15), apenas 36 são consideradas de interesse econômico e destas, somente 13 apresentam produção significativa, correspondentes portanto em apenas 36%.

O tambaqui é uma espécie de maior produção, maior valor econômico e apresenta a vantagem de ser onívoro, resistente ao manuseio, além de já estar com sua tecnologia de reprodução em tanques, praticamente desenvolvida (49).

O tambaqui além de ter excelente consumo direto apresenta um potencial como fonte de gordura já que ele acumula este material em zonas do corpo bem específicas.

A matéria graxa que trabalhamos se localiza na cavidade abdominal circundada por 16 a 26 grandes costelas (fig.II), onde se acumula gordura que em certos meses do ano rechaça as vísceras para a parte ventral, envolvendo-as completamente.

Sendo o tambaqui uma espécie que vive em cardumes, efetua migrações. No Estado do Amazonas, no mínimo duas migrações são realizadas por esta espécie. Na época do rio "seco" (vazante), quando as águas dos rios apresentam menor volume, os peixes saem em busca de alimentação, sendo conhecido este hábito como, migração trófica e por ocasião da subida das águas, antes porém de alcançar o nível máximo, na época das primeiras chuvas (repiquete), os peixes migram para desovar, ato este que se denomina migração reprodutiva. Por este motivo o conteúdo de gordura apresenta sazonalidade que varia em quantidade e qualidade na composição de seus ácidos graxos. Esta espécie que apresenta um peso médio de 12 Kg por exemplar (40), alcança em média 10% de gordura contida na cavidade abdominal, além da gordura das vísceras e cabeça. Considerando o conteúdo de gordura muscular podemos classificar o tambaqui como uma espécie semi-gorda (49), porque apresentou 2,81 - 4,88% de gordura em base úmida.

Como é de conhecimento geral a comercialização de peixe é feita com exemplares eviscerados e limpos, a juízo do DIPOA(11) para algumas espécies pode ser obrigatório a evisceração tornando-se daí, fácil e de custo mínimo a aquisição desta gordura. Atualmente este potencial calórico está sendo desperdiçado em Manaus por

falta de um entreposto de comercialização, além do impasse tecnológico, é claro, existente até então. Por outro lado o hábito atualmente desenvolvido pelos proprietários de restaurantes de Manaus em oferecer peixadas desta espécie, aproveitando quase sempre somente as costelas as quais servem assadas como churrasco, desperdiçando mais de 70% da parte comestível do pescado, a qual poderia ser aproveitada em diversas formas como fonte de proteína, ou servir apenas para o aproveitamento dos lipídeos contidos no músculo, pois os mesmos não diferem tanto dos lipídeos da cavidade.

Verificando a realidade da não existência de fábricas beneficiadoras de óleo ou gordura no Estado do Amazonas e que toda gordura ou óleo consumido é proveniente da importação; considerando também a população estimada de Manaus no ano de 1975 em 388.811 habitantes (24) e nesta mesma época a produção de tambaqui desembarcado em Manaus foi de 12.741,63 toneladas, representou 40% da produção total. Considerando ainda os cálculos de MOHR(47) de acordo com os quais o consumo "per capita" de óleo do brasileiro ser de 5 Kg/ano rapidamente nos leva a concluir que seria equivalente a cerca de 65% do consumo, ou seja aproximadamente 20% na importação de óleo e gordura pelo Estado do Amazonas caso houvesse aproveitamento daquele potencial.

Não estamos aqui tentando introduzir conceito sobre o aproveitamento da gordura do tambaqui porque MAGALHÃES (33), em 1935 disse : "de julho a setembro os tambaquis estão muito gordos e são então, muito apetecidos. É tão bem aproveitada a sua gordura na fabricação de um óleo ou manteiga de tambaqui utilizada na iluminação e

na cozinha". É evidente que poderemos deduzir que este aproveitamento era restrito à população interlandina do Amazonas que dispunha de matéria prima em quantidade significativa. Não encontramos nenhuma referência bibliográfica sobre a existência de fábricas de beneficiamento de gordura do tambaqui, nem sobre a tecnologia que poderia ter sido empregada. Por isso, deduzimos ser a mais empírica possível e procuramos empregar este conceito para verificarmos quais as condições em que a gordura era consumida. Por isto empregamos, com vista a este propósito, apenas o processo de desodorização imediatamente destinando a gordura aos testes sensoriais, realizados por equipe de provadores.

Tendo o propósito de estudar uma maneira de conservação da gordura, visando uma possível industrialização, adotamos um teste de estabilidade com dois tipos de antioxidantes para dispormos de conhecimentos e poder oferecer opção do melhor antioxidante permitido por nossa legislação.

Conhecendo o potencial que representa o tambaqui à piscicultura intensiva, haja visto sua alimentação diversificada, taxa de crescimento excelente (3g/dia), apresentar resistência ao manuseio e às baixas concentrações de oxigênio dissolvido na água, bem como alta conversão alimentar (3,1:1), facilidade de captura com redes de arrasto (48), e mais a grande quantidade de alevino viáveis que se pode produzir por desova, (4.212), (49) reputamos ser o tambaqui a espécie do futuro que poderá suprir as necessidades de proteína da região amazônica.

A importância do óleo de peixe marinho para o aproveitamento humano direto é assunto de controvérsia e poucos são os países atualmente no mundo que fazem este aproveitamento. No Brasil, além da produção de óleo de pescado ser insignificante, ainda sofre o entrave da legislação que considera este óleo um produto não comestível quando de origem marinha. Quando se trata de gordura de peixe de água doce não existe qualquer referência.

Conforme verificamos na literatura, sobre peixe de água doce os poucos trabalhos que existem referem-se a espécies de pequeno porte e não mencionam conteúdo de gordura significativa, possivelmente devido à carência de espécies que acumulam gordura nas condições supra citadas.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.1. Biologia da espécie.

O tambaqui pertence à família Characidae, gênero Colosso-
ma, cujo nome científico é Colossoma macropomum, Cuvier 1818 (6). Es-
ta espécie de peixe da água doce é largamente encontrada na bacia ama-
zônica, apresenta grande expressão econômica e elevado volume de cap-
tura no Estado do Amazonas (18,46).

Considerado uma espécie onívora cuja alimentação princi-
pal é constituída por microcrustáceos planctônicos e frutos, sendo
que na fase de larva e alevino o tambaqui é exclusivamente planctó-
fago, embora se alimente de fito e zooplâncton durante toda vida. Den-
tre os microcrustáceos predominantes estão as cladóceras, copépodos e
astracódios. A alimentação frugívora, embora esteja condicionada à é-
poca do ano, é maior no período das cheias dos rios, quando as águas
invadem a várzea e maior número de árvores permanecem dentro d'água.
Os frutos comumente consumidos são: araçá - Eugenia sp., apurú - Du-
roia duckei Huber, cajurana - Simaba guianensis (Aubl.) Engl., capita-
rí - Astrocaryum janari Mart., Hevea brasiliensis (seringa) e tarumã
- Vitex ymosa Bert. (19)

A alimentação variada é devido a sua estrutura bucal ser
constituída de dentes incisivos fortes na mandíbula e possuir grandes e
e numerosos rastros (filamentos) nos arcos branquiais.

Existe citação de que o tambaqui se alimenta de peixe (33), porém HONDA (19) não constatou esta afirmação durante os anos de 1970 a 1973. A circunstância mais significativa que mostra esta possibilidade foi a existência de larvas de camarão encontradas no tubo digestivo do tambaqui.

Contudo MAGALHÃES (33) disse: " o tambaqui é um peixe ideal para se adaptar às águas temperadas; cresce rapidamente, alimenta-se de plantas aquáticas, frutos silvestres e pequenos peixes, é adequado para as piscinas artificiais".

O tambaqui com seu corpo coberto por escamas do tipo ciclóide atinge a idade adulta aos 4,5 anos, época de sua primeira maturação sexual. Atinge um comprimento total de 500 a 600 mm, ocasionalmente pode alcançar 1100 mm[§] com altura variando entre 220 a 300 mm (33).

Foi considerado uma espécie de grande potencial para criação em piscicultura intensiva e/ou extensiva, por ser planctófago, altamente resistente ao manuseio e ser possível sua reprodução em tanques através da hipofiseração^{§§} (48,49).

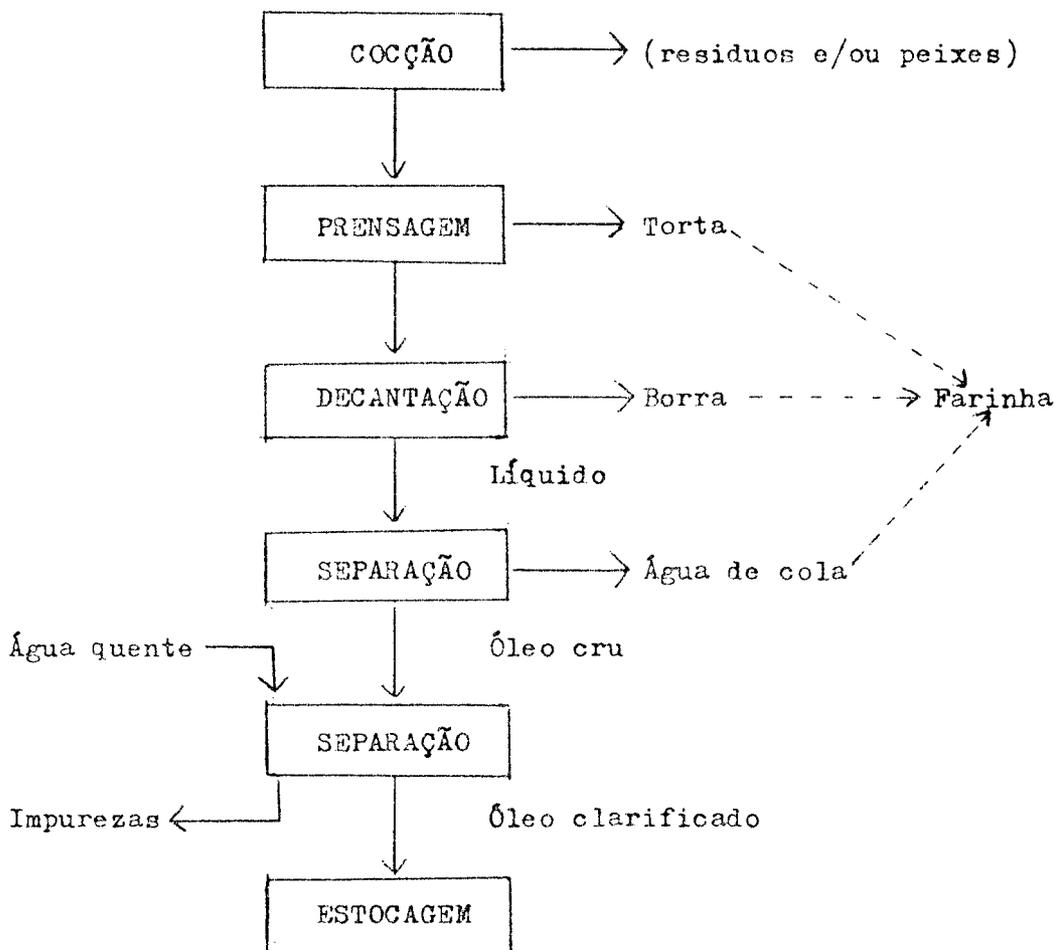
§ - Observação pessoal do autor em trabalho de rotina no Mercado Municipal "Adolpho Lisboa" de Manaus, durante o ano de 1975.

§§ - Diz-se da técnica de aplicação intramuscular de hormônio hipofisário em peixes para induzi-los a desovar.

II.2 - Tecnologia do óleo de pescado.

Este subproduto normalmente resultante da fabricação de farinha de peixe através da prensagem após prévia cocção da matéria prima, pode ter sua comercialização após decantação e filtração. Embora haja variação de produtores para produtores, as etapas podem ser assim resumidas (8).

II.2.1 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO PRODUTIVO



- II.2.1.1 - COCÇÃO - Realizada com a finalidade de desnaturar as proteínas e romper as paredes celulares facilitando o extravazamento da água e do óleo.
- II.2.1.2 - PRENSAGEM - Separa a torta da água com o óleo (líquido da prensa).
- II.2.1.3 - DECANTAÇÃO - Separa a borra do líquido. A borra poderá ser destinada à farinha.
- II.2.1.4 - SEPARAÇÃO - Utiliza-se geralmente centrífugas para separar o líquido rico em vitaminas, sais etc., o qual se chama água de cola, do óleo cru. Esta água de cola pode ser aspergida à torta no secador, para enriquecer a farinha ou ser concentrado (50%) dando o produto S.P.C. (solúvel concentrado de pescado).

Para a maioria dos produtores de óleo, existe só uma separação, mas quando o óleo não fica claro, torna-se necessário mais uma operação de separação das impurezas, lavando com água quente por várias vezes até obter um óleo claro que é armazenado para comercialização ou ser submetido à refinação. A acidez livre do óleo neutro comercializado fica em torno de 0,1%.

O óleo obtido por prensagem contém muitas impurezas e substâncias indesejáveis tais como:

- a) Matérias em suspensão: coloides, mucilagem, resinas ou polímeros;

- b) Ácidos graxos livres que já existiam no pescado ou que se formaram durante o processamento;
- c) Substâncias lipossolúveis de origem natural;
- d) Compostos odoríficos e saponosos voláteis dissolvidos;
- e) Glicerídeos saturados.

II.2.2 - REFINAÇÃO

Dependendo da utilização que se queira dar ao óleo, esta operação poderá ser resumida em simples decantação e filtração, mas quando se trata de óleo destinado à elaboração de produtos para consumo humano, isto é, para consumo direto, a refinação passa pelos mesmos processos a que são submetidos os óleos vegetais. A finalidade, é retirar as impurezas, substâncias insolúveis, ácidos graxos livres, corantes, cêras e odores indesejáveis. Esta etapa do processamento, geralmente feita em seção separada da indústria, consiste das seguintes etapas: Degomagem, neutralização, clarificação ou descoloração ou branqueamento e desodorização.

II.2.2.1 - DEGOMAGEM

Para óleo de peixe essa etapa geralmente é efetuada durante a extração úmida. Torna-se indispensável em se tratando de óleo de arroz, soja etc. É realizada com a finalidade de eliminar as gomas, mucilagem, resinas e fosfatídeos. A técnica empregada consiste em tratar o óleo com água aquecida mais ou menos a 70°C para a hidratação e precipitação destas substâncias. Também pode ser usado

terra adsorvente e solução de ácido fosfórico, ácido nítrico ou detergentes que são removidos por decantação, filtração ou centrifugação.

II.2.2.2 - NEUTRALIZAÇÃO

A neutralização é processada para eliminar ou reduzir o teor de ácidos graxos livres e impurezas.

A acidez dos óleos de pescado destinado à comercialização varia de 1 - 3%. O processo empregado é similar ao utilizado aos óleos vegetais com NaOH, cuja concentração varia de 16 a 20° Bé. O alcali é adicionado à temperatura ambiente com agitação seguido por aquecimento do óleo até 60°C. Forma-se "borra" que é decantada e o óleo neutralizado é lavado com água fervente.

II.2.2.3 - CLARIFICAÇÃO

A clarificação poderia ser realizada por método químico ou físico. O método químico emprega oxidantes tais como: água oxigenada, bicromato, cloro etc., ou redutores como: bissulfitos em soluções ácidas, hidrossulfetos em soluções alcalinas, atualmente tal método está em desuso pelos efeitos adversos que produzem no óleo.

Atualmente o processo mais usado para eliminar os corantes naturais e restos de sabão é, quase que exclusivamente os meios físicos de adsorção. Pode-se usar terra clarificante na proporção de 1-3% e/ou carvão ativado. Quando se usa mistura a proporção de verá ser de 1:5 ou 1:10 entre a terra e o carvão respectivamente .

É realizada sob vácuo e agitação, a temperatura deverá ficar entre 90 - 100°C por 20 minutos e esfriar a 60-70°C. Para em seguida filtrar.

II.2.2.4 - DESODORIZAÇÃO

A desodorização tem por finalidade eliminar os produtos odoríficos, gustativos e por último, produtos oriundos da cisão dos glicerídeos. É baseada na diferença de volatilidade desses compostos. Os compostos retirados são voláteis provenientes da decomposição dos hidroperóxidos, constituídos principalmente por aldeídos, cetonas, alcoois, compostos dicarbonílicos e ácidos (2). Este processo de desodorização sob vácuo a alta temperatura foi atribuído no século passado ao químico David Wesson, como cita HARTMAN (21).

É uma operação realizada sob vácuo, geralmente de 10 Torr à temperatura de 200 a 225°C ou mais, durante quatro horas. O aparelho desodorizador pode ser fabricado de ferro ou aço inoxidável. Quando fabricado de ferro a temperatura não deve exceder a 225°C e ao óleo obtido tem que ser adicionado antioxidante ou ácido cítrico. Quanto menor a pressão menor pode ser a temperatura para se conseguir uma desodorização eficiente.

II.3 - CLASSIFICAÇÃO DOS LIPÍDEOS

Os lipídeos podem ser divididos em várias classes, porém obedeceremos a divisão sugerida por LEHNINGER (29) baseada na estrutura dos seus esqueletos: lipídeos complexos (saponificáveis) e simples (não saponificáveis).

Os lipídeos saponificáveis ou óleo neutro possuem ácidos graxos como constituintes de sua estrutura. Nesta classe estão incluídos os acilgliceróis, fosfoglicerídeos, esfingolipídeos e as ceras.

Os lipídeos insaponificáveis são encontrados em menor quantidade, não possuem ácidos graxos como componentes, porém neles encontramos muitas substâncias de grande importância biológica como: vitaminas, hormônios e outras biomoléculas solúveis em gordura.

Dentre os lipídeos saponificáveis os mais importantes para este trabalho são: os triacilgliceróis ou seja ésteres de ácidos graxos e glicerol, que representam 92-97% dos óleos de pescado comercial (8).

Os glicerídeos podem ser classificados de acordo com a constituição dos ácidos graxos ligados na molécula do glicerol. Assim temos:

- a) Triacilgliceróis simples - Quando todos os ácidos graxos são idênticos. São rotulados de acordo com os ácidos graxos que contêm, ex.: triestearoilglicerol (triestearina), tripalmitoilglicerol (tripalmitina), trioleoilglicerol (trioleína).
- b) Triacilgliceróis mistos - Aqueles que contêm dois ou mais ácidos graxos diferentes, ex.: 1- Palmitoldiesteroilglicerol (1- palmitoldiesterina).

Muitas gorduras naturais são misturas extremamente complexas de glicerídeos simples e mistos, para os quais foram feitas várias tentativas até então infrutíferas para descobrir as regras biológicas fundamentais que determinam o modo de distribuição dos diferentes ácidos graxos (29).

II.3.1 - ORIGEM DOS ÁCIDOS GRAXOS

Existem bem mais de 100 espécies de ácidos graxos que ocorrem na natureza como componentes dos lipídeos. No complexo de acilgliceróis faz parte a maioria dos ácidos graxos na forma esterificada e poucos existem sob forma livre.

Os autores estão concordantes quanto a origem dos ácidos graxos que podem provir de gorduras ingeridas, por encurtamento ou alongação de cadeia de ácidos graxos, por saturação e/ou dessaturação, mas também de outros tipos de alimentos.

II.3.1.1 - ORIGEM ALIMENTAR DOS ÁCIDOS GRAXOS (pescado)

Experimento realizado em 1958 por KELLY et al. (26) no Departamento de Oceanografia, no Texas, tentando verificar o efeito da dieta no peixe Mugil cephalus, constataram que o nível de ácidos graxos polinsaturados decresce acentuadamente nos peixes sob dieta livre de gordura, e a natureza da gordura do corpo foi notadamente influenciada pela constituição da dieta em ácidos graxos. Contudo a espécie pode aparentemente converter pequenas quantidades do ácido dietânico contido na ração formulada com óleo de algodão, em ácidos tetranóicos, pentanóico e hexanóico.

Em trabalho posterior KELLY (27) volta a afirmar que o peixe sob dieta livre de gordura não sintetiza ácidos graxos polinsaturados em grau significativo para seu tecido, imediatamente após sua remoção do habit natural, e conclui dizendo: ambos os peixes de água doce e do mar parecem hábeis para sintetizar polinsaturados. Diz também que a diferença entre a composição da gordura do corpo dos peixes de água doce e de mar resulta largamente da diferença em suas dietas em ácidos graxos.

Tendo em vista estas afirmações convém notar que a mudança na composição dos ácidos graxos está relacionada a vários fatores tais como: salinidade da água, temperatura, estação do ano e localização geográfica. Não só ácidos graxos sofrem oscilações como também o conteúdo de água e outras substâncias musculares de acordo com ACKMAN (1). Mas segundo FARKAS (13) que fez minucioso estudo durante tres anos verificando a composição dos crustáceos planctônicos de água doce e salgada, os ácidos graxos dos referidos crustáceos variam com a temperatura da água, aumentando a proporção dos ácidos polienóicos de longa cadeia (C20 e C22), na época do inverno. Diz que o peixe retira grande parte dos ácidos graxos C20 - C22 dos crustáceos que lhes serviram de alimento variando com estes o tipo de ácidos graxos.

ACKMAN (1), confirma as conclusões de KELLY (27) e diz que a quantidade de ácidos graxos polinsaturados de peixe de água doce é menor que dos peixes de água salgada. Os peixes de água doce apresentam alta proporção de ácidos graxos C18 e baixo nível de C20-C22,

em algumas espécies estes ácidos até podem faltar.

Tentando verificar diferenças entre a composição dos ácidos graxos de pescado, GRUGER (17) analisou 21 espécies de peixes, sendo tres de água doce e achou que a diferença existente entre os ácidos graxos polinsaturados de peixe de água doce e marinho se deve possivelmente à alimentação variada das espécies. Ele afirma que segundo Reizer "peixe de água doce e marinhos diferem um do outro e de outros animais somente em suas dietas, e não no mecanismo natural do metabolismo de seus ácidos graxos". Constatou também que os peixes de água doce apresentaram maior percentagem (4.3 - 5.5%) de ácido linoleico, em relação aos peixes marinhos (0.7 - 3.2%). Por outro lado verificou que o conteúdo de C20:5 no peixe de água doce foi baixo 5.8%, em relação aos marinhos que foi 9.7%. Notou também que a percentagem de ácidos graxos polinsaturados com 4,5 e 6 duplas ligações foi baixa em peixe de água doce em relação aos peixes marinhos.

Relacionando os lipídeos do corpo e do fígado do bacalhau e peixe cachorro, encontrou que eles possuem a mais o ácido graxo C20:4 nos lipídeos do corpo e que estas espécies possuem alta proporção de C20:1 e C22:1 nos lipídeos do corpo. Fez referência aos traços de ácidos graxos C15, C17, C19 e C21 nas amostras que foram hidrogenadas.

A composição dos ácidos graxos de pescado é bastante complexa. STANSBY (51) diz que os ácidos graxos saturados têm longa cadeia de carbono desde C12 até C24. Também podem ser encontrados em pequena quantidade C8 e C10 em óleos de alguns peixes.

Um recente trabalho apresentado em 1976 no 13º Congresso Internacional da Sociedade de Pesquisa em Gordura, França, LEGER (31) demonstrou que na truta os ácidos graxos insaturados são preferentemente localizados na beta-posição e os saturados na alfa-posição do glicerídeo, também afirma que a estrutura do glicerídeo na truta não depende da dieta.

Tem sido demonstrado que a temperatura influencia a composição dos ácidos graxos saturados do corpo de peixes (51).

YU (55) demonstrou que a truta arco-íris alimentada com três dietas contendo diferentes proporções de ácido graxo saturado, (20.6; 28.6 e 32.7%) após 14 semanas, manteve o nível constante cerca de 24% em ácidos graxos saturados apesar da grande diferença contida nas dietas, 1, 2 e 3 respectivamente.

Comparando a composição dos ácidos graxos de peixe de água salgada e água doce tropical HILDITCH (20), diz que os ácidos insaturados C₂₂ são ausentes ou apresentam apenas 1-2% nos peixes de água doce, mas os ácidos insaturados C₂₀ estão presentes em pequenas proporções. Os ácidos palmítico e esteárico estão incrementados e os ácidos insaturados C₁₈ predominam atingindo cerca de 30%. A diferença é atribuída a fatores condicionados à biologia ou diferença na alimentação ou mesmo, condições ambiental.

II.3.1.2 - ENCURTAMENTO OU ELONGAÇÃO DA CADEIA

Com bem mais facilidade podemos nos aperceber sobre a origem dos ácidos graxos através do alongamento da cadeia de ácidos graxos saturados ocorridos nas mitocôndrias e microsomas,

sendo o ácido palmítico o precursor de todos os ácidos graxos saturados superiores e de todos os ácidos graxos insaturados (30).

A elongação da cadeia ocorre na extremidade carboxila terminal por adições sucessivas de unidades acetílicas na forma de Acetil-CoA no sistema mitocondrial e microsomal.

Por este mesmo processo também são formados os dois ácidos graxos monoenólicos, palmitoleico e oleico (Fig. III) mais comumente encontrados nos tecidos animais. Embora a maioria dos organismos possam formar estes ácidos, os precursores e enzimas empregadas diferem para os organismos aeróbios e anaeróbios.

Os ácidos graxos polienólicos encontrados abundantemente nos animais e vegetais são formados por alongamentos e/ou dessaturação da cadeia e diferenciam-se pela localização da primeira dupla ligação situada mais próximo ao grupo metílico terminal.

Estes ácidos polienólicos pertencem a quatro famílias que são denominadas de acordo com o ácido graxo precursor e pela letra grega ω , assim temos: Família do ácido palmítico, oleico, linoleico e linolênico que são formados por elongação de cadeia com adição + C2 na extremidade carboxílica ou por dessaturação.

Destas famílias as mais importantes são: as famílias linoleica ω_6 e linolênica ω_3 , esta última por originar os ácidos graxos típicos de pescado de água salgada C20:5 e C22:6 (51), (52), conforme pode ser verificado na fig. IV, além de pertencerem aos ácidos graxos essenciais (29,30). A família linoleica ω_6 produz o ácido araquidônico (C20:4) Fig. V, que é um dos precursores de vários

tipos de prostaglandinas, substâncias derivadas de ácidos graxos, fisiologicamente ativas, com várias funções pertinentes ao sistema cardiovascular. Dela faz parte o principal ácido graxo essencial, ácido linoleico que só pode ser produzido pelos tecidos vegetais (54).

II.3.1.3 - SATURAÇÃO E DESSATURAÇÃO

A fonte de carbono dos ácidos graxos provém da acetil-CoA formada nas mitocôndrias pela descarboxilação oxidativa do piruvato pela degradação oxidativa de alguns aminoácidos ou pela oxidação dos ácidos graxos de cadeia longa (30). Enquanto que para a síntese dos ácidos graxos é preciso citrato para acelerar a reação, na oxidação, ele não é requerido.

O primeiro trabalho que se referiu à oxidação dos ácidos graxos no carbono beta foi de F.Knoop em 1904, no qual o ácido graxo sofria clivagem para formar ácido acético e um ácido graxo com menos dois carbonos. Mais tarde Lehninger, demonstrou que a oxidação dos ácidos graxos era ativada enzimaticamente no grupo carboxílico produzindo unidades de dois carbonos que podem entrar no ciclo tricarboxílico.

Um exemplo típico de dessaturação foi citado por LEGER(31) onde a truta arco-íris alimentada com tres dietas contendo ácido palmítico (C16:0) em quantidades normais e ao cabo do experimento (8 semanas) a quantidade de ácidos graxos foi semelhante, contudo houve aumento do ácido palmitoleico (C16:1) nos lipídeos do tecido perigástrico (P.A.T.) e diminuição do ácido palmítico.

Com relação à característica dos peixes possuírem ácidos graxos com número ímpar de carbono (51), diz que vem do fito - plancton ingerido, porém existe pequena evidência que as quebras das cadeias dos ácidos graxos destes peixes sejam provenientes destes planctons, mas sugere que as mesmas ocorrem em algum grau no zooplâncton.

II.3.2 - DETERMINAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS POR CROMATOGRAFIA DE GÁS

A primeira separação de ácidos graxos por cromatografia, foi realizada por James Martin em 1952 (32) e (34). A sensibilidade, rapidez, precisão e simplicidade deste método para separação, identificação e determinação de compostos voláteis, resultou no desenvolvimento fenomenal que a cromatografia tem alcançado no mundo inteiro já existindo mais de 60.000 cromatógrafos em operação (34).

A aplicação da técnica cromatográfica é muito extensa e pode ser usada na determinação de misturas voláteis ou componentes vaporizáveis desde uma temperatura do zero absoluto até 450°C, quando a substância pode ser aquecida sem sofrer decomposição (32).

Dos vários tipos de cromatografia empregados na separação de misturas compostas, a cromatografia de gás-líquido (G.L.C.) é a mais utilizada para separar ácidos graxos, enquanto a cromatografia de gás-sólido (G.S.C.) é mais empregada para separar gases.

A diferença preliminar entre os dois tipos se refere quanto à fase estacionária, se é um sólido dizemos tratar-se de G.S.C., se é um líquido diz-se G.L.C. Assim poderemos adotar a definição de

cromatografia como um método físico de separação no qual os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases, uma das quais é estacionária e de grande área, e a outra um fluido que percola através da primeira (34).

II.3.2.1 - IDENTIFICAÇÃO DE AMOSTRAS

O analista deverá ser informado a respeito da origem da amostra e do objetivo da análise. Assim sendo, poderá escolher com melhor precisão as condições que deverá operar o equipamento para obter melhores resultados. O procedimento descrito a seguir foi sugerido por CIOLA (7).

- a) ESCOLHA DA COLUNA. A coluna deverá conter uma fase estacionária capaz de operar em altas temperaturas de modo que todos os componentes voláteis possam ser eluídos. Quando possível a coluna deverá ser pequena para evitar grande tempo de residência da amostra, a fim de evitar que constituintes possam ser decompostos ou polimerizados no decorrer da análise. A fase estacionária deverá ser inerte e suportar altas temperaturas, sendo preferentemente uma fase polar e outra não polar.
- b) PREPARAÇÃO DA AMOSTRA. Escolher sempre que possível métodos oficiais de metilação para evitar equívocos na interpretação.
- c) TÉCNICAS DE IDENTIFICAÇÃO. Sabendo-se os constituintes da amostra deverá ser feita uma determinação cromatográfica em condições otimizadas, por via isotérmica ou por programação linear da temperatura.

II.3.2.2 - ANÁLISE QUALITATIVA

Com o conhecimento dos componentes da amostra, das melhores condições de operação e do tipo da coluna a ser usado, o passo seguinte é a identificação qualitativa dos componentes. Esta poderá ser feita por diversas estratégias de ação, dentre outras podemos contar como :

Identificação por tentativa, identificação por isolamento das substâncias, identificação com auxílio da espectroscopia, identificação empregando o tempo de retenção.

1. IDENTIFICAÇÃO POR TENTATIVA

Quando se conhece a origem da amostra deve-se injetar juntamente com a mesma, o componente puro que causará a elevação da área do pico correspondente.

Quando não se conhece a origem pode-se tecer considerações sobre os mecanismos das reações e injetar componentes prováveis, sem contudo alterar as condições de eluição do cromatograma de amostra duvidosa.

2. IDENTIFICAÇÃO EMPREGANDO TEMPO DE RETENÇÃO(t_r)

Todos os representantes de uma série homóloga formam retas logarítmicas na cromatografia isotérmica e retas lineares na cromatografia por programação otimizada. Também pode-se relacionar logaritmo do volume de retenção corrigido ou t_r , com o ponto de ebulição da série homóloga.

De um modo geral todos estes parâmetros são extremamente dependentes da temperatura, pequenas variações já alteram os valores dessas variáveis.

II.3.2.3 - ANÁLISE QUANTITATIVA

Com a amostra cromatografada e os componentes identificados, a quantificação dos contribuintes é baseada em vários métodos de cálculos cujos principais são:

- a - Medida com planímetro
- b - Determinação por pesagem do papel
- c - Determinação gráfica
- d - Determinações com auxílio do integrador de disco ou eletrônicos.

De todos estes métodos, a determinação efetuada por integradores eletrônicos, como é lógico, é a mais correta seguindo-se - lhes a determinação por altura do pico, porém o mais usado atualmente é o método da determinação gráfica da área do pico, com a variável introduzida por Cramer, (7), onde ao invés de obedecer a triangulação se calcula a área tomando como base a largura do pico na metade da altura. Os resultados são considerados bons e com a vantagem de ser rápido evitando erros de picos que não alcançaram a linha de base. Contudo deverá ser considerado que o equipamento funciona sem as usuais fontes de erros, desde a preparação da amostra até registrador; este no entanto, deverá ter respondido proporcionalmente ao sinal (35).

O cálculo é normalmente expresso em percentagem por constituintes eluidos, com base na normalização da área, onde: a área total do constituinte vêzes cem é dividido pela soma das áreas de todos os componentes, isto é:

$$\% A = \frac{\text{Área de } A \times 100}{\text{Área total}}$$

II.4 - DETERMINAÇÕES QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS

As determinações usualmente efetuadas para esclarecer a composição química ou garantir a qualidade dos óleos e gorduras são denominadas índices.

A maioria destes índices podem sofrer alterações desde a etapa de extração e/ou processamento, na refinação, até o acondicionamento que está sujeito às adversidades climáticas, contudo a literatura refere-se a eles como número fixo, porém conhece-se que certos deles podem sofrer variações quantitativas por fatores estranhos ou alguns biocatalizadores capazes de alterar grandemente os valores(38).

A deterioração da gordura pode ser de quatro tipos(16) :

- 1 - HIDRÓLISES - Ocorre catalizada por enzimas lipolíticas, ácidos e altas temperaturas.
- 2 - RANCIFICAÇÃO - Resultante de autoxidação dos ácidos graxos insaturados produzindo uma mistura de componentes voláteis.

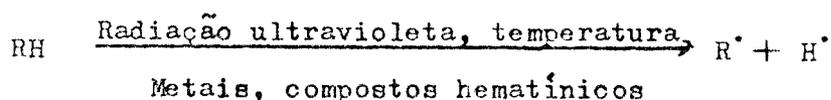
- 3 - REVERSÃO - Degradação que ocorre associada com odores de vegetais e peixes, é resultado da oxidação dos ácidos graxos insaturados, induzido principalmente por ácido do tipo linolênico.
- 4 - POLIMERIZAÇÃO - Acompanhada por diminuição de compostos insaturados.

A autoxidação das gorduras pode ocorrer espontaneamente quando expostas ao ar, dando origem a variadas substâncias como: Hidrocarbonetos, aldeídos, ésteres e fenóis.

Uma gordura pura quando oxidada apresenta todas as características de uma reação auto-catalizada, descrevendo curvas ascendentes com o tempo devido a formação de produtos que catalizam a reação (2). Mas segundo YU & SINNHUBER (56) o óleo do salmão não obedece este modelo de curva.

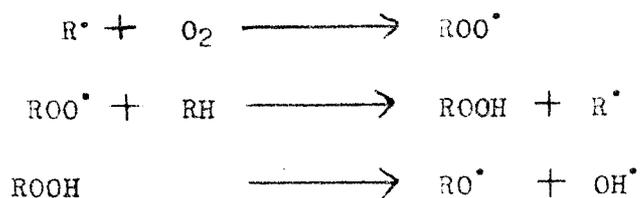
O mecanismo auto catalítico da oxidação podemos representar esquematicamente como (37).

1ª) PERIODO DE INICIAÇÃO:



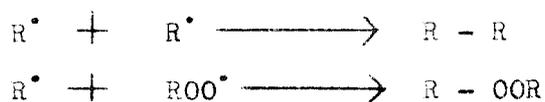
Existe formação de peróxidos, porém muito lenta.

2º) PROPAGAÇÃO:



Igualdade de formação e decomposição dos peróxidos.

3º) TERMINAÇÃO:



Prevalece a formação de peróxido com polimerização da gordura.

O período de indução pode ser definido como sendo igual ao número de dias (com amostra estocada a 3 - 5°C) requerido para produzir um número de TBA de 1mg de aldeído malônico/1000g de amostra.

II.4.1 - DETERMINAÇÕES DE CARÁTER FÍSICO

- a) índice de refração (Abbe a 40°C)
- b) densidade (40°C)
- c) ponto de fusão
- d) cor

a) O índice de refração (IR) de uma substância é a relação entre a velocidade da luz na substância e a velocidade da luz no vácuo. Como se torna difícil efetuar a leitura no vácuo, na prática as medidas das escalas são referentes à velocidade da luz no ar, não no vácuo. O IR é uma característica dentro de certos limites para cada tipo de óleo. É relacionado com o grau de saturação das ligações, com o teor de ácidos graxos livres, oxidação e tratamento térmico empregado no beneficiamento do óleo ou gordura, A.O.C.S. (3).

Na determinação o óleo é colocado sobre o prisma de medição que é rebatido sobre o prisma de iluminação. Quando a amostra é clara, translúcida, usa-se luz transmitida (razante), porém quando a amostra é colorida, escura e turva, deve-se usar luz refletida, mesmo porque a luz transmitida é muito absorvida dificultando a medição.

b) Densidade - Método de determinar a relação de um volume unitário de uma amostra de óleo a 25°C ou gordura a 40°C para o peso unitário de um volume de água a mesma temperatura. Esta determinação é geralmente feita com picnômetro em banho com temperatura controlada (40°C) quando se trata de gordura.

c) Ponto de fusão - Esta determinação é de grande importância porque pode esclarecer se o óleo pode ou não ser empregado como óleo de salada. Em geral os óleos comestíveis são designados de óleos "para cozinha" e para "salada". A diferença entre os dois tipos

se baseia no fato de o último se solidificar à temperatura de 4 - 7°C, embora o primeiro não o faça.(4).

Esta determinação dá uma ideia do conteúdo de ácidos graxos insaturados ou saturados existentes no óleo. Quando o ponto de fusão de um óleo é alto, geralmente seu conteúdo de ácidos insaturados é baixo, ressalva-se quando existe grande percentagem de ligações do tipo trans que elevam o ponto de fusão dos óleos (14).

Tomando por base os ácidos graxos, ROHR (44) classifica as gorduras e óleos alimentícios em:

- 1) Gorduras - Quando apresentam alto teor de ácidos graxos saturados.
Ex.: Manteiga, gordura de côco, banha de porco, sebo
- 2) Óleos - Quando apresentam alto teor de ácidos graxos insaturados.
Ex.: óleo de oliva, amendoim etc.
- 3) Óleos com alto teor de ácidos graxos di-insaturados principalmente o ácido linoleico.
Ex.: Óleo de algodão, milho, soja etc.
- 4) Óleos com alto teor de ácidos graxos polinsaturados.
Ex.: óleos de peixe, babaçu etc.

d) COR - A cor geralmente é determinada por tintômetros que fazem a determinação da cor por comparação com padrões. Os tintômetros normalmente usados são de Lovibond e Gardner (43); a temperatura da amostra deverá ser ajustada para 25 - 35°C. Tratando-se de produto sólido, este deverá ser aquecido não mais que 10°C acima do ponto de fusão (3a). A cor determinada no tintômetro Lovibond utiliza "cubeta" graduada em polegadas (1/2 , 1 e 5''). A cor do óleo colocado na cubeta é comparada com a cor de vidros padrão formando uma escala que inclui as cores amarela e vermelhas. **As escalas são:**

Amarela { 1) 0-10-15-20-35-50-70
2) 0-1-2-3-4-5-6-7-8-9

Vermelha { 1) 7,6 - 8 - 9 - 10 - 11 - 12 - 16 - 20
2) 0 - 1 - 2 - 2,5 - 3 - 3,5 - 4 - 5 - 6 - 7
3) 0 - 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 - 0,5 - 0,6 - 0,7 - 0,8 - 0,9

II.4.2 - DETERMINAÇÕES QUÍMICAS

- a) Índice de acidez
- b) Percentagem de ácidos graxos livres
- c) Índice de peróxido
- d) Rancidez oxidativa pelo método T.B.A.
- e) Índice de Iodo
- f) Índice de saponificação
- g) Matéria insaponificável

a) ÍNDICE DE ACIDEZ - É o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para neutralizar os ácidos graxos livres de um grama de amostra (3b).

O decreto 52.504 de 28 de julho de 1970 sobre as normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas, diz que a acidez dos óleos refinados deve ser equivalente a 1,5 ml de NaOH a 1N/100g de óleo, o que corresponde a 0,42% de acidez calculada como ácido oleico.

Do mesmo modo a resolução do Codex Alimentarius (40) através da norma geral internacional recomenda para gorduras e óleos comestíveis, não mais que 0,6 mg de KOH/g de gorduras ou óleo e não mais de 4 mg de KOH/g para óleos e gorduras virgens, quando se refere ao índice de acidez.

b) PERCENTAGEM DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES (AGL)

Os ácidos graxos livres existem nos tecidos dos mamíferos e nos óleos e gorduras dos peixes variam consideravelmente. São formados a partir dos triacilgliceróis nos tecidos adiposos pela ação de enzimas.

É frequentemente estabelecido o teor de 0.1% de AGL nos óleos e gorduras comestíveis o que segundo HARTMAN (21) não tem sempre justificção.

Pequenas quantidades de AGL influenciam o paladar de óleos e gorduras quando são provenientes de cadeias contendo menos de 14 átomos de carbono. Os óleos vegetais com ácidos graxos predominantes

de 16 e 18 carbonos na cadeia, mesmo apresentando acidez de 3% não se tornam prejudiciais à alimentação pelo seu sabor (23).

Os AGL apresentam conteúdo consideráveis sobre a estabilidade de óleos e gorduras quando estiverem em valor superior a 0,2%. Também fazem baixar o ponto de fumaça (2).

Conforme Kaufmann (25), a neutralização ou desacidificação é uma etapa de processamento dos óleos prejudicial porque elimina parte de fosfatídeos, carotenos, esteróides e substâncias de alto valor nutritivo.

Os resultados da determinação dos AGL de dois laboratórios não deverão diferir mais de 0.22 para valores menores do que 4.0 e de 0.36 para valores de 4.0 a 20.0 (3b).

Como os AGL podem ser diferentes, usualmente são expressos em termos de percentagem de ácido oleico. Para converter percentagem de ácidos graxos livres em índice de acidez basta multiplicar o resultado por 1,99 (3d). Todas as vezes que for necessário expressar o resultado com outro ácido em vez do oleico, isso deve ser mencionado.

c) INDICE DE PEROXIDO

Este método determina todas as substâncias, em termos de miliequivalentes de peróxido por 1000 gramas da amostra, as quais oxidam o iodeto de potássio sob as condições do teste. São geralmente considerados peróxidos ou outros produtos similares da oxidação

de gorduras. O método é altamente empírico e qualquer variação no procedimento dará variação nos resultados, (3e).

O Codex Alimentarius (10) estabelece não mais de 10 meq de oxigênio ativo peróxido/Kg de gordura ou óleo refinado para o índice de peróxido.

A autoxidação de gorduras ocorre geralmente em ácidos graxos insaturados, embora as cadeias dos ácidos saturados possam se oxidar à temperaturas superiores a 100°C, dando produtos denominados hidroperóxidos que não apresentam odor nem sabor, isto é, são todos insípidos e inodoros (22).

d) RANCIDEZ OXIDATIVA PELO T.B.A.

A avaliação da rancidez oxidativa pelo ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) expressa em mg de aldeído malônico por 1000 gramas de amostra, foi considerada a mais informativa para o óleo de soja e algodão que o índice de peróxido, apesar de ser uma técnica também empírica (47).

A gordura oxidada forma produto de cor vermelho-carmim com o ácido 2-tiobarbitúrico, é lido no espectrofotômetro a um comprimento de onda de 535 nm. O resultado da leitura é multiplicado por 46 e dividido pelo peso da amostra.

e) INDICE DE IODO

É a medida de insaturação de gorduras e óleos expressa como número de centigramas de Iodo absorvida por 1 grama da amostra ou de gramas de Iodo por 100 gramas de amostra (3f).

f) INDICE DE SAPONIFICAÇÃO

Indica a quantidade de álcali necessário para saponificar uma quantidade definida de amostra. É expresso como número de miligramas de KOH necessário para saponificar 1 grama de amostra (3g).

g) MATERIA INSAPONIFICÁVEL

Como matérias insaponificáveis estão incluídas aquelas substâncias frequentemente encontradas dissolvidas nas gorduras e óleos as quais não se saponificam com os álcalis cáusticos, mas são solúveis em solventes de gorduras comuns. Incluídos estão os alcoois alifáticos, esteróides, pigmentos e hidrocarbonetos (3c,3h).

II.5 - TESTES DE ESTABILIDADE

Nem todos os testes existentes para avaliar o estado em que se encontram os óleos e gorduras comestíveis, parecem suficientemente seguros ou representativos de um modo geral para todos estes produtos. Assim é que SIDWELL (47) tentando verificar o melhor teste que avaliasse o grau de estabilidade do óleo de algodão e soja, encontrou que o teste do ácido 2-tiobarbitúrico foi mais efetivo que o índice de peróxido ou testes de absorção de oxigênio.

Os métodos de avaliação da estabilidade dos óleos e gorduras através da rancidez, como: Oxigênio ativo (A.O.M.), teste de estufa de Schaal(S.O.T.), índice de peróxido, teste de carbonila e o teste TBA, constituem opções válidas para se observar o comportamento do produto em condições semelhantes às ocorridas na comercialização (12).

As gorduras rançosas por autooxidação são muito prejudiciais quando empregadas na alimentação, elas provocam tumores e alterações da pele em animais. As gorduras peroxidadas afetam também a administração de vitaminas ao organismo, porque destroem as vitaminas A, C, E e B₆, que são muito sensíveis à oxidação, assim como aos ácidos graxos essenciais e o ácido pantotênico (42).

A oxidação das gorduras pode ser prevenida por agentes naturais como os tocoferóis que são encontrados nos tecidos animais e plantas e por outros antioxidantes sintéticos.

Os antioxidantes atualmente mais usados para proteger a oxidação das gorduras são fenólicos (BHA, BHT e propil galato). Para ácidos graxos de pescado o antioxidante que provou ser mais eficiente foi o propil galato (16). Para proteger os músculos de corvina, QUEIROZ (41) encontrou que BHA tem melhor efeito que o BHT, por produzir maior período de indução.

Além dos antioxidantes também são usados os sinergistas que reforçam a ação destes. Entre os elementos com poder sinérgico, encontram-se os ácidos cítrico, fosfórico e tartárico, além dos antioxidantes

naturais. Em contrapartida vamos também encontrar os pró-oxidantes que tem efeito contrário, isto é, encurtam o período de indução. São considerados pro-oxidantes os traços de metais: (Fe, Cu, Zn, Co, etc.), os peróxidos, as clorofilas e as enzimas que são os principais iniciadores do processo de autoxidação.

O grande perigo no uso dos antioxidantes está relacionado com a concentração empregada. A dosagem deverá ser ótima, senão pode ocorrer inversão do efeito, isto é, o composto pode funcionar como pro-oxidante (39).

Segundo FURIA (16) os antioxidantes são efetivos em reduzir rancidez e polimerização, mas não protegem contra hidrólise e reversão.

Nossa legislação obedece ao decreto 55.871 de 26/03/65 que modificou o decreto 50.040 de 24/01/61, publicado no Diário Oficial da União, referente às normas que regulam o emprego de aditivos para alimentos e diz que a quantidade máxima de propil galato e BHA permitido como antioxidante é de 0,01%.

KRAYBILL (28) testando várias concentrações do antioxidante BHA em toucinho chegou à conclusão que o melhor efeito para prolongar o período de indução é conseguido quando se adiciona uma proporção entre 0,01 a 0,1%.

Os antioxidantes podem suprimir a totalidade da oxidação, mas não podem evitar o desenvolvimento de odores e sabores de aldeídos dos óleos comestíveis (38). Dentro deste mesmo conceito, RITACO (42) diz que o mecanismo de oxidação não deverá ser muito avançado se quisermos estabilizar a gordura com êxito. Embora não especifique o tipo de gordura, aconselha que o valor de peróxido deverá estar entre 0 - 3 meq/1000 gramas de amostra para se estabilizar as gorduras frescas. Se o valor é superior a 5 meq/1000 g o efeito do antioxidante será menos seguro.

Os ácidos cítrico, fosfórico e lecitina apresentam sinergismo com BHA aumentando o valor do Active Oxygen Method (AOM). VALÊNCIA & SANAHUJA trabalharam com três espécies de peixe de água salgada tentando estabelecer índices de qualidade para aquelas espécies de peixe, na Argentina, baseando, dentre outras determinações, no índice de peróxido e valor de TBA. Para o valor de peróxido encontraram resultados concordantes com a literatura, isto é, valor de 15 microequivalente de oxigênio peróxido por grama de gordura. Já para o TBA não encontraram referência na literatura, contudo aconselham o valor limite de 8 - 9 mg de aldeído malônico por 1000 gramas de amostra, basearam-se na coincidência do valor limite de peróxido e as modificações observadas nas características organolépticas, principalmente na cor da gordura.

III - MATERIAL E MÉTODOS

III.1 - MATERIAL

A matéria prima que serviu de base para este estudo, consistiu de quatro amostras de gordura cavitária de tambaqui Colossoma macropomum, coletadas em datas esparsas, sendo duas no ano de 1977, (junho e outubro) e as outras em fevereiro e abril de 1978.

III.1.1 - PREPARO DAS AMOSTRAS

Dos exemplares de tambaqui abertos em banda para a comercialização no Mercado Municipal de Manaus, se retirou a gordura cavitária, levando-se ao laboratório do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, onde foi fundida e transportada de avião para Campinas.

O tempo levado desde a coleta e transporte das amostras para Campinas variou de 4 - 17 dias em temperatura ambiente, porém em Campinas, conservamos em refrigerador doméstico até efetuarmos as determinações.

Devemos salientar que a última amostra de 1.500 gramas com a qual realizamos os testes sensoriais e de estabilidade, foi coletada e mantida em refrigerador por quatro dias e transportada para Campinas em gelo.

Esta amostra permaneceu por mais 25 dias em refrigerador para ser fundida da maneira já mencionada, para em seguida ser desodorizada à temperatura de 180°C por três horas, sob vácuo de trompa e vapor direto. Após esta operação a amostra recebeu o tratamento conforme mostra a figura VII e encaminhada ao laboratório

de análise sensorial, onde foi efetuada fritura de batatinhas, as quais foram servidas a uma equipe de provadores que as testaram contra outra amostra de batatinhas fritas em óleo de soja comercial, tido como padrão.

III.1.2 - DETERMINAÇÕES QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS

III.1.2.1 - CROMATOGRAFIA DE GÁS

A identificação dos ácidos graxos foi realizada por intermédio de dois tipos de cromatógrafos:

- Cromatógrafo nacional CG15 equipado com detector de condutividade térmica (DCT);
- Cromatógrafo Perkin-Elmer mod. 990 equipado com detector de ionização de chama (DIC).

A coluna usada para ambos cromatógrafos tinha três metros de comprimento, constituída de polietileno glicol succinato (PEGS), 1/8", 17,5 Cr.W. e 80/100.

A identificação dos ésteres metílicos foi feita através de padrões adquiridos na Applied Science Laboratories Inc.

III.1.2.2 - INDICES DE QUALIDADE

- Índice de refração - Determinado no refratômetro Abbe a temperatura de 40°C;
- Ponto de fusão - Aparelho Mettler PF5
- Densidade - Balança Mettler H31 e picnômetro de 25 ml.

- Índice de saponificação - Segundo método AOCS (3g)
- Cor - Determinou-se com auxílio do tintômetro Lovibond, The tintometer Ltda. Salisbury - England;
- Gordura - Determinamos pelo aparelho Goldfish do LabConCo model 3500 serial e pelo método segundo Bligh & Dyer (5).
- Rancidez oxidativa pelo TBA - Usou-se espectrofotômetro Carl Zeiss PM QII 86743.

Para as demais determinações foi usado equipamento , vidrarias e substâncias químicas normais de laboratório.

III.1.2.3 - TESTES DE ESTABILIDADE

As amostras retiradas de acôrdo com o esquema da figura VII foram divididas em:

- T - A = 1ª Testemunha - Retirada da gordura apenas fundida, sem qualquer tratamento.
- T - B = 2ª Testemunha - Retirada após a desodorização da gordura sem adição de antioxidante.
- B H A = Amostras às quais foi adicionado antioxidante, butilato hidroxianisol (BHA), a 0.01% do peso e separadas em 14 amostras, sendo 12 para a avaliação semanal através dos índices de peróxido e TBA (ácido 2-tiobarbitúrico). Estas amostras foram embaladas em vidros pequenos de mais ou menos 6 gramas e protegidas da luz por fita gomada opaca . As outras duas amostras de 200 gramas cada, uma foi enviada imediatamente ao laboratório de análise sensorial e a

outra embalada a 60°C em frasco tipo "Baby food", protegida da luz por papel de alumínio e deixada na prateleira à temperatura ambiente para o segundo teste sensorial realizado após 94 dias. Devemos salientar que retiramos uma amostra de 200 gramas do óleo de soja, aquecemos a 60°C e embalamos nas mesmas condições, a qual se destinou às frituras do segundo teste sensorial.

P G = A estas amostras foi adicionado antioxidante propil galato (PG) a 0.01%; receberam o mesmo tratamento e divisões do que amostra anterior (BHA).

III.1.2.4 - TESTE SENSORIAL

Foram feitas duas provas de cada teste, isto é, ao primeiro dia após a desodorização e aos 94 dias, fritando-se batatinhas em gordura de peixe e comparando com amostras de batatinhas fritas em óleo de soja comercial (padrão).

As batatinhas foram descascadas à mão e cortadas à máquina uniformemente. A gordura para cada tratamento (BHA e PG) foi adicionada em beckeres de 1000 ml, os quais eram levados ao fogo até atingir a temperatura de 170°C, quando então se adicionava as batatinhas.

As batatinhas fritas eram servidas aos provadores em beckeres de 20 ml, nas cabines individuais com luz fosca para evitar que os provadores pudessem sofrer qualquer influência de diferença de coloração entre as amostras.

A distribuição das amostras foram feitas em blocos ao acaso, tanto para a gordura do tambaqui, quanto para o padrão.

III.2. - MÉTODOS

III.2.1.- Desodorização da gordura.

A gordura fundida foi submetida a uma única operação, a desodorização, cujo método normalmente empregado na indústria de óleos vegetais consiste em aplicar alta temperatura, vapor direto e vácuo. A duração da operação foi de três horas a 180° C, como já havia empregado CROSSLEY (9), porém aplicamos um condensador entre a trompa e o aparelho mostrado na Fig. VI, com a finalidade de melhorar o vácuo.

III.2.2. - Preparo da amostra para cromatografia de gás líquido.

A metilação da amostra, tanto da gordura desodorizada quanto da "in natura" foi feita pelo método (3i), sendo que o método Ce 1 - 62 foi usado apenas para cromatógrafo nacional CG15. O método Ce 2 - 66 foi adaptado às nossas condições de trabalho ficando do seguinte modo:

III.2.2.1 - PREPARO DOS ESTERES METILICOS

- Pesar 100 mg da amostra em um tubo de ensaio de 50 ml com tampa;
- Adicionar 4 ml de solução 0,5 N de hidróxido de sódio em metanol;
- Aquecer o tubo fechado em água fervente até obter uma solução transparente;
- Esfriar o tubo até temperatura ambiente;

- Juntar 5 ml do reagente BF₃, fechar o tubo e colocar na água fervendo por dois minutos, esfriando-se o mais rápido possível em água corrente.

III.2.2.2 - EXTRAÇÃO DOS METIL ESTERES

- Adicionar 3-4 ml de uma solução saturada de cloreto de sódio, agitando;
- Juntar 6-8 ml de heptano e agitar com força;
- Deixar em repouso para separar as duas fases. A superior é a solução de metil ésteres para ser injetada ao cromatógrafo.

Para identificação dos ácidos graxos componentes das amostras, tanto da gordura cavitária quanto da muscular, usou-se padrões da Applied Science Laboratories, comparou-se os logaritmos do tempo de retenção (tr) Quadro 5, bem como foi feita a confirmação empregando a técnica de identificação por tentativa.

III.3 - DETERMINAÇÕES QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS

- 1 - Índice de refração - Realizado pelo método AOCS(3);
- 2 - Ponto de fusão - Determinado com auxílio de equipamento da Mettler PF5 da seguinte maneira:
 - Colocar o aparelho na temperatura em que a amostra ainda esteja sólida;
 - Com auxílio de uma espátula, espalhar em uma lâmina de vidro comum, pequena porção da amostra, introduzi-la na câmara de aquecimento e ligar o aparelho em velocidade que permita observar com precisão;

- Verificar através da objetiva quando inicia a fusão e registrar;
- Continuar a observar, em velocidade de aquecimento menor até completa fusão da amostra e desligar.
- 3 - Índice de saponificação - Método AOCS (3g);
- 4 - Materia insaponificável - Método AOCS (3c e h)
- 5 - Índice de peróxido - Método AOCS (3e)
- 6 - Índice de iodo - Método AOCS, segundo WIJS(3f)
- 7 - Índice de acidez - Método AOCS(3b)
- 8 - Percentagem de ácidos graxos livres-AOCS(3d)
- 9 - Cor (Lovibond) - Método AOCS (3a)
- 10 - Densidade - Método AOCS (3j)
- 11 - Rancidez oxidativa pelo método TBA - YU & SINHUBER (56) modificado para nossas condições de trabalho, conforme procedimento abaixo:
 - Pesar 0,5 - 1,0 grama de amostra e colocar em um balão de fundo chato de 250 ml, com boca esmerilhada.
 - Juntar 5 ml de reativo TBA + 5 ml de água destilada + 5 ml de HCl 0,6 N + 10 ml de solução de ácido tricloroacético (TCA) e juntar 5 gotas de antioxidante 0,01% BHA em clorofórmio.
 - Conectar ao condensador, colocar o balão em banho de água fervente e deixar em refluxo por 30 minutos, contando o tempo a partir do momento em que colocar o balão no banho.
 - Após os 30 minutos, juntar através do condensador, 35 ml, HCl 0,6 N e 40 ml de água destilada agitando

- várias vezes e continuar no banho fervente por mais dez minutos.
- Filtrar o conteúdo total em filtro de papel dentro de um frasco de 25-30 ml descartando as primeiras porções do filtrado, aproveitando apenas a última porção para a leitura no espectrofotômetro a 535 nm, usando cubeta de 1 cm de passo.
 - Realizar um teste em branco que deverá dar a leitura entre 0.003 a 0.01 de absorbância.
 - Cálculo:

$$\text{Valor TBA} = \frac{\text{Absorbância} \times 46}{\text{peso da amostra}} = \frac{\text{ml de aldeido malônico}}{100 \text{ gramas da amostra}}$$

- 12 - Determinação da gordura no músculo de tambaqui pela extração no aparelho Goldfish
- Do músculo bem homogeneizado pesar 5 gramas em fôrmas de alumínio previamente tarada.
 - Levar à estufa a 105°C mais ou menos 17 horas. Retirar e deixar esfriar em dessecador. Pesar e calcular a umidade;
 - Triturar a amostra seca, pesar mais ou menos 1,0 grama e colocar no tubo poroso, tapar a boca do tubo com algodão (plugear), colocar no tubo de vidro sem fundo e levar ao aparelho. Extrair com hexana durante quatro horas, evaporar o solvente e pesar o extrato;
 - Cálculo:

$$\frac{\text{Peso da gordura} \times 100}{\text{Peso da amostra}} = \% \text{ de gordura na amostra}$$

- 13 - Ponto de fumaça - Determinado pelo mesmo método usado por ANTUNES (2) o qual consta do seguinte:
- Em becker de 20 ml colocar a amostra de gordura e levar a uma placa aquecedora;
 - Colocar um termômetro pendente com bulbo dentro da gordura;
 - Observar a elevação da temperatura tendo o cuidado de deixar o campo bem iluminado, com um fundo escuro por trás para facilitar a melhor visualização;
 - Registrar a temperatura quando sair a primeira porção de fumaça. Esta técnica deverá ser realizada no mínimo em duplicata.
- 14 - Extração da gordura no músculo útero de acordo com o método de BLIGH & DYER (5).

III.4 - TESTES SENSORIAIS

Com objetivo de verificarmos se a gordura do tabaqui desodorizada e com adição de antioxidante poderia ser usada em fritura, testou-se contra óleo de soja comercial, utilizando-se uma equipe de dez provadores, os quais receberam uma amostra prévia do produto a fim de que pudessem se adaptar ao sabor e posteriormente julgá-lo.

Foram testados os efeitos de tratamento e repetição na gordura e no óleo nas seis frituras realizadas pela manhã e à tarde, em dias não consecutivos para primeira série de ensaios e em dias consecutivos para a segunda. Para os dois testes foi feita a avaliação de preferência de sabor usando uma escala de categoria não estruturada, decimal onde 10 representava "gostei muitíssimo" e 1 "desgostei muitíssimo", cujo modelo é mostrado na Fig. X.

O delineamento estatístico empregado foi Blocos Completos com seis repetições. A equipe para a primeira série de ensaio foi constituída de quatro homens e cinco mulheres. Para a segunda série de ensaio foram cinco homens e cinco mulheres.

Aos resultados obtidos foi aplicado Análise de Variância e para as médias aplicou-se o teste de Dunnett. O método da escala de Categoria não Estruturada foi adotado para ambas avaliações, tanto no teste do dia zero após a desodorização, como aos 94 dias após esta.

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1 - ÍNDICE DE QUALIDADE

Verificando os dados apresentados no Quadro 4 e comparando-os à literatura se conclui que a gordura cavitária do tambaqui não difere muito dos óleos e gorduras vegetais. Contudo diferenças bem significativas existem entre esta gordura originária de peixe de água doce e óleos de peixe marinho. Por exemplo, o índice de Iodo que para as espécies de mar geralmente varia de 116-202(50), apresentou média de 80. O índice de acidez que pode variar consideravelmente para outros tipos de óleos, apresentou uma variação relativamente pequena e uma média baixa para gordura cavitária de tambaqui. O ponto de fusão também foi alto (37°C), dando a gordura uma consistência semi-sólida à temperatura ambiente.

IV.2 - COMPOSIÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos componentes da gordura cavitária e muscular do tambaqui foram identificados comparando os logaritmos do tempo de retenção (tr) do padrão, conforme se verifica no Quadro 5, com os logaritmos do tempo de retenção das amostras, no entanto, foi realizada a confirmação por tentativa injetando-se ésteres metílicos obtidos de ácidos graxos puros, o que nos garantiu saber que ambas gorduras estudadas não apresentaram os componentes graxos típicos de pescado de água salgada, C20:5 e C22:6.

Fazendo-se uma apreciação no Quadro 6 e comparando à literatura, pode-se constatar que a composição dos ácidos graxos da gordura cavitária do tambaqui, varia segundo a época do ano, porém em todas as amostras os principais ácidos graxos foram: palmítico,

esteárico e oleico. A diferença entre a composição em ácidos graxos das amostras se deve a alimentação ingerida, conforme já mencionou FARKAS(13). Deste modo, pode-se verificar que a terceira amostra analisada apresentou ácidos graxos de maior comprimento da cadeia de carbonos, por que é justamente naquela época que os peixes se alimentam quase que exclusivamente de microcrustáceos planctônicos (17).

Comparando a composição dos ácidos graxos da gordura cavitária e muscular do tambaqui, algumas diferenças qualitativas e quantitativas podem ser notadas. Os ácidos graxos principais foram os mesmos, porém a gordura muscular apresentou ácidos graxos de maior comprimento de cadeia.

Quando se relaciona a gordura cavitária "in natura" e desodorizada Quadro 7, pode-se constatar que houve substancial aumento dos ácidos graxos saturados, (37,79% para 53,50%) após a desodorização, isto leva a concluir que a gordura apresenta instabilidade térmica. No entanto esta observação carece de estudos mais detalhados para sua ratificação.

IV.3 - TESTE DE ESTABILIDADE

Observando os Quadros 8 a 10, o método TBA aparece como melhor teste para avaliar a rancidez oxidativa da gordura estudada. Os valores de TBA apresentaram-se com inclinação definida (crescente), enquanto que os valores de peróxido foram irregulares, além disso o método de TBA demonstrou maior sensibilidade como mostra claramente o Quadro 10.

Os valores de TBA de um modo geral apresentaram curvas típicas esperadas para gorduras e óleos comestíveis (Figura VIII) as quais apresentam um período de indução, seguido por um aumento rápido de ran

cidez e de uma descida da curva. Esta curva não foi bem evidenciada nos valores de peróxido (Figura IX), exceto no caso de amostra não desodorizada (T - A). Ambos métodos TBA e valor de peróxido mostraram que o desenvolvimento da rancidez oxidativa foi mais rápido nas amostras desodorizadas que na amostra sem desodorizar, o que vem indicar a destruição dos antioxidantes naturais pela desodorização.

Com relação ao valor de TBA foi recomendado por VALÊNCIA e SANAHUJA (53) 8-9 meq de oxigênio peróxido/kg de amostra , como limite de aceitabilidade para tres espécies de peixe que eles estudaram. Se usarmos o mesmo critério para a gordura do tambaqui, já que não existe um nível universalmente recomendado,

podemos dizer que o limite de aceitabilidade foi atendido em 42 dias para a amostra não desodorizada e um pouco antes para a amostra desodorizada. Quanto ao valor de peróxido o limite recomendado pela Comissão do Codex Alimentarius(10) é de 10 meq de oxigênio peróxido por kg de gordura. Esse valor foi alcançado em torno de 50 dias para amostra T-A, e em apenas 21 dias para amostra T-B.

Com relação a efetividade dos antioxidantes empregados, BHA e PG, ambos foram satisfatórios. De fato se pode concluir que a gordura poderia se conservar bem mais tempo do que durou o teste, porque após 77 dias tanto o valor de TBA como o valor de peróxido não alcançaram o limite de aceitabilidade.

IV.4 - TESTES SENSORIAIS

A moderna análise sensorial é imprescindível quando se quer avaliar produto novo para se conhecer suas qualidades ou com o fim de introduzi-lo no comércio, tendo esse produto condições de aceitabilidade pelo público consumidor e que pelas suas qualidades se sobreponha aos concorrentes.

Recorremos ao pessoal especializado do laboratório de análise sensorial da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, para elaborar os dois testes sensoriais da gordura de tampaqui com a finalidade de saber a preferência de sabor dos provadores consumindo batatinhas fritas em óleo de soja (padrão), testemunha A e em gordura de tampaqui tratamento B, tendo antioxidante butilato hidroxianisol (BHA) e o tratamento C, contendo propil galato (PG), logo após a desodorização da gordura e com 94 dias após.

1. Época inicial - Os resultados da primeira série de testes representam valores médios das preferências de 54 determinações e estão representados no Quadro 11.

Os resultados da análise de variância para os testes iniciais mostraram que houve diferença entre tratamentos ao nível de significância de 1%.

Aplicou-se o teste de Dunnett para médias das repetições ao nível de significância de 1% para os tratamentos com o padrão, e encontrou-se um valor crítico de $\Delta = 0,71$ ao nível de significância de 5% e $\Delta = 1,03$ para significância de 1%. Não houve diferença significativa entre repetições (frituras).

A testemunha A (padrão) foi preferida às B e C, ao nível de significância de 1%, obteve média de 7,24 da escala pré-determinada de 10 pontos. Já os tratamentos B e C não diferiram entre si, alcançaram média de 5,19 e 5,51 respectivamente, localizando-se portanto, na parte central da escala que corresponde à faixa de indiferença, isto é, "nem gostei" "nem desgostei".

2. Época final - As amostras de gordura de tampaqui desodorizada receberam as mesmas denominações dadas na primeira série do ensaio, isto é, tratamento B com antioxidante BHA; C com antioxidante PG e o óleo de soja comercial (padrão) foi denominado de A.

No Quadro 12 encontram-se os valores médios da preferência de 10 provadores com seis repetições que fazem, portanto, um total de 60 determinações. Também para esta série de ensaios empregou-se o método de Escala de Categoria não Estruturada para preferência.

Comparando os resultados do Quadro 12 com os resultados obtidos na primeira série de ensaios (Quadro 11), verifica-se que houve uma queda nos valores médios da testemunha A (padrão) e, aumento das respectivas médias para o tratamento B e C.

Do mesmo modo que para a primeira série, a testemunha A ainda foi mais preferida que os tratamentos B e C ao nível de significância de 5%. Para estes tratamentos não houve diferença significativa para o referido nível, conforme se constatou pela análise de variância através do teste de Dunnett.

O resultado da análise de variância da época final também nos revelou não haver diferença entre as repetições (frituras) ao nível de significância de 1 e 5%, isto é, não houve alteração na preferência dos provadores que degustaram as amostras de batatinhas fritas na mesma gordura até a sexta repetição, embora os provadores ainda preferissem o padrão que obteve média 6,84 na escala pré-estabelecida.

O tratamento B (com BHA) alcançou média 6,10 e o C (com PG) média 6,00, não diferindo portanto entre si, entretanto subiram um ponto na escala alcançando o grau "gostei".

Observando os resultados individuais dos provadores nas épocas inicial e final dos testes sensoriais dividiu-se a equipe em dois grupos:

GRUPO 1 (33 % da equipe) - Encontram-se as médias daqueles provadores que preferiram o padrão;

GRUPO 2 (60 % da equipe) - Encontram-se as médias daqueles provadores que não demonstraram preferência entre o padrão e as

amostras de gordura de tabaqui em ambas épocas do estudo, inicial e final, conforme pode ser observado pelas médias dos tratamentos no Quadro 13.

Contudo vale salientar que na época final dos ensaios sensoriais aos 94 dias após a desodorização da gordura do tabaqui, a preferência pelo padrão decresceu e houve ligeiro aumento nas médias de preferência dos tratamentos B e C, 1 e 0,5 pontos respectivamente.

QUADRO 1:

PRODUÇÃO DAS PRINCIPAIS ESPÉCIES CAPTURADAS E DESEMBARCADAS EM MANAUS

= EM TONELADA =

ESPÉCIES	1970	1971	1972	1973	1974	1975	1976 ⁺
Tambaquí	3.918	4.739	4.473	3.077	5.522	12.742	13.607
Jaraquí	2.589	1.712	2.590	3.089	3.662	5.012	4.925
Curimatã	2.111	901	967	1.927	1.589	3.075	3.444
Pacú	518	1.246	996	357	901	1.790	1.624
Tucunaré	344	257	325	286	489	1.893	914
Pirapitinga	332	179	68	293	475	784	1.510
Sardinha	206	381	289	144	433	1.069	704
Matrinchã	238	239	65	571	546	1.927	1.047
Pirarucu	147	62	28	91	135	566	168
Pescada	75	107	177	101	133	662	274
Acará-açu	26	42	32	45	100	289	159
Branquinha	63	134	211	242	199	237	539
Aracu	-	50	381	60	156	525	632
Peixes Diversos	292	1.081	542	255	406	1.260	1.283
T O T A L	10.859	11.130	11.144	9.538	14.746	31.831	30.830

Fonte: Colonia de pescadores Z-2 de Manaus-Amazonas 70/75

+ Dados coletados de Petreire JR (40).

IMPORTAÇÃO DE GORDURA E ÓLEOS COMESTÍVEIS DESEMBAR-
CADOS NO PÔRTO DE MANAUS, EM TONELADAS

ESPÉCIE	1975	1976
Banha	5,0	20,0
Óleos vegetais	6.140,0	5.856,0
Óleos animais(N.E.) [§]	451,0	276,0
Azeite de oliveira	163,0	120,0
TOTAL	6.759,0	6.272,0

§ N.E. : Não especificado

FONTE : Coleta direta na administração do Pôrto de Manaus

QUADRO 3 :

DETERMINAÇÃO DA GORDURA MUSCULAR DO TAMBAQUI

MÉTODO	VALOR LIMITE
GOLDFISH	2,81 - 3,40
BLIGH & DYER	2,39 - 4,88

Obs. : Amostra coletada em 08.04.78
no Estado do Amazonas

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA GORDURA
CAVITÁRIA E MUSCULAR DO TAMBAQUI

DETERMINAÇÕES	VALOR LIMITE		MÉDIA
% de ácidos graxos livres	0,07	- 1,09	0,38(7)
Índice de acidez	0,14	- 2,16	0,75(7)
Índice de iodo	60,0	- 96,0	80,0 (7)
Índice de peróxido	0,84	- 4,79	3,22(7)
Índice de refração (40°C)	1,46016	- 1,46615	1,4627(6)
Índice de saponificação	191,89	- 194,0	192,94(2)
Matéria insaponificável	0,64	- 0,88	0,64(3)
Densidade	0,917g/ml		0,917 g/ml(1)
Ponto de fusão	27,5	- 45 °C	36,89 °C (6)
Ponto de fumaça	173 °C		173 °C(1)
TBA (mg aldeído malônico/1000g)	0,28	- 14,01	3,34 (7)
Cor (Lovibond) Cubeta 1"	10 A	, 3 V	10 A , 3 V (1)
Gordura muscular Bligh & Dyer §	2,39	- 4,88	3,10 (2)
Gordura muscular Goldfish §	2,81	- 3,4	3,63 (2)
Umidade muscular (105 °C)	75,89	- 79,10	78,34 (3)

§ = Gordura muscular expressa na base úmida

Obs. = Estes valores foram obtidos das diferentes amostras

NOTA: Os números entre parênteses indicam quantas vezes foram feitas as análises nas diferentes amostras.

QUADRO 5 :

COMPARAÇÃO ENTRE OS LOGS. DO TEMPO DE RETENÇÃO (tr)
DO PADRÃO COM OS LOGS. DO tr DA AMOSTRA DOS ESTERES
METILICOS DA GORDURA CAVITÁRIA DO TAMBAQUI

Ac. GRAXOS	PADRÃO (tr)	AMOSTRA (tr)
C8 :0	0,154	...
C10:0	0,380	...
C12:0	0,653	0,653
C14:0	0,934	0,939
C16:0	1,233	1,230
C18:0	1,526	1,525
C18:1	1,558	1,555
C18:2	1,627	1,628
C18:3	1,724	1,725
C20:0	1,817	1,816

=====

CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO:

Coluna = PEGS; Sensitividade = 16 X 10

Quantidade de amostra injetada = 2 μ l; FLUXOS

{ N₂ = 22ml/min.
 H = 35ml/min.
 Ar = 30 psig/min.

TEMPERATURAS { Detector = 235 °C
 Vaporizador = 225 °C
 Coluna = 185 °C

COMPOSIÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS DA GORDURA CAVITÁRIA (%)
DO TAMBAQUI NAS DIFERENTES ÉPOCAS

Ác. GRAXO	1º(03.06.77)	2º(16.10.77)	3º(08.02.78)	4º(08.04.78)
C12:0	1.58	0.35	0.38	0.48
C13:0	...	0.08	0.07	0.21
C14:0	1.08	2.02	1.93	3.01
C14:1	0.25	0.19
C15:0	...	0.24	0.96	1.22
C15:1	...	0.07
C16:0	26.28	26.29	26.55	24.36
C16:1	9.18	5.29	5.39	8.82
C17:0	...	0.98	0.46	1.06
C17:1	...	0.12	0.88	0.19
C18:0	8.48	12.56	11.75	9.46
C18:1	31.35	25.53	26.74	34.46
C18:2	12.34	18.12	19.26	11.26
C18:3	9.70	7.39	3.28	4.66
C19:0	0.55	0.56
C20:0	0.73	...
C20:1	0.32	...
C20:2	0.38	...
Saturados	37.42	42.52	43.38	40.36
Monoinsaturados	40.53	31.01	33.58	43.66
Polinsaturados	22.05	25.51	22.92	15.92

Obs. : A composição dos ácidos graxos na primeira determinação foi efetuada no cromatógrafo nacional CG15 da Instrumentos Científicos CG Ltda.

COMPOSIÇÃO PERCENTUAL MÉDIA DOS ÁCIDOSGRAXOS DA GORDURA DO TABAQUI

Ác. Gr.	A	B	C
C10:0	Tra
C12:0	0.15	0.35	6.52
C13:0	0.02	0.16	0.55
C14:0	0.70	2.05	13.68
C14:1	...	0.20	0.18
C15:0	0.30	1.04	0.33
C15:1	0.01	0.04	...
C16:0	19.03	21.04	22.16
C16:1	4.40	8.00	4,5
C17:0	0.42	0.98	0.36
C17:1	0.10	0.11	0.07
C18:0	13.95	11.14	8.47
C18:1	43.75	34.42	31.77
C18:2	12.60	14.78	6.76
C19:0	0.06	...	0.45
C18:3	0.98	3.90	2.61
C18:4	...	0.42	...
C20:0	0.84	1.03	0.98
C20:1	0.95	...	0.08
C20:2	0.44	0.22	0.39
C20:3	0.15
C20:4	1.03
SATURADOS	35.47	37.79	53.50
MONOINSATURADOS	49.21	42.77	36.60
POLINSATURADOS	15.20	19.32	9.76

=====
A = Gordura muscular "in natura"

B = Gordura cavitária "in natura"

C = Gordura cavitária desodorizada

Tra = Chama-se traço quando o valor for inferior a 0,01%

QUADRO 8.

DETERMINAÇÕES DO VALOR DE TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) NO TESTE DE ESTABILIDADE DA GORDURA DO TANGAQUI

dias amostra	dias											
	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77
T - A	4.00	3.64	2.16	3.58	5.18	5.90	8.00	10.46	11.64	17.47	18.32	17.87
T - B	3.39	3.10	3.41	6.26	7.09	7.27	12.67	13.78	18.24	25.57	20.83	19.72
B H A	1.24	0.70	1.38	2.60	3.08	3.91	5.27	5.03	5.19	5.69	4.24	1.18
P G	0.62	0.73	1.77	2.03	4.63	5.70	3.56	3.11	3.29	3.30	3.40	1.58

TBA = mg de aldeido malônico/1000 gramas de amostra

OBS.: Estes valores, bem como os apresentados no Quadro 9., podem ser melhor visualizados nas figuras IX e VIII, páginas 81 e 82 respectivamente.

QUADRO 9:

DETERMINAÇÕES DO ÍNDICE DE PEROXÍDO (VP) NO TESTE DE ESTABILIDADE DA GORDURA DE TAMBORQUI

Dias / Amostra	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77
T - A	1.07	1.00	1.00	2.45	4.03	4.5	6.78	9.54	17.19	27.12	32.66	34.96
T - B	1.08	1.00	1.00	12.59	15.02	13.15	17.63	28.53	28.74	28.57	31.82	44.28
D H A	0.00	0.27	1.01	1.03	4.22	4.01	2.73	6.75	4.79	3.45	5.73	1.93
P G	0.00	0.32	1.00	1.00	4.04	4.02	4.06	6.8	3.57	2.92	2.12	0.99

VP = meq de oxigênio peróxido / kg de gordura.

QUADRO 10 :

DETERMINAÇÕES DO ÍNDICE DE PEROXIDO (VP) E
TBA (ácido tiobarbitúrico) NO ÓLEO DE SOJA
COMERCIAL E NA GORDURA DE TAMBAQUI

AMOSTRA	2 h após fritura de batatas		26h após fritura	
	TBA	VP	TBA	VP
ÓLEO DE SOJA	0,90	0,00	4,23	28,46
GORDURA COM BHA	1,24	0,00	4,60	16,27
GORDURA COM PG	0,62	0,00	5,69	8,12

OBS. : Determinações efetuadas após a realização do primeiro teste sensorial.

VALORES MÉDIOS DA PREFERÊNCIA DE PROVADORES NA
AValiaÇÃO DA GORDURA DE TAMBAQUI IMEDIATAMENTE
APÓS A DESODORIZAÇÃO

REPET.	TRATA/OS			TOTAL	MÉDIA
	A	B	C		
I	7.17	5.11	4.11	16.39	5.46
II	6.97	4.47	5.04	16.48	5.49
III	7.84	5.94	6.03	19.81	6.60
IV	7.48	5.24	6.15	18.87	6.29
V	6.65	5.35	4.81	16.81	5.60
VI	7.38	5.05	6.93	19.36	6.45
TOTAL	43.49	31.16	33.07		
MÉDIA	7.24	5.19	5.51		

A = Óleo de soja comercial

B = Gordura de peixe com antioxidante BHA

C = Gordura de peixe com antioxidante propil galato

O tratamento A difere de B a 1 %

O tratamento A difere de C a 1 %

O tratamento B não difere de C

$$\begin{array}{l}
 A = 7.24 \\
 B = 5.19 \\
 C = 5.51
 \end{array}
 \left. \begin{array}{l}
 \\
 2.05 \\
 0.32
 \end{array} \right\} 1.73$$

TESTE DE DUNNETT :

$$\Delta \alpha = 0.05 = 0.71$$

$$\Delta \alpha = 0.01 = 1.03$$

VALORES MÉDIOS DA PREFERÊNCIA DE PROVADORES NA
AVALIAÇÃO DA GORDURA DE TABAQUI 94 DIAS APÓS
A DESODORIZAÇÃO

TRATA/os REPET.	A	B	C	TOTAL	MÉDIA
I	7.41	5.44	5.05	17.90	5.96
II	6.53	6.76	6.91	20.20	6.73
III	6.78	6.63	6.46	19.87	6.62
IV	7.42	6.29	5.83	19.54	6.51
V	6.48	5.89	5.83	18.20	6.06
VI	6.44	5.64	5.93	18.01	6.00
TOTAL	41.06	36.65	36.01		
MÉDIA	6.84	6.10	6.00		

MÉDIAS :

A = 6.84	}	0.74	}	0.84
B = 6.10				
C = 6.00				

O Tratamento A difere de B a 5%
 O Tratamento A difere de C a 5%
 O Tratamento B não difere de C

- A = Óleo de soja comercial
- B = Gordura de peixe com antioxidante BHA
- C = Gordura de peixe com antioxidante propil galato

VALORES MÉDIOS DE PREFERÊNCIA QUANDO A EQUIPE
DE PROVADORES FOI ANALISADA EM DOIS
GRUPOS DISTINTOS

TRATAMENTOS	ÉPOCA INICIAL		ÉPOCA FINAL	
	Grupo I(a)	Grupo II(b)	Grupo I(c)	Grupo II(b)
A	7.83	6.79	7.20	6.59
B	4.32	5.61	5.46	6.52
C	4.88	6.14	5.78	6.14

- a) - Média de três provadores
- b) - Média de seis provadores
- c) - Média de quatro provadores

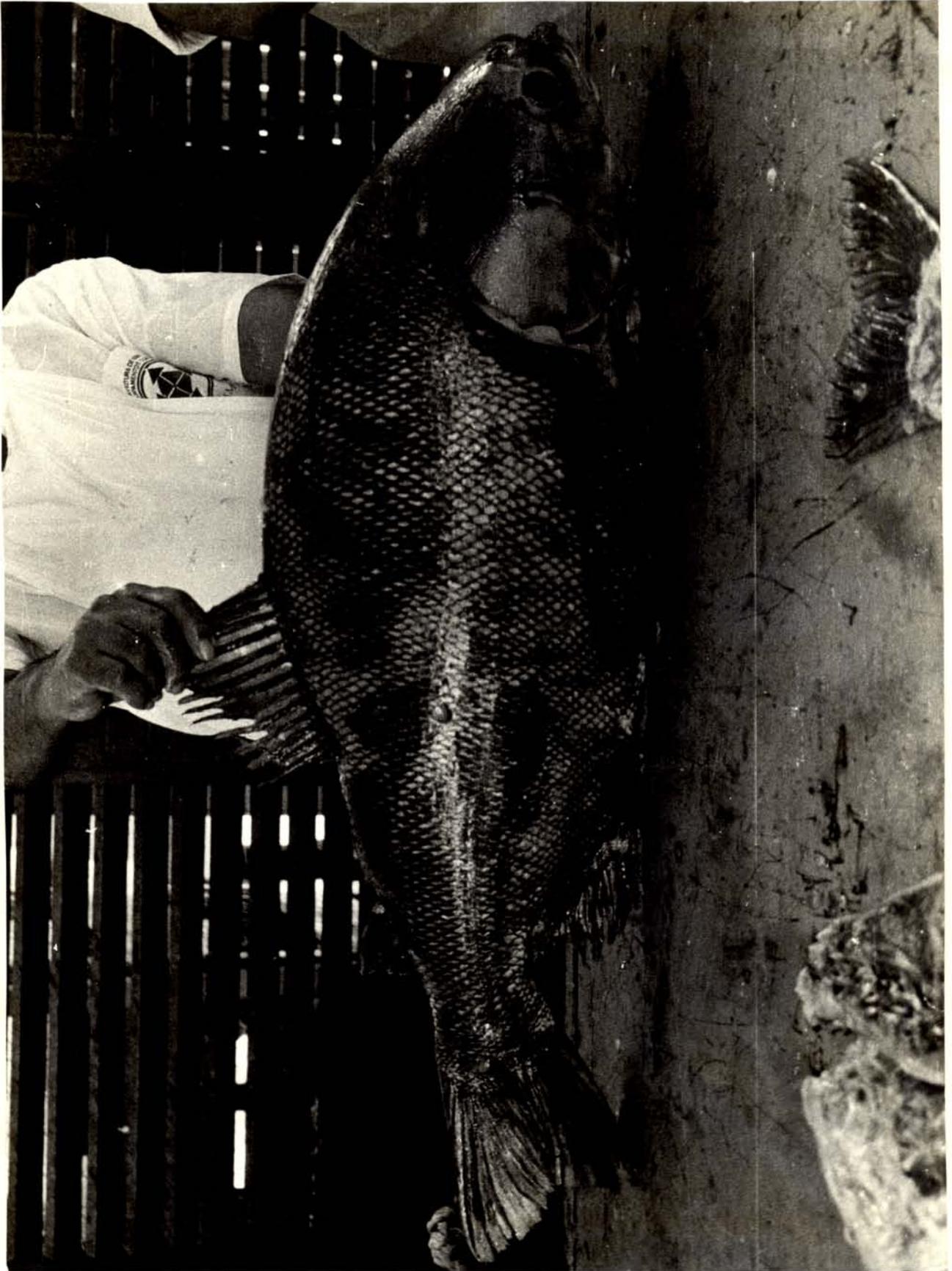


Foto efetuada em 08/04/78 por ocasião da comercialização na feira coberta de Manaus - Alvorada I.

Banda de tabaqui evidenciando a gordura cavitária após evisceração em exemplar pesando cerca de 16 kg.



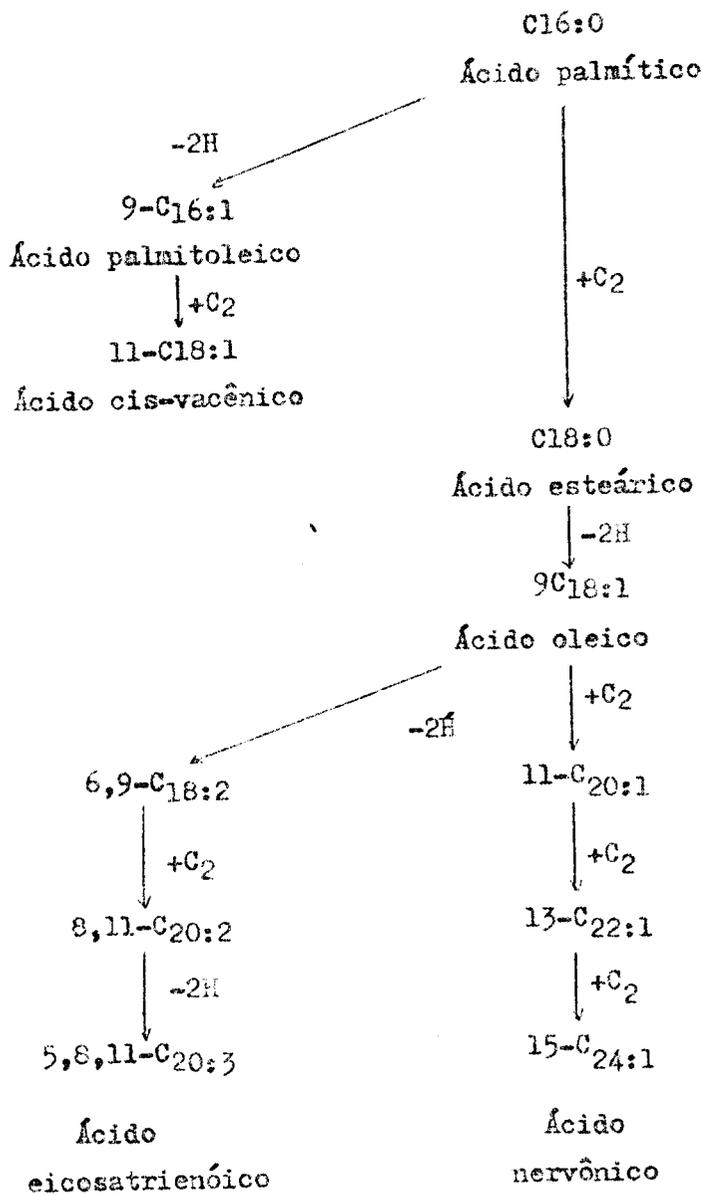
Foto efetuada em 25/07/78 por ocasião da comercialização no mercado municipal de Manaus : Amazonas.

Foto: Bárbara

FORMAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS

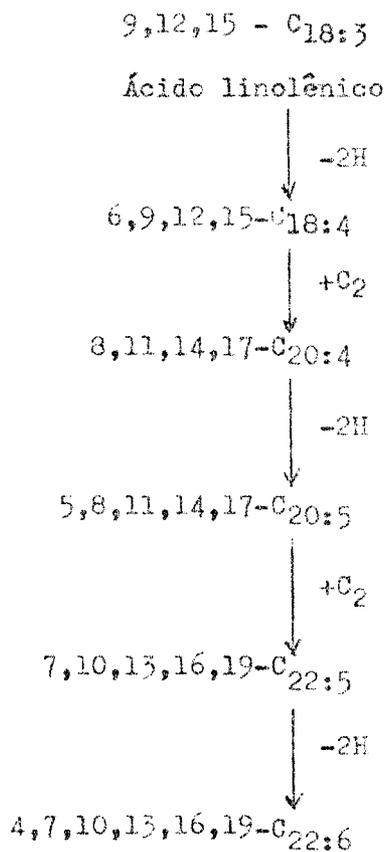
A PARTIR DE ÁCIDO PALMÍTICO

Essas transformações, bem como as indicadas nas fig.IV e V, ocorrem com os ésteres de CoA dos ácidos graxos indicados. Nos símbolos indicados para os ácidos graxos, o número prefixo indica a posição das duplas ligações. O primeiro índice indica o número de átomos de carbono na cadeia e o segundo indica o número de duplas ligações.



ESQUEMA QUE EVIDENCIA A FORMAÇÃO DOSÁCIDOS GRAXOS TÍPICOS DEPESCADO

Nos símbolos indicados para os ácidos graxos, o número prefixo indica a posição das duplas ligações, o primeiro índice indica o número de átomos de carbono na cadeia e o segundo indica o número de duplas ligações.

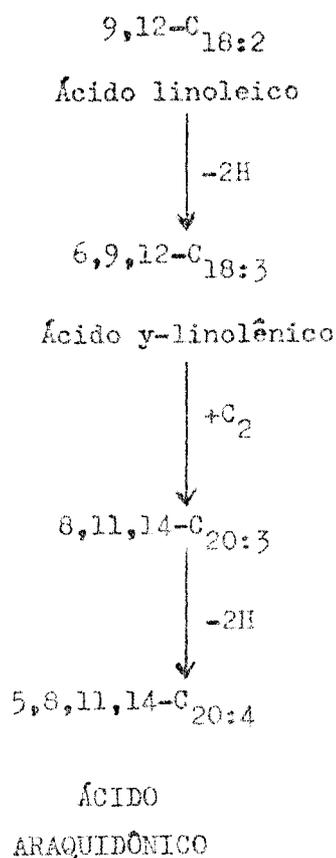


ÁCIDO

DOCOSAHEXAENOÍCO

FIGURA V :

ESQUEMA QUE EVIDENCIA A SÍNTESE DO ÁCIDO
ARAQUIDÔNICO PRECURSOR DE PROSTAGLANDINAS



FONTE : LEHNINGER, v.3/1976 p.470 (31)

OBS. : Sobre explicação dos índices ver fig. III

G. VI - ESQUEMA DO APARELHO DE DESODORIZAÇÃO .

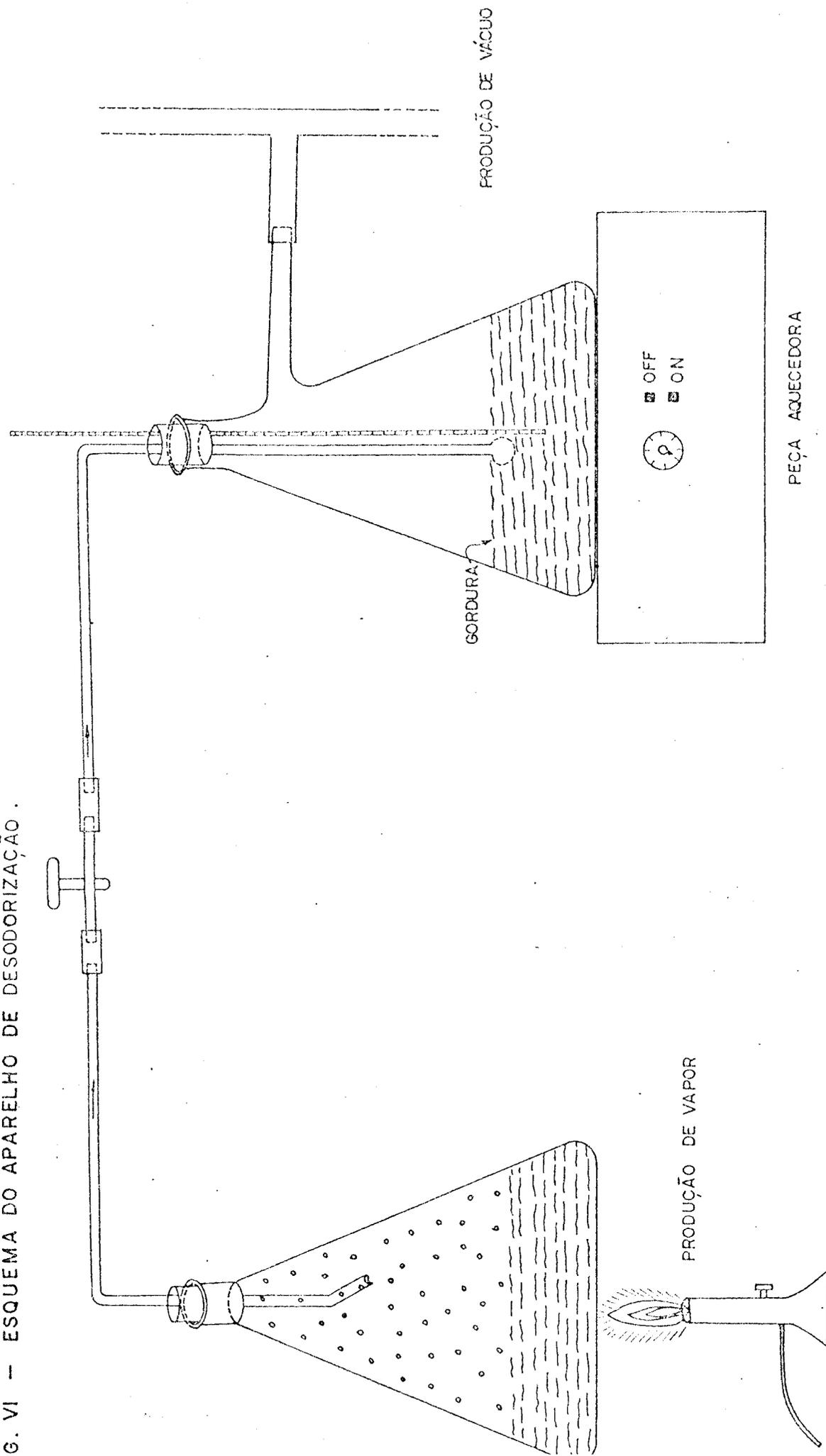


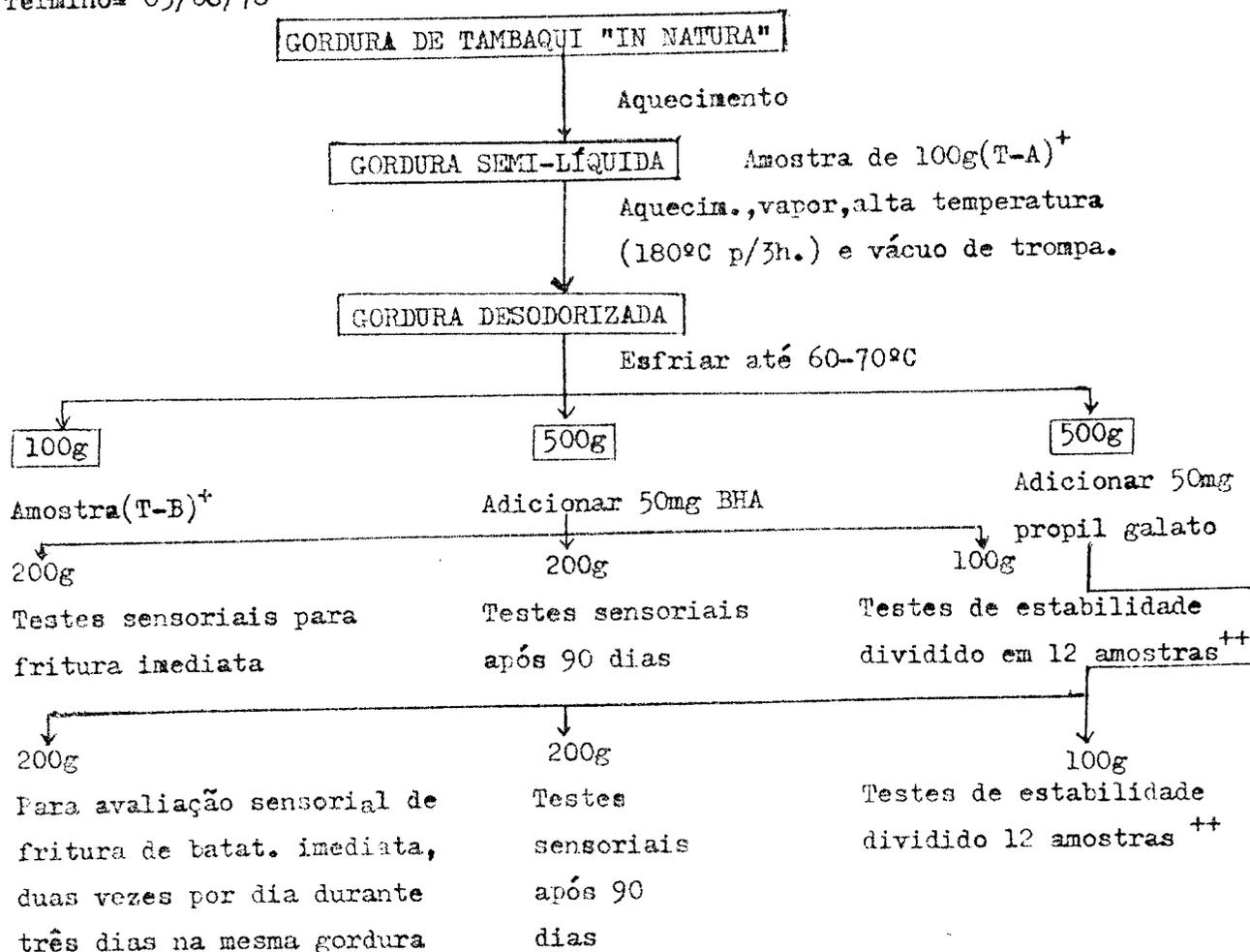
FIGURA VII B

ESQUEMA EMPREGADO PARA RETIRAR AMOSTRA

DATA:

Início = 05/05/78

Término = 05/08/78



+ = Foram comparados os valores de TBA e peróxido durante os três meses em análises semanais. Estas amostras foram mantidas em temperatura ambiente, nas mesmas condições que as demais.

++ = As amostras de mais ou menos 6 gramas, foram analisadas semanalmente por determinações de índice de peróxido e TBA.

NOFA : Nos testes sensoriais, foram comparados a preferência dos provadores entre as batatas fritas em gordura de peixe desodorizada e no óleo de soja comercial tido como padrão.

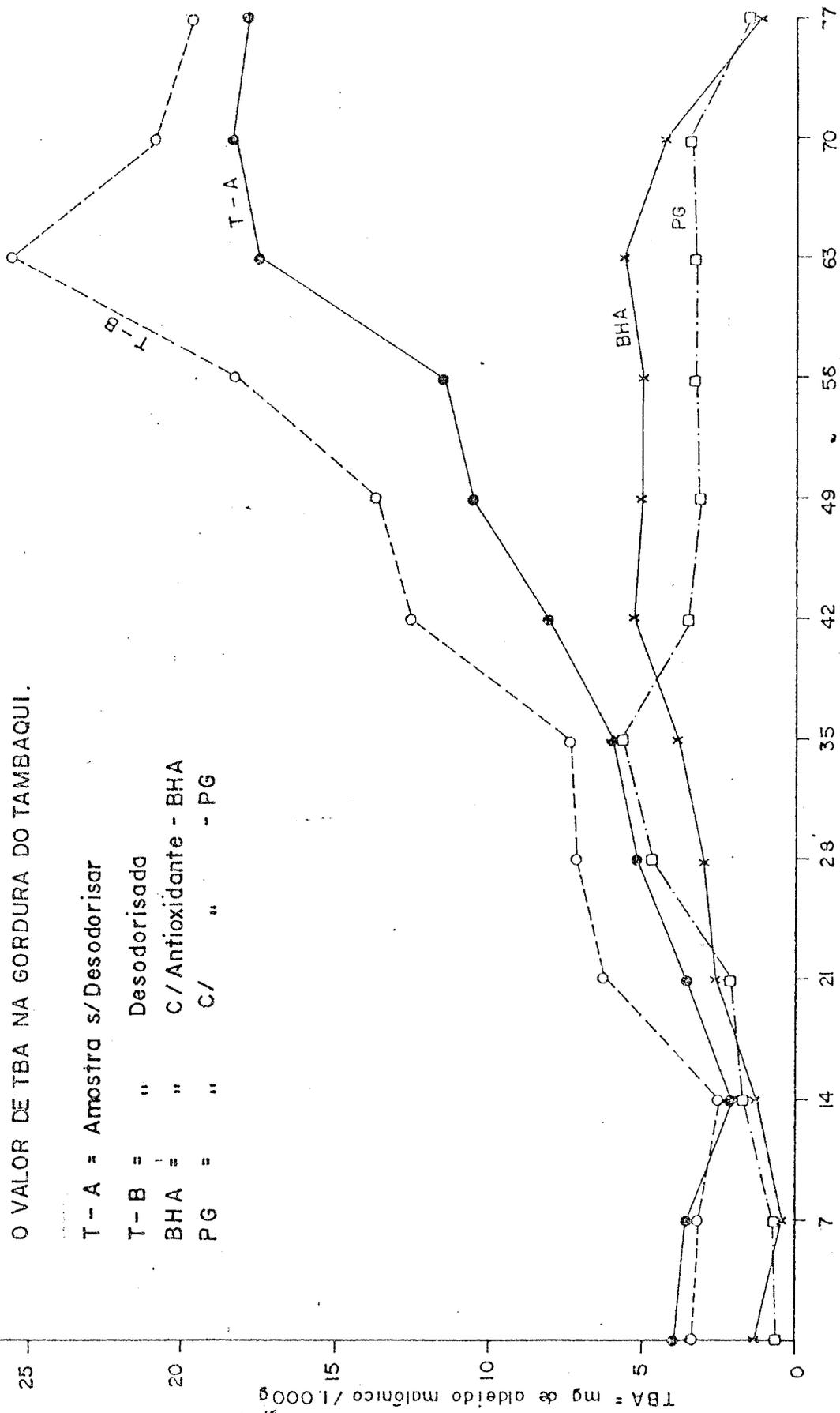
RESULTADO DO TESTE DE ESTABILIDADE MOSTRANDO
O VALOR DE TBA NA GORDURA DO TABAQUI.

T - A = Amostra s/Desodorisar

T - B = " Desodorisada

BHA = " C/Antioxidante - BHA

PG = " C/ " - PG



Dias de estocagem em temperatura ambiente

FIG. IX

VP = med. O₂ peróxido / kg de gordura

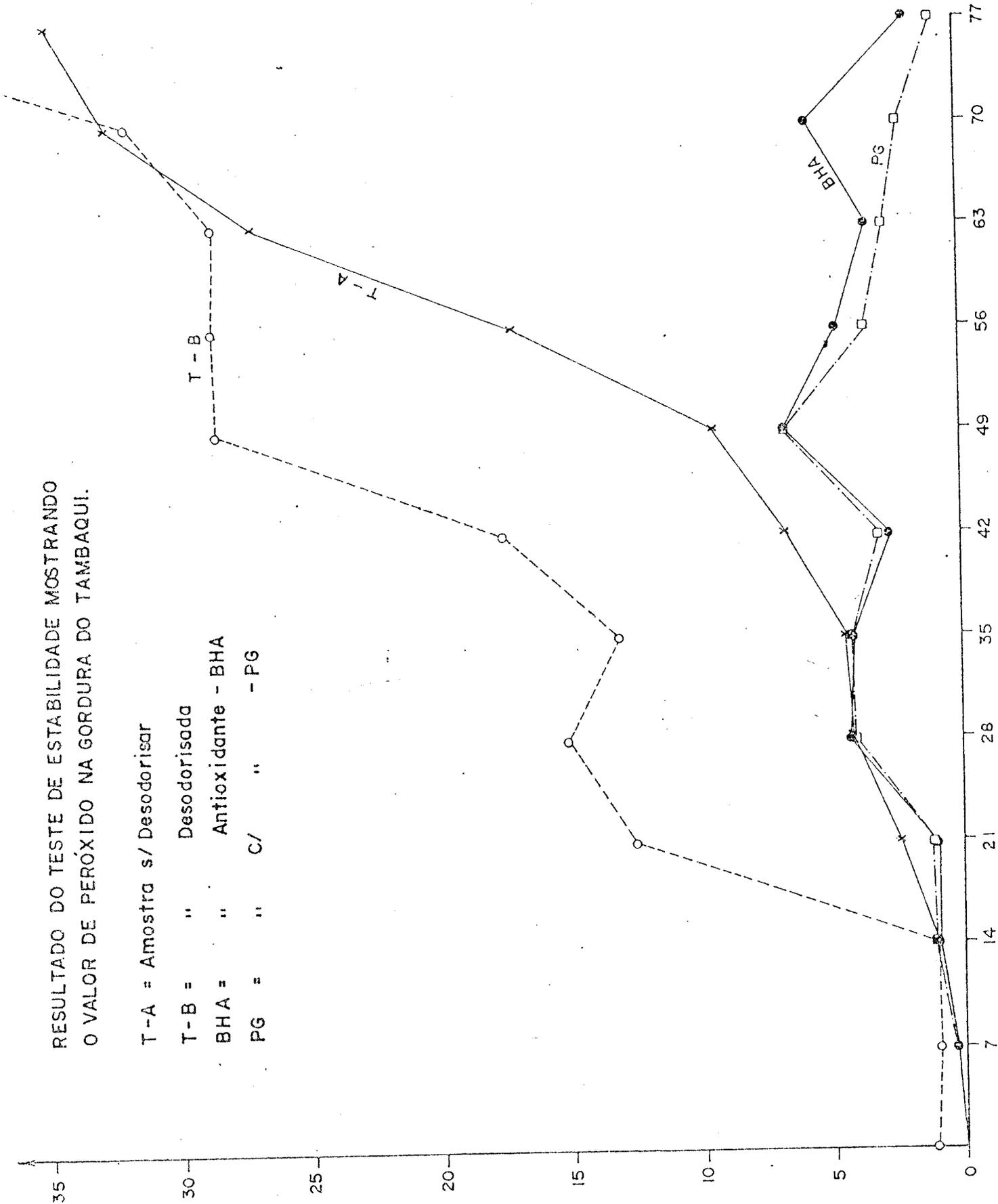
RESULTADO DO TESTE DE ESTABILIDADE MOSTRANDO
O VALOR DE PERÓXIDO NA GORDURA DO TAMBAQUI.

T-A = Amostra s/ Desodorisar

T-B = " Desodorizada

BHA = " Antioxidante - BHA

PG = " C/ " - PG



NOME : _____

DATA : _____

Por favor, prove cada amostra e dê a sua opinião sobre preferência de sabor, ignorando as outras características. Se desejar, faça comentários sobre possível sabor estranho. Lave a boca entre uma amostra e outra. Obrigada.

PREFERÊNCIA DE SABOR

Nº da amostra	Gostei muitíssimo	DESGOSTEI muitíssimo
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

SABORES :

- | | |
|---------------------|---|
| Acre | Tinta |
| Oxidado | Sebo |
| Monoglicérido | Gorduroso |
| Amargo | Fenólico (Dowtherm) |
| Cru | Melancia ou Pepino (mordência da casca) |
| Ranço | Vegetais fermentados |
| Peixe | Môfo |

COMENTÁRIOS : _____

V - C O N C L U S Õ E S

Nas condições do presente trabalho parece-nos lícito concluir que:

- 1 - A gordura cavitária do tambaqui pode ser utilizada na cozinha no preparo de alimentos;
- 2 - A desodorização foi eficiente sobre a gordura cavitária do tambaqui, contudo é indispensável a adição de antioxidante;
- 3 - Os antioxidantes testados, propil galato e butilato hidroxianisol, ambos podem proteger a gordura contra a oxidação;
- 4 - A composição dos ácidos graxos da gordura cavitária do tambaqui varia em qualidade e quantidade de acordo com a época do ano, porém em todos os casos os principais ácidos graxos foram palmítico, esteárico e oleico;
- 5 - As gorduras cavitária e muscular do tambaqui apresentaram poucas diferenças em suas composições qualitativa e quantitativa de seus ácidos graxos;
- 6 - As gorduras do tambaqui nas quatro épocas estudada, não apresentaram os ácidos graxos típicos de peixe de água salgada, $C_{20:5}$ (eicosapentaenóico) e $C_{22:6}$ (docosahexaenóico), no entanto, apresentaram um teor significativo de ácido linoleico, que a valoriza sob o ponto de vista nutricional.

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

À Profa. Dra. DÉLIA ROBRIGUEZ AMAYA, pela orientação e estímulo no decurso deste trabalho.

Ao Prof. Dr. FREDERICK CARL STRONG III, pelo apôio e sugestões apresentadas.

À Profa. Dra. RUTH DOS SANTOS GARRUTTI, pelo auxílio na escolha da metodologia empregada, nos cálculos da análise de variância e apreciação dos resultados dos testes sensoriais.

Ao Prof. EMILIO SEGUNDO CONTRERAS, pelo incentivo para nosso ingresso e durante a realização do curso, bem como na escolha deste tema.

Ao Prof. Dr. LEOPOLD HARTMAN, pelas sugestões apresentadas.

AO INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISA DA AMAZÔNIA(INPA) na pessoa de seu Diretor Dr. WARWICK E. KERR por ter propiciado condições sem as quais não seria possível a realização deste curso.

Ao CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO e ao CENTRO REGIONAL DE PESQUISAS PESQUEIRAS DE MANAUS(Convênio INPA/SUDEPE), por permitir seu afastamento das atividades e pela ajuda financeira.

Ao Pessoal do Laboratório de Análise Sensorial pelo apôio dedicado durante a realização dos testes sensoriais.

Ao Pessoal de apôio do Laboratório de Análise Instrumental e a todos aqueles que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

VII - BIBLIOGRAFIA CITADA

- 01 - ACKMAN, R.G. - Characteristics of the fatty acid composition and biochemistry of some fresh-water fish oils..., Comp. Biochem. physiol. 22(8):907-922, 1967.
- 02 - ANTUNES, A.J. - Efeito dos ácidos graxos livres sobre a estabilidade, paladar e ponto de fumaça de óleos e gorduras comestíveis. Tese (Mes. em cienc. de alim.) UNICAMP. Campinas - São Paulo, 1971.
- 03 - AOCS. Official and tentative methods of the A.O.C.S. 3rd, ed. American oil chemists' society, Ca 7-25, 1974 (IR).
- 3a- ----- . Cc 13b - 45 (cor)
- 3b- _____. Cd 3a - 63 (Índice de acidez)
- 3c- _____. Ca 6b - 53 (Matéria insaponificável)
- 3d- _____. Ca 5a - 40 (AGL)
- 3e- _____. Cd 8 - 53 (Índice de peróxido)
- 3f- _____. Cd 1 - 25 (Índice de iodo)
- 3g- _____. Cd 3 - 25 (Índice de saponificação)
- 3h- _____. Ca 6a - 40 (Matéria insaponificável)
- 3i- _____. Ce 1 - 62 e Ce 2-66 (Metilação)
- 3j- _____. Cc 10a - 25 (Densidade)
- 04 - BAYLEY, Alton E. - Aceites y grasas industriales. Barcelona, trad. 2a. ed. americana, Ed. Reverté, p.158, 1961.
- 05 - BLIGH & DYER W.J. - A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37, 911-917, 1959.
- 06 - BRITSKI, Heraldo A. - Resumos da 29ª reunião anual SBPC. 29(7):810, 1977.
- 07 - CIOLA, R. - Introdução à cromatografia em fase gasosa. Edgard Blucher, p.1-228, São Paulo.

- 08 - CONTRERAS, E.S. & NEVES FILHO, L.C. - Emprego industrial do óleo de pescado. Rev.Nacional da pesca, nº138, set./1974.
- 09 - CROSSLEY, A. et al. - Keeping properties of edible oils (II). Refining by treatment with alumina. J.A.O.C.S. (39):165-168, mar./1962.
- 10 - COMISION DEL CODEX ALIMENTARIUS. Programa conjunto FAO/OMS. Norma geral internacional recomendada para las grassas & aceites comestibles. CAC/RS, 19, p.6, 1969.
- 11 - DIPOA - Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Ministério da Agricultura. Lei 1.283 de 18.12.50, Dec.nº30.691 de 29.03.52. Brasilia - D.F.1976.
- 12 - DUGAN Jr., LeROY - Stability and rancidity. J.A.O.C.S. 32:605-608, 1955.
- 13 - FARKAS, T. & HERODEK, S - The effect of environmental temperatures on the fatty acid composition of crustacean planckton. Journal of lipids. (5):369-373, 1964.
- 14 - FINAR, I.L. - Quimica orgânica. Esterioquimica de los productos naturales. Madrid, Editorial Alhembra. V.II, 1960, p.5.
- 15 - FOWLER, H. - Os peixes de água doce do Brasil. Arq.de Zool.São Paulo, 9(2), 1954, 350p.
- 16 - FURIA, T.E. - Handbook of food additives. The Chemical Rubber Co.Granwood Parkway, Cleveland, Ohio, p.209-234.
- 17 - GRUGER, Jr., E.H.; NELSON, R.W. & STANSBY M.E. - Fatty acid composition of oils from 21 species of marine fish, freshwater fish, and shellfish. J.A.O.C.S. v.41:662-667, out./1964.
- 18 - HONDA, E.M.G. et al - Aspectos gerais do pescado no Amazonas. Acta Amazônica. 5(1):87-94, 1975.
- 19 - _____. Contribuição ao conhecimento da biologia do peixe do Amazonas; Alimentação do tambaqui (II). Acta Amazônica. 4(2) ago./1974.

- 20 - HILDITCH, T.P. & Williams - The chemical constitution of natural fats. Chapman & Hall, 4th. London, 1964, p.51.
- 21 - HARTMAN, Leopold - Desacidificação de óleos comestíveis sem o emprego de álcalis. Tese de doutorado. Faculdade de Tecnologia de Alimentos e Agrícola. UNICAMP-Campinas-São Paulo, 1971.
- 22 - HENICK, G. et al. - Lipids and their oxidation. In: ANTUNES, A. J. Efeitos dos ácidos graxos livres sobre a estabilidade, paladar e ponto de fumaça de óleos e gorduras comestíveis. Tese de mestrado, UNICAMP. Campinas-São Paulo, 1971.
- 23 - HOFFMANN, G. - Lipids and their oxidation. In: ANTUNES, A. J. Tese de mestrado, UNICAMP, Campinas-São Paulo, 1971.
- 24 - IBGE - Anuário estatístico do Brasil. p.91, 1976.
- 25 - KAUFMANN, H.P. - Uber die bedeutung der begleitstoffe in: ANTUNES, A. J. - Tese de mestrado, UNICAMP, Campinas-São Paulo, 1971.
- 26 - KELLY, P.B. et al. - The origin and metabolism of marine fatty acids: The effect of diet on the depot fats of *Mugil cephalus*. J.A.O.C.S. 35(5):189-192, may/1958.
- 27 - _____. The effect of diet on the fatty acid composition of several species of fresh water fish. J.A.O.C.S. 35(5):503, oct./58.
- 28 - KRAYBILL, H.R. et al. - Butylated hydroxyanisole as an antioxidant for animal fats. J.A.O.C.S. 32:449-453, sept./1949.
- 29 - LEHNINGER, A.L. - Bioquímica. Trad. São Paulo, Edgard Blucher, v.1p.190-193, 1976.
- 30 - _____. _____. v.3, p.463-471, 1977.
- 31 - LEGER, C. et al. - Specific distribution of temperature. Lipids. 7(12):539-543, 1977.
- 32 - LITTLEWOOD, A.B. - Gas chromatography. Academic Press, 2nd., New York and London, p.14-15, 1970.
- 33 - MAGALHÃES, A.C. - Monographia brasileira de Peixes fluviais. São Paulo, Graphisars, p.203-206, 1935.

- 34 - McNAIR, H.M. & BONELLI, E.J. - Basic gas chromatography.
Printers, Berkeley, California, 6th ed., p.1-6,1969.
- 35 - _____. _____. p.139-153,1969.
- 36 - OLCOTT, H.S. - Antioxidantes. In: Fish oils, STANSBY, M.S.
The AVI Pub.Co., p.165,1967.
- 37 - FUAL, S. & ROYLANCE, A. - Keeping properties of edible oils.
(I). The use of accelerated tests for assessment of the
keeping properties of oils and value of antioxidants.
J.A.O.C.S. 39:163-165, mar./1962.
- 38 - PINTO, G.P. - Boletim Técnico do I.A.N., (III), 16:37-42, out./50
- 39 - PLANK, Rodolf - El empleo del frio en la industria de la alimentac
tación. Reverté, Buenos Aires, 1963, p.483-494.
- 40 - PRETERE Jr. M. - Pesca e esforço de pesca no Estado do Ama-
zonas. Acta Amazônica (no prelo).
- 41 - QUEIROZ, M. I. - Influência da secagem com coletores solares.
Tese de mestrado. UNICAMP. Campinas- São Paulo, 1977.
- 42 - RITTACO, M. & LUCIANO, V. - Grau de absorção do oxigênio durant
e a autoxidação da substância gordurosa. Ciência e tecno-
logia. p.15-26, 1976.
- 43 - ROHR, R. - Óleos e gorduras vegetais seus subprodutos protei-
cos . Fundação Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de
Alimentos. Campinas-São Paulo, 1974.
- 44- _____. Óleos e gorduras ... (Resumos do curso de tecnologia de
óleos). UNICAMP. Campinas-São Paulo, 1973.
- 45 - SHERWIN, E.R. - Methods for stability and antioxidant measure-
ment. J.A.O.C.S. v.45, p.632-648, nov./1968.
- 46 - SEPROR (Secretaria de Estado da Produção Rural), Amazonas.
Propesca, 3:33/1971. (Série documentos).

- 47 - SIDWELL, C.G. et al. - The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. J.A.O.C.S. 31:603-606, dez/1954.
- 48 - SILVA, A.B. et al. - Testes preliminares em viveiro com tabaço - DNOCS nº 3/1974. (Série estudos de pesca).
- 49 - _____. Desova induzida de tambaqui Colossoma macropomum Cuvier, 1818. DNOCS (Série estudos de pesca, no prelo).
- 50 - STANSBY, M. E. - Fish oils. The AVI Pub. Co. Inc. 1967.
- 51 - _____. _____. p.4-9,1967.
- 52 - TOYAMA, Y. & TSUCHIYA, T. - Bull. Chem. Soc. Japan. In: Aceites y grassas industriales. Barcelona, Reverté, p.15, 1961.
- 53 - VALÊNCIA, E. & SANAHUJA, J.C. - Índices de calidad en productos de la pesca. II. Pescados congelados. Anales de bromatología. Tomo XXII, 1970. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Uni. de Buenos Aires.
- 54 - VERGROESSES, A. J. - Nutrição humana e risco de doenças cardiovasculares (parte II). Medicina de hoje, s.n.p. jan./1976. (Série Documentos, 1).
- 55 - YU, T.C. et al. - Effect of dietary lipids on fatty acid composition of body lipids in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Lipids, 6(12):495-499, 1977.
- 56 - YU, T.C & SINNHUBER, R. O. - An improved 2-thiobarbituric acid (TBA) procedure for the measurement of autoxidation in fish oils. J.A.O.C.S. v.44, p.256-258, abr./1967.