

PROPOSTA DE METODOLOGIA PARA EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE

OLIVEIRA, M.R.M.¹, CANTELMO, O.A.², RIBEIRO, M.A.R.² & BELDA, M.C.R.¹

¹Faculdade de Ciências Farmacêuticas- UNESP/Araraquara

²Centro de Pesquisa e Treinamento em Aqüicultura - CEPTA/IBAMA

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo propor uma metodologia para extração de óleo de peixe, que garanta a manutenção do perfil lipídico com o mínimo possível de oxidação. Foram utilizados curimatás (*Prochilodus scrofa*), capturados no rio Mogi-Guaçu, Município de Pirassununga-SP. Os peixes foram submetidos a cocção em forno de microondas, seguindo-se de prensagem para extração de lipídeos e, determinação do perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa. A utilização de microondas associada a cuidados de higiene, mínima exposição à luz e uso de antioxidante, permitiu a obtenção de óleo de peixe de boa qualidade, sem alterar seu perfil de ácidos graxos.

Palavras chaves: óleo de peixe, extração de óleo, ácidos graxos.

ABSTRACT

Proposal of a methodology for fish oil extraction

The objective of this work was give a methodology for fish oil extraction, with insure the minimum oxidation of the lipids profile. Were utilised curimatá (*Prochilodus scrofa*), from Mogi Guassu river, in Pirassununga, and submitted a cooking in microwave, and pressing, for lipid extraction. The fatty acids profile was determined for chromatographic of gas. The microwave utilisation associated the basic care, minimum light exposure and use of antioxidant, permit the obtention of a good quality of fish oil.

Key words: fish oil, oil extraction, fatty acids.

INTRODUÇÃO

O perfil de ácidos graxos de diferentes animais e tecidos demonstram variações marcantes. Os peixes apresentam ácidos graxos importantes como fontes dietéticas, especialmente ácidos graxos da série n_3 . A variação qualitativa e quantitativa, inter ou intra-espécies, no teor de ácidos graxos da família n_3 , é fortemente influenciada por fatores intrínsecos e ambientais, que podem atuar isoladamente ou em conjunto. Esses fatores incluem: idade, sexo, sazonalidade, temperatura, salinidade da água e principalmente alimentação (Ackman, 1967; Agren *et al.*, 1987; Plisetskaya, 1980; Vlieg *et al.*, 1988; Vliet *et al.*, 1990).

Na cadeia alimentar as algas e fitoplânctons são os responsáveis pela síntese dos n_3 , especialmente o ácido alfa-linolênico (18:3, n_3). Os peixes apenas incorporam e alongam os mesmos, Vliet *et al.* (1990), produzindo os ácidos eicosapentaenóico (20:5, n_3), docosapentaenóico (22:5, n_3) e docosahexaenóico (22:6, n_3), entre outros. Independente do teor de ácido graxo da família n_3 , os peixes apresentam perfil lipídico adequado às recomendações dietéticas para humanos, quando comparados ao perfil dos ácidos graxos dos animais domésticos, que apresentam suas reservas de energia principalmente na forma de gordura saturada (Crawford *et al.*, 1989).

A presença de ácidos graxos altamente insaturados nos óleos de peixes torna-os muito suscetíveis aos processos de oxidação, decorrentes da formação de peróxidos nas duplas ligações, e subsequente quebra do peróxido e liberação de aldeídos, cetonas e ácidos de odores desagradáveis. O processo é complexo, onde várias reações ocorrem ao mesmo tempo, tendo início com a ação do oxigênio, podendo ser desencadeada pela presença de luz, calor, metais catalizadores, enzimas oriundas de bactérias ou da própria fonte lipídica. Como resultado final, além da formação de subs-

tâncias indesejáveis (aldeídos, cetonas, etc.) temos a destruição, mesmo que parcial, de ácidos graxos insaturados e vitaminas lipossolúveis.

Considerando que o interesse pelo óleo de peixe para fins comerciais ou pesquisa sofreu aumento considerável nos últimos tempos (Vedeler, 1982), e que os métodos utilizados para obtenção desse óleo nem sempre consideram a proteção contra os processos oxidativos, técnicas que minimizem esses problemas precisam ser desenvolvidas.

Este trabalho, portanto, teve por objetivo propor uma metodologia para extração do óleo de peixes, preservando seu perfil lipídico.

MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram realizados com o curimatá (*Prochilodus scrofa*), capturado no rio Mogi-Guassu, na região de Pirassununga, com peso aproximado de 1,5kg. Foram utilizados para esse estudo três indivíduos os quais, após resfriamento à temperatura de congelamento, foram divididos em duas partes, no sentido longitudinal, incluindo as vísceras. Uma parte foi utilizada para simples extração com solvente clorofórmio/metanol, de acordo com Bligh & Dyer (1959). Esta metodologia já foi comprovada quanto à manutenção das características originais dos lípides (óleo-controle). A outra parte do peixe, depois de cortada em pedaços de aproximadamente 3cm de espessura, foi colocada em recipiente de louça com tampa, e submetida ao microondas, na potência média, por 8 minutos. Após esse cozimento foi submetido a prensa manual, cap. 3.000kg.. A "água de cola" obtida da prensagem foi colocada em balões de separação, e o sobrenadante lavado várias vezes até o óleo apresentar-se limpo. Após a lavagem, o óleo, ainda no balão e protegido da luz, foi colocado em repouso por 3 à 4 horas, até total separação da água. Em seguida, foi filtrado em papel de filtro com sulfato de sódio anidro e auxílio de vácuo. Por último, foi adicionado 0,002% do antioxidante BHT. Todo esse processo pode ser visto resumidamente no fluxograma apresentado na Fig.1. O óleo obtido foi acondicionado em sacos plásticos e colocado em frascos âmbar hermeticamente fechados, para armazenamento à -20°C, até análise cromatográfica dos ácidos graxos (óleo-prensagem). O óleo residual da prensagem foi obtido por extração com clorofórmio/metanol (óleo-resíduo).

Para verificar possíveis mudanças no perfil dos ácidos graxos, foram realizados testes de cromatografia gasosa de alta resolução no óleo-controle, no óleo-prensagem e no óleo-resíduo.

Para a realização das cromatografias as amostras de lípides totais foram saponificadas e os ácidos graxos metilados, com o reagente

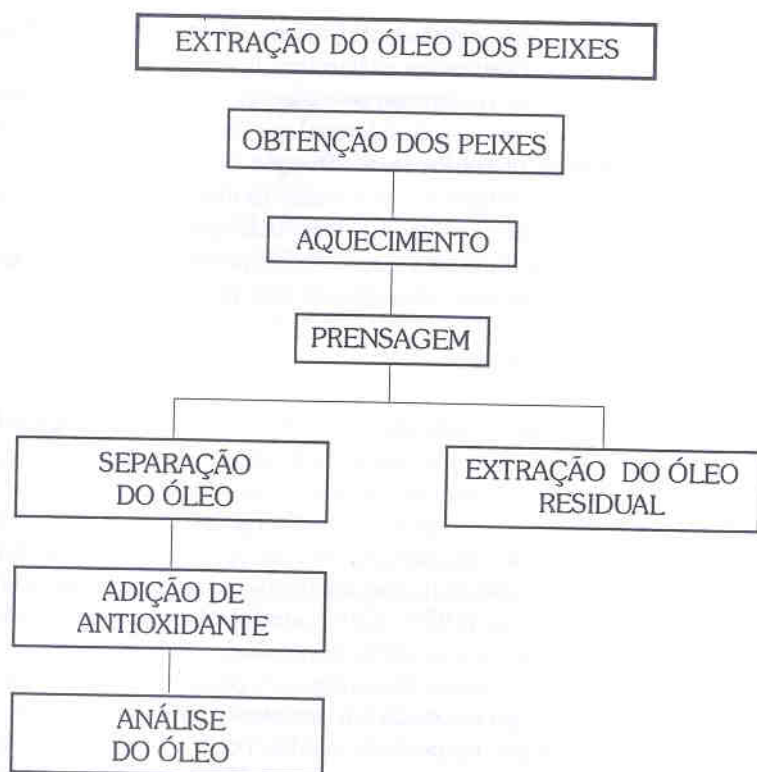


Fig.1 - Fluxograma da extração do óleo dos peixes.

esterificante, composto de cloreto de amônio, ácido sulfúrico e metanol, na proporção de 1:1,5:30, respectivamente, segundo metodologia empregada por Maia (1992).

As cromatografias gasosas foram realizadas em cromatógrafo VARIAN, Modelo 3.300, equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida (50m de comprimento x 0,22mm de diâmetro interno, WCOT, SGE, Austrália), contendo polietileno glicol (Carbowax 20M) como fase líquida. Os dados sobre os tempos de retenção e as porcentagens dos ésteres metílicos de ácidos graxos foram obtidos através de um integrador processador INTERLAB 42290, acoplado ao cromatógrafo. A identificação dos ácidos graxos realizou-se de acordo com o comprimento equivalente de cadeia (ECL), de acordo com Maia (1992).

Os resultados dos ácidos graxos dos diferentes métodos de extração foram submetidos a análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Além das comparações das cromatografias dos óleos - controle, prensagem e resíduo, incluiu-se as comparações da soma proporcional do óleo-prensagem e óleo-resíduo (prensagem $\times 0,71$ + resíduo $\times 0,29$).

RESULTADOS

O óleo-controle obtido do curimatá representou 12% do seu peso total, enquanto que o óleo-prensagem, 8,5%. Considerando que o óleo-controle representa o valor total do óleo contido no peixe, obteve-se um rendimento de 71%. Os valores desse óleo, quando submetidos à análise de variância das médias obtidas através de cromatografias gasosas de alta resolução, demonstraram que poucos ácidos graxos foram modificados pelo processamento empregado nesse estudo. A diferença apenas foi significativa para os ácidos graxos (20:3, n_6), (20:4, n_6) e (22:6, n_3), na comparação entre as médias do óleo-resíduo com óleo-prensagem, aumentados no óleo-resíduo (Tabela I).

DISCUSSÃO

Verificou-se que a metodologia utilizada pouco interferiu na composição em ácidos graxos extraídos de curimatás. De modo geral, o desvio padrão das médias dos ácidos graxos dos três peixes foi alto, demonstrando que existe variabilidade de animal para animal. No entanto, nos três tratamentos (controle, prensagem e resíduo) de um mesmo ácido graxo, esse desvio apresentou valores semelhantes, comprovando a reprodutibilidade da metodologia.

Essa variação na composição em ácidos graxos nos peixes deve ter interferido nestes resultados. Observou-se uma tendência de aumento de ácidos graxos saturados no óleo-prensagem e de diminuição dos poliinsaturados. Mesmo assim podemos afirmar que os resultados desse procedimento de extração são satisfatórios pois, apenas perdas de pequena ordem foram detectadas.

Uma das preocupações deste estudo foi verificar se as diferenças no perfil dos ácidos graxos do óleo-resíduo poderiam inviabilizar a metodologia, já que os ácidos n_3 são preferencialmente de membranas, por isso difíceis de serem extraídos por prensagem. Embora os ácidos graxos

(20:3 n_6), (20:4, n_6) e (22:6, n_3) estivessem aumentados no óleo-resíduo, não consideramos importante esta diferença, já que os mesmos somam apenas 4,54%, do total encontrado no curimatá.

TABELA I - Composição percentual de ácidos graxos de lípides totais do óleo de prensagem e residual do curimatá (*Prochilodus scrofa*).

Nº Pico	ácido graxo	óleo controle	óleo prensagem (%)	óleo residual	prensagem + resíduo
01	14:0	2,60±0,48 ^a	2,75±0,64 ^a	2,38±0,34 ^a	2,64±0,55 ^a
02	15:0	0,99±0,67 ^a	1,04±0,96 ^a	1,01±0,56 ^a	1,03±0,84 ^a
03	16:0	24,91±2,40 ^a	25,62±2,96 ^a	24,86±2,43 ^a	25,39±2,80 ^a
04	16:1, n_7	9,19±0,62 ^a	10,80±0,77 ^a	9,91±0,74 ^a	10,54±0,76 ^a
05	17:0	1,00±0,63 ^a	1,03±0,82 ^a	0,95±0,55 ^a	1,00±0,74 ^a
06	17:1, n_9	1,06±0,27 ^a	1,14±0,57 ^a	0,73±0,20 ^a	1,02±0,46 ^a
07	18:0	6,32±0,77 ^a	6,52±1,09 ^a	6,50±0,93 ^a	6,52±1,04 ^a
08	18:1, n_9	24,37±5,13 ^a	23,55±6,75 ^a	23,79±5,31 ^a	23,61±6,32 ^a
09	18:2, n_6	6,47±0,94 ^a	6,45±1,44 ^a	7,27±0,94 ^a	6,68±1,29 ^a
10	18:3, n_3	4,16±0,97 ^a	3,80±1,07 ^a	3,92±0,65 ^a	3,84±0,95 ^a
11	20:1, n_9	2,26±1,00 ^a	2,81±1,30 ^a	2,32±1,06 ^a	2,66±1,23 ^a
12	20:2, n_6	0,93±0,08 ^a	0,85±0,19 ^a	0,94±0,09 ^a	0,87±0,16 ^a
13	20:3, n_6	1,07±0,12 ^{ab}	0,81±0,31 ^a	1,70±0,12 ^b	1,06±0,25 ^{ab}
14	20:4, n_6	2,42±0,50 ^{ab}	1,79±0,30 ^a	2,47±0,32 ^b	2,19±0,30 ^{ab}
15	20:5, n_3	2,50±0,27 ^a	2,49±0,71 ^a	2,67±0,32 ^a	2,54±0,59 ^a
16	22:6, n_3	1,05±1,63 ^{ab}	0,77±1,65 ^a	1,69±1,74 ^b	1,04±1,67 ^{ab}
Outros		7,70±0,91 ^a	7,78±0,85 ^a	6,89±1,20 ^a	7,37±0,90 ^a

*Os valores expoentes de cada ácido graxo na mesma linha representados pela mesma letra não são diferentes estatisticamente ($P < 0,05$).

Os ácidos graxos aumentados no óleo-resíduo são todos poliinsaturados, enquanto os saturados tendem a valores menores, pois, sendo gorduras de reserva, são facilmente liberados dos tecidos.

Quando comparamos o perfil de ácidos graxos do óleo-controle e a soma proporcional do óleo-prensagem e resíduo, excluiu-se o efeito anterior para avaliar apenas o efeito do processamento. Verificou-se que não houve diferença estatística nos resultados, comprovando a eficiência do microondas para cocção do peixe, conforme encontrado na literatura (Hearn *et al.*, 1987).

Os cromatogramas demonstraram que os teores de ácidos graxos n_3 foram relativamente menores que os encontrados em peixes de água marinha, isto talvez se deva mais a influência do local de captura e da espécie utilizada, do que à ausência das características específicas do habitat marinho, pois cromatogramas realizados por Fliglioulo *et al.* (1991) em peixes de rios da região amazônica, tem indicado teores de n_3 semelhantes aos encontrados em peixes de origem marinha. Nossos resultados estão de acordo com Maia (1992), que trabalhou com curimatá capturado no rio Mogi-Guassu, na região de Pirassununga.

Podemos então concluir que a utilização do microondas, associada a cuidados básicos de higiene, mínima exposição à luz e uso de antioxidante permite a obtenção de óleo de peixe de boa qualidade, conforme metodologia proposta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKMAN, R.G. Characteristics of the fatty acid composition and biochemistry of some fresh-water fish oils. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.22, p.907-922, 1967.
- AGREN, J., MUJE, P., HÁNNINEN, O. *et al.* Seasonal variations of lipid fatty acids of boreal freshwater fish species. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.88 B, p.905-9, 1987.
- BLIGH, E.G., DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.**, v.37, n.p, p.911-917, 1959.
- CRAWFORTH, M.A., DOYLE, W., DRURY, P. *et al.* The food chain for n_6 and n_3 fatty acids with special reference to animal products. In: GALLI, C., SIMOPOULOS, A. (eds.) **Dietary n_3 and n_6 fatty acids: biological effects and nutritional essentiality**. New York: Plenum Publ, 1989. p.5-19

- FLIGLIOULO, R., CRAVEIRO, A.A., LOPEZ, M.F.G. *et al.* Polyunsaturated fatty acids in fishes the Brazilian equatorial region. IN: INTERNATIONAL MEETING ON FATS & OIL TECHNOLOGY-SYMPOSIUM AND EXHIBITION. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1991. **Resumos...**
- HEARN, T.L., SGOUTAS, S.A., SGOUTAS, D.S., *et al.* Stability of polyunsaturated fatty acids after microwave cooking of fish. **J. food Sci.**, v.52, p.1430-31, 1987.
- MAIA, E.L. **Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídicos e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce.** Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, 1992. 243p. (Tese Doutorado)
- PLISETSKAYA, E. Fatty acid level in blood of cyclostomes and fish. **Environ. Biol. Fishes**, v.5, p.273-90, 1980.
- VEDELER, B.C. Fish oil production and marketing. **Chemistry and Industry**, v.3, p.435-9, 1982.
- VLIEG, P., BODY, D.R. Lipid contents and fatty acid composition of some New Zealand freshwater finfish and marine finfish, shellfish, and roes. **New Zeal. J. Mar. Fresh Water Res.**, v.22, p.151-62, 1988.
- VLIET, T.V., KATAN, M.B. Lower ratio of n_3 to n_6 fatty acids in cultured than in wild fish. **Am. J. Clin.**, v.51, p.1-2, 1990.
- B. Téc. CEPTA, Pirassununga, v. 7, p. 19-26, 1994