

Hidrólise enzimática do óleo de pescado

Enzymatic hydrolysis of the fish oil

Márcia Elisa da Silva PADILHA¹, Walter AUGUSTO-RUIZ^{1*}

Resumo

O óleo de pescado tem sido alvo de várias pesquisas em função dos benefícios nutricionais dos ácidos graxos poliinsaturados. Esse fato pode ser comprovado pelos estudos epidemiológicos que relacionam a baixa incidência de doenças cardiovasculares com o consumo de ácidos graxos n-3 (EPA-eicosapentaenóico e DHA-docosahexaenóico) provenientes de peixes marinhos. A obtenção de ácidos graxos poliinsaturados n-3 pode ser realizada por hidrólise enzimática. A hidrólise enzimática de óleos e gorduras, ou lipólise, é bem conhecida e vem sendo estudada para produzir ácidos graxos e modificar as gorduras por esterificação, transesterificação e interesterificação. O objetivo deste trabalho foi a obtenção de ácidos graxos poliinsaturados por hidrólise enzimática do óleo de pescado industrial. A hidrólise de 1262,81 μ moles de óleo de pescado com lipase pancreática porcina (concentração de extrato enzimático de 7,647 mg.mL⁻¹), 60 minutos, 38 °C, pH 8, tampão NH₄Cl-NH₄OH. Os produtos da hidrólise foram separados por cromatografia em coluna e caracterizados por cromatografia em camada delgada (TLC) e gasosa (GLC). A enzima apresentou uma atividade específica de 10,14 \pm 0,15 UE.mg de proteínas⁻¹ e com 60 minutos de reação se obteve 44,45% de hidrólise com 1865,76 \pm 41,15 μ moles de ácidos graxos. Foram identificados ácidos graxos livres, mono-acilgliceróis, di-acilgliceróis e tri-acilgliceróis. Na fração dos tri-acilgliceróis verificou-se um aumento de 46,14% e 40,23% de ácido araquidônico e eicosapentaenóico (EPA) respectivamente, enquanto que na fração monoacilglicerol um acréscimo de 96,96% e 52,55% de DPA e DHA.

Palavras-chave: enzimas; hidrólise enzimática; óleo de pescado; lipase; EPA; DHA; DPA.

Abstract

The fish oil has been the purpose of many researches due to the nutritional benefits of its polyunsaturated fatty acids and it is confirmed by epidemic studies that relate the low incidence of cardiovascular diseases to the consumption of n-3 fatty acids (EPA - eicosapentaenóico, DHA - docosahexaenóico) deriving from the sea fish. N-3 polyunsaturated fatty acids can be obtained from the fish by enzymatic hydrolysis. The enzymatic hydrolysis of fats and oils, or lipolysis, is known to produce fatty acids to alter the fats by esterification, transesterification and interesterification. The main objective of this work was to obtain polyunsaturated fatty acids (PUFA) by enzymatic hydrolysis of the industrial fish oil. It was used 1262,81 μ moles of substrate, porcine lipase (7,647 mg.mL⁻¹ of enzymatic extract), 60-minute of hydrolysis, 38 °C, pH 8 and NH₄Cl-NH₄OH buffer. The hydrolysis products were separated by column chromatography and characterized by TLC GLC. The specific activity of lipase was 10,14 \pm 0,15 UE.mg proteins⁻¹. After 60-minute of reaction was obtained 44,45% of hydrolysis and 1865,76 \pm 41,15 μ moles of fatty acids. Were identified PUFA, monoacylglycerol, diacylglycerol and triacylglycerol. There was an increase of 46,14 and 40,23%, respectively, of araquidonic and eicosapentaenoic (EPA) acids in the triacylglycerols fraction while the monoacylglycerol fraction showed an increase of 96,96 and 52,55% of DPA and DHA.

Keywords: enzymes; enzymatic hydrolysis; fish oil; lipase; EPA; DHA; DPA.

1 Introdução

Do total de captura mundial de pescado, cerca de 72% são utilizados como pescado fresco, congelado, enlatado e salgado, os 28% restantes seguem para o preparo de ração animal¹⁸. A produção de farinha e óleo de pescado é uma alternativa para o aproveitamento do pescado que não é utilizado diretamente para o consumo humano, bem como dos resíduos procedentes das plantas de processamento de pescado^{17,23}. O material residual geralmente é constituído de aparas do tolete antes do enlatamento, carne escura, camarão fora do tamanho de descasque manual ou mecânico, cabeças e carcaças¹⁸.

A importância dos óleos marinhos na dieta é sustentada nos benefícios à saúde que traz o consumo de óleos poliinsaturados. Estudos epidemiológicos correlacionam a baixa incidência de doenças cardiovasculares com o consumo de ácidos graxos poliinsaturados provenientes de pescados marinhos. As algas marinhas são capazes de sintetizar ácidos graxos n-3 (EPA-

eicosapentaenóico C20:5 n-3 e DHA-docosahexaenóico C22:6 n-3), os quais entram na cadeia alimentar marinha, estando disponíveis no óleo de pescado^{9,10,12,13,19}, podendo observar-se que no óleo de sardinha (*Sardinella brasiliensis*), estes dois ácidos somam entre 20 e 40% dos ácidos graxos totais^{6,20}.

Os efeitos benéficos dos ácidos graxos poliinsaturados dos óleos de pescado foram especialmente enfocados em alguns eventos científicos internacionais, sendo pioneiro o realizado nos Estados Unidos, em 1985, seguido de outros ocorridos no Canadá e na Itália, em 1988. Os efeitos benéficos estão associados ao seu papel na integridade das membranas biológicas, à sua capacidade de reduzir o teor de lipídios séricos e à sua conversão de compostos chamados eicosanóides, que apresentam uma ação direta sobre a fisiologia do sistema vascular²⁰.

Os efeitos têm sido mais evidentes em populações cujas dietas têm baixo teor de gordura, apresentando baixa incidência de problemas cardíacos. Cabe destacar que os casos de esclerose múltipla são raros em áreas litorâneas, onde há consumo de pescado. O interesse científico, pelo presumível potencial hipolipêmico e anti-aterogênico, surgiu de um estudo com esquimós²⁰.

Os processos comumente empregados para produzir ácidos graxos são o químico e o enzimático. O processo de

Recebido para publicação em 10/5/2006

Aceito para publicação em 23/4/2007 (001749)

¹ Laboratório de Análise Instrumental, Departamento de Química,

Fundação Universidade Federal do Rio Grande – FURG,

CP 474, CEP 96201-900, Rio Grande - RS, Brasil,

E-mail: dqmwar@furg.br

*A quem a correspondência deve ser enviada

hidrólise química se caracteriza por ser homogêneo e utiliza catalisadores químicos, temperaturas altas, tempos de residência variáveis e altas pressões. Os produtos assim obtidos são muito variados na sua natureza e pureza. A hidrólise enzimática utiliza baixas temperaturas, lipases, meios reacionais específicos e variáveis controladas, e os ácidos graxos sofrem pouca modificação^{3,22}.

A obtenção de ácidos graxos poliinsaturados n-3 pode ser feita a partir da hidrólise seletiva do óleo de pescado, ou através da utilização de enzimas que apresentem baixa atividade para os ácidos EPA e DHA, como a lipase pancreática porcina, que possui especificidade para as posições 1 e 3. Estes ácidos graxos podem apresentar um efeito inibitório à ação desta enzima, devido ao alto grau de dobra das suas cadeias, o que ocasiona um obstáculo espacial para a ação da lipase⁵. A hidrólise enzimática das gorduras, ou lipólise, é bem conhecida e vem sendo estudada para produzir ácidos graxos e modificar as gorduras por esterificação, transesterificação e interesterificação²⁰.

O objetivo deste trabalho foi obter ácidos graxos poliinsaturados por hidrólise enzimática do óleo de pescado industrial.

2 Material e métodos

2.1 Substrato

Foi utilizado óleo de pescado proveniente de uma indústria da região do Rio Grande, RS. As amostras foram estocadas em garrafas plásticas ao abrigo da luz e sob refrigeração, até sua utilização.

O óleo de pescado foi caracterizado quanto ao teor de umidade, impurezas, matéria saponificável e insaponificável, acidez, índices de iodo e peróxidos, utilizando metodologia oficial² e perfil de ácidos graxos, segundo¹⁴.

As operações do processo de hidrólise do óleo de pescado encontram-se diagramadas na Figura 1.

2.2 Solução da enzima

Foi preparada uma solução da enzima lipase (lipase pancreática porcina EC 3.1.1.3, SIGMA) adicionando lentamente 25 mL de solução tampão $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_4\text{OH}$, pH 8,0 a 1,0 g de enzima^{11,12}. Depois de homogeneizada, a solução foi centrifugada a 3000 g por 10 minutos (centrífuga FANEM modelo 206R). O sobrenadante foi utilizado imediatamente após seu preparo.

A concentração de proteínas da solução enzimática foi determinada pelo método de Biureto, utilizando uma curva-analítica de soro albumina bovina SAB^{20,21}.

2.3 Sistema reacional

Foram utilizados reatores de 250 mL com jaqueta para circulação de água e a temperatura foi controlada através do termostato de um banho-maria de água circulante. O pH foi monitorado e ajustado a 8,0 durante a hidrólise, utilizando pH-metro com eletrodo duplo combinado e solução de NaOH

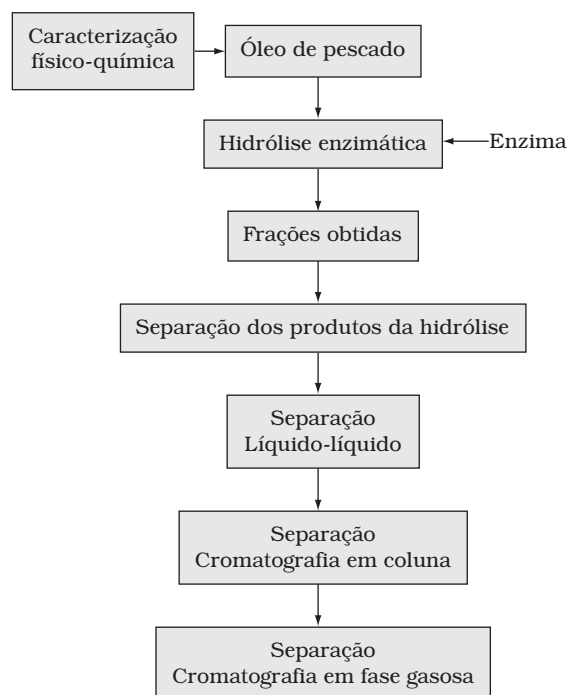


Figura 1. Diagrama do fluxo operacional da hidrólise enzimática e análise das frações derivadas do óleo de pescado.

0,050 N. Foi preparada uma emulsão 25% p.p⁻¹ de água destilada em óleo de pescado, acrescida de acetato de polivinila e detergente aniônico como sugerido na literatura^{20,21}. A mistura foi agitada em agitador magnético durante 15 minutos. Uma alíquota de 2 mL do extrato enzimático a 38 °C foi transferida para o reator, e o tempo de hidrólise foi controlado com cronômetro digital. No teste em branco foram utilizados 2 mL de água.

2.4 Atividade enzimática

Uma unidade enzimática (UE) é definida como a quantidade de enzima que hidrolisa 1 μmol de ligação éster do triacilglicerol por minuto (1 UE = 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$). A produção de ácidos graxos e a atividade enzimática com o tempo foram calculadas com as Equações 1 e 2:

$$\text{RCOOH}_{(t)} = (V - V_B) \times N \quad (1)$$

$$\text{AE} = \frac{\text{RCOOH}_{(t)}}{(V_E \times [E]) \times \text{Tempo}} \quad (2)$$

em que $\text{RCOOH}_{(t)}$ = produção de ácidos graxos em função do tempo; AE = atividade específica [UE (mg de proteína solúvel)⁻¹]; V e V_B = mL de NaOH gastos na titulação da amostra e branco, respectivamente; N = 0,05 N; V_E = mL do extrato enzimático; e [E] = a concentração do extrato enzimático (mg de proteínas.mL⁻¹).

O rendimento da reação foi calculado e expresso como percentual de hidrólise utilizando a Equação 3¹¹:

$$\text{Hidrólise (\%)} = \frac{(V - V_B) \times N \times 56,1 \times 100}{(IS - IA) \times \text{Peso da amostra(g)}} \quad (3)$$

em que IS e IA = índice de saponificação e índice de acidez, respectivamente.

A enzima foi inativada pela adição de 90 mL de clorofórmio e 25 mL de ácido acético glacial e agitação por 10 minutos à temperatura do processo.

2.5 Separação líquido-líquido e identificação de componentes

A mistura resultante da hidrólise foi levada a volume de 1000 mL com água destilada e imediatamente transferida para funil de separação. Após repouso, à temperatura ambiente, separaram-se as fases e na fase aquosa foi determinado o teor de glicerol pelo método Ca 14 56 AOAC².

A fase clorofórmica foi fracionada por cromatografia em coluna, segundo²¹. As frações coletadas foram separadas por cromatografia em camada delgada e a quantificação das frações foi realizada por gravimetria²¹.

2.6 Separação e identificação por cromatografia em fase gasosa

Os ácidos graxos das frações foram separados e identificados por cromatografia em fase gasosa, em cromatógrafo equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna de 30 m de comprimento e 0,545 mm de diâmetro e com fase estacionária de ácido nitrotereftálico modificado por polietileno glicol. O gás de arraste foi o nitrogênio a 2 mL.min⁻¹. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 e 270 °C, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 160 °C, permanecendo nesta temperatura por 1 minuto, seguido de aumento a 2 °C.min⁻¹ até 200 °C, permanecendo por 2 minutos, e novo aumento a 20 °C.min⁻¹ até 220 °C, na qual permanece durante 40 minutos. O tempo total da programação foi de 64 minutos. A quantidade de amostra injetada foi de 1 µL. Os ácidos graxos foram identificados pela comparação direta dos tempos de retenção com padrões (Sigma Supelco) e quantificados por normalização de áreas, através do software Varian Star 4.51.

O preparo das amostras na forma de ésteres metílicos seguiu a metodologia utilizada por MAIA¹⁴. A concentração de ácidos graxos, expressa em µmols, foi calculada de acordo com outros autores^{3,20-22}.

3 Resultados e discussão

3.1 Caracterização do óleo de pescado

O óleo de pescado apresentou um teor umidade de 0,59%, 1,45% de impurezas, acidez livre de 1,44% (índice de acidez de 2,59 mgKOH.g⁻¹ de óleo), glicerol 9,31%, índice de iodo de 168,56 cgI₂.g⁻¹ de óleo, matéria saponificável 170,31 mgKOH.g⁻¹ de óleo, matéria insaponificável 1,39% e um índice de peróxidos de 7,08 meqO₂.Kg⁻¹ de óleo. O teor de impurezas, índice

de peróxidos e material insaponificável sugerem que é um óleo não purificado⁶, e o perfil de ácidos graxos mostra presença de ácidos graxos poliinsaturados, como era esperado (Figura 2).

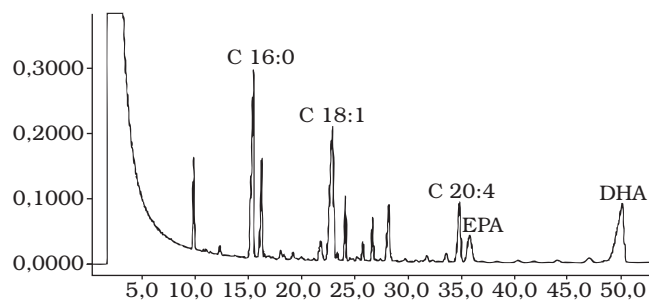


Figura 2. Perfil gás-cromatográfico do óleo de pescado.

Tradicionalmente os óleos de origem animal são obtidos por processo hidrotérmico, o que permite a separação de proteínas e de outros materiais, como: ácidos graxos livres e água, considerados impurezas, que devem ser eliminadas através de processos como: degomagem, refino, branqueamento ou descoloração, desodorização e fracionamento^{15,16,26}.

O óleo de pescado industrial geralmente é obtido por processo hidrotérmico a partir de espécies pelágicas, portanto sua composição varia segundo as espécies e inclusive, segundo a estação do ano, sexo, ciclo reprodutor, dentre outros fatores^{4,7,8,23,26}. Os peixes pelágicos, por sua condição de habitação e por formarem grandes cardumes, são de grande importância industrial⁶. Segundo alguns autores^{7,8} as espécies pelágicas parecem ser as melhores fontes de EPA e DHA.

3.2 Concentração protéica do extrato enzimático

A concentração de proteínas do extrato enzimático foi de 7,647 ± 0,065 mg.mL⁻¹, calculada através de curva-analítica de SAB, que apresentou a seguinte função A = 0,05030*C (A = absorvância, C = mg proteínas.mL⁻¹) (r = 0,9995).

3.3 Liberação de ácidos graxos em função do tempo

A concentração de ácidos graxos aumentou em função do tempo da hidrólise, como era esperado (Tabela 1 e Figura 3), utilizando 1262,81 ± 1,95 µmols de substrato (óleo de pescado) a 38 °C, pH 8,0 em tampão NH₄Cl-NH₄OH e extrato enzimático de 7,647 ± 0,065 mg.mL⁻¹.

Verifica-se na Figura 3, que a produção de ácidos graxos tende a se estabilizar a partir de 10 minutos aproximadamente, evidenciando provavelmente uma cinética de reação de primeira ordem e uma cinética de reação de ordem zero depois de 10 minutos. Com 14 minutos de hidrólise atingiu-se aproximadamente 86% do total produzido em 60 minutos. Esses resultados estão de acordo com os resultados encontrados por outros autores^{5,11,21,22}. STAUFER²⁰ relata que a concentração de ácidos graxos atinge 80% nos primeiros 20 minutos de hidrólise enzimática do óleo de pescado.

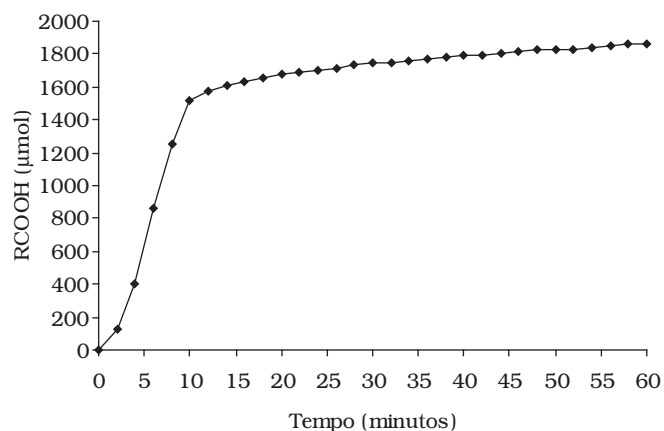


Figura 3. Concentração de ácidos graxos em função do tempo de hidrólise.

Na Figura 4, pode-se observar que existe uma relação linear entre a produção de ácidos graxos (concentração em μ moles) e o rendimento da reação (em percentual de hidrólise) antes dos 14 minutos iniciais, calculado através da fórmula de proposta por IKEMOTO e OTA, 1996¹¹. Resultados semelhantes foram encontrados por STAUFFERT, 2000²⁰ e por TORALLES, 1998²¹, na hidrólise enzimática de óleo de pescado e óleo de oliva, respectivamente.

3.4 Atividade específica

Pode-se observar na Figura 5, que a atividade específica da enzima decresce rapidamente de um máximo $10,14 \pm 0,15$ UE. $\text{mg prote\u00edna}^{-1}$ em 8 minutos de hidrólise, chegando a aproximadamente 50% desse valor nos primeiros 20 minutos de hidrólise. Para tempos superiores a 20 minutos, a diminuição é lenta e gradual, ou seja, com menor variação na atividade específica, indicando a tendência de uma reação de cinética de ordem zero. Esse comportamento é característico de reações de hidrólise enzimática que apresentam uma velocidade ini-

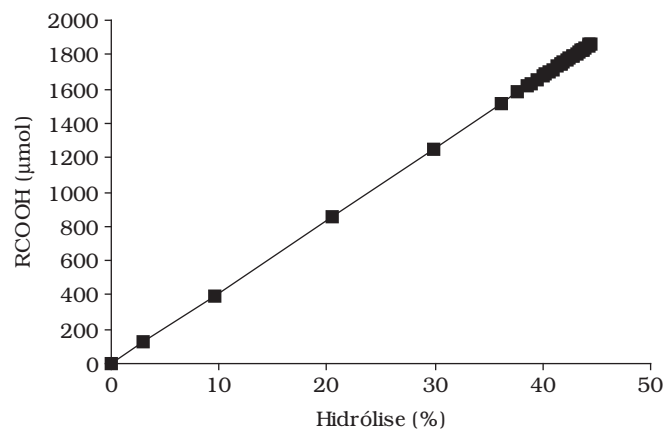


Figura 4. Produção de ácidos graxos em função do percentual de hidrólise.

cial muito alta, com cinética de reação de primeira ordem até atingir velocidade máxima, e após, sua velocidade diminui até estabilizar a reação em ordem zero²¹.

3.5 Composição das frações da hidrólise enzimática

A hidrólise enzimática do óleo de pescado ($1262,81 \pm 1,95$ μ moles) a 38 °C, pH 8,0 tampão $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_4\text{OH}$, $7,647 \pm 0,065$ mg mL^{-1} de extrato enzimático, com 60 minutos de reação produziu $44,55\% \pm 1,03$ de hidrólise. E como era esperado a fração de ácidos graxos livres é a de maior concentração (Tabela 2), resultados semelhantes foram encontrados por TORALLES¹² na hidrólise do óleo de oliva utilizando lipase pancreática porcina.

3.6 Identificação dos ácidos graxos

Verifica-se na Tabela 3, que o substrato óleo de pescado apresenta uma alta concentração de ácidos graxos poliinsaturados, que encontram-se concentrados na fração mono-acil-glicerol (MAG).

Tabela 1. Porcentagem de hidrólise e concentração de ácidos graxos.

Tempo (minutos)	Hidrólise (%)*	Concentração de ácidos graxos (μ mol s^{-1})*	Tempo (minutos)	Hidrólise (%)	Concentração de ácidos graxos (μ moles)*
0	0,00	0,00	32	$41,65 \pm 0,98$	$1744,57 \pm 39,13$
2	$3,01 \pm 0,38$	$125,98 \pm 15,79$	34	$41,92 \pm 1,03$	$1755,73 \pm 41,15$
4	$9,52 \pm 0,77$	$398,67 \pm 32,52$	36	$42,22 \pm 1,03$	$1768,49 \pm 41,40$
6	$20,48 \pm 0,65$	$857,93 \pm 27,44$	38	$42,49 \pm 1,03$	$1779,65 \pm 41,15$
8	$29,81 \pm 0,45$	$1248,62 \pm 17,90$	40	$42,76 \pm 0,98$	$1790,81 \pm 39,32$
10	$36,09 \pm 1,16$	$1511,74 \pm 46,87$	42	$42,79 \pm 0,98$	$1792,41 \pm 39,13$
12	$37,73 \pm 0,94$	$1580,31 \pm 37,53$	44	$43,10 \pm 0,98$	$1805,16 \pm 39,32$
14	$38,53 \pm 1,02$	$1613,80 \pm 41,03$	46	$43,29 \pm 1,03$	$1813,14 \pm 41,15$
16	$38,99 \pm 0,89$	$1632,94 \pm 35,23$	48	$43,52 \pm 1,03$	$1822,70 \pm 41,15$
18	$39,48 \pm 0,93$	$1653,67 \pm 37,13$	50	$43,71 \pm 1,03$	$1830,68 \pm 41,40$
20	$39,98 \pm 0,98$	$1674,40 \pm 39,06$	52	$43,71 \pm 1,03$	$1830,68 \pm 41,40$
22	$40,20 \pm 0,93$	$1683,97 \pm 37,26$	54	$43,94 \pm 1,03$	$1840,25 \pm 41,40$
24	$40,62 \pm 0,98$	$1701,51 \pm 39,13$	56	$44,20 \pm 0,99$	$1851,41 \pm 39,64$
26	$40,93 \pm 0,98$	$1714,27 \pm 39,32$	58	$44,35 \pm 0,99$	$1857,79 \pm 39,32$
28	$41,31 \pm 0,98$	$1730,21 \pm 39,13$	60	$44,55 \pm 1,03$	$1865,76 \pm 41,15$
30	$41,65 \pm 0,98$	$1744,57 \pm 39,13$	32	$41,65 \pm 0,98$	$1744,57 \pm 39,13$

*Média de três repetições $\pm \sigma$

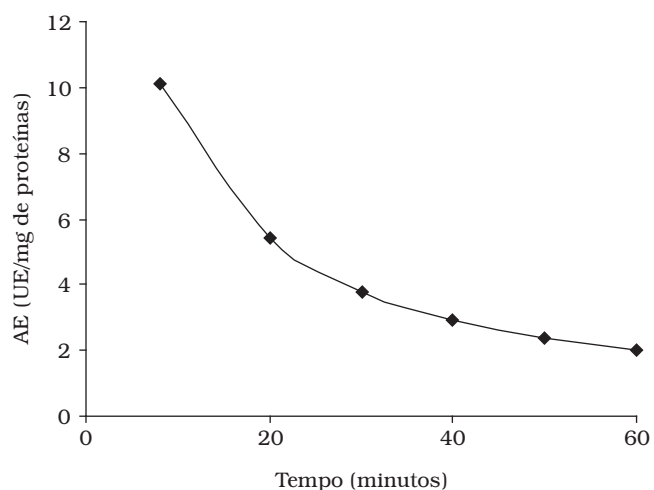


Figura 5. Atividade específica da lipase pancreática porcina ao longo do tempo de hidrólise.

Os resultados na Tabela 3 permitem verificar a preferência da lipase pelo ácido oléico, uma vez que este apresenta um acréscimo na fração di-acilgliceróis mais ácidos graxos livres e um decréscimo nas demais frações. Comportamento similar foi relatado por outros autores^{4,11}. A atividade da lipase mostra preferência pelas posições 1 e 3, mas pode atuar também na posição 2, porém em proporção 22% menor que nas outras posições^{1,24,25}.

A fração MAG apresenta maior concentração de ácido palmítico comparado com o substrato, provavelmente devido à ação da enzima sobre mono-acilgliceróis, di-acilgliceróis, tri-acilgliceróis, ou por prévia acilmigração interna e posterior

ação enzimática. TORALLES²¹ verificou maior concentração de ácido palmítico na fração de mono-acilgliceróis após hidrólise de 180 minutos, sendo a preferência da lipase pancreática porcina, por mono-oleína a mono-palmitina.

Quanto aos ácidos graxos poliinsaturados como o EPA (20:5n3), DPA (22:5n3) e DHA (22:6n3), BOTTINO, 1967⁵ relata que estes ácidos graxos em óleo de sardinha apresentam-se preferencialmente nas posições 1 e 3, sendo que se concentram na forma de tri-acilgliceróis, ou seja, apresentam uma resistência à ação da enzima devido ao efeito inibitório que a localização das duplas ligações em seus grupos metil terminais causam, pois as duplas ligações ocasionam dobras na cadeia carbonada, causando uma aproximação e um fechamento em relação à extremidade carboxílica, produzindo assim um efeito de obstáculo espacial. Isso explica a maior concentração do ácido eicosapentaenóico (EPA) na fração tri-acilglicerol. Outros autores^{1,24,25} relatam a preferência deste ácido na posição 2 e 3, sendo maior na posição 3 em outros óleos de pescado. Estes mesmos autores relatam a preferência de outros dois ácidos graxos DPA e DHA pela posição 2, o que explica as suas concentrações na fração mono-acilglicerol, chegando a dobrar a concentração de DPA e a aumentar mais de 50% a concentração de DHA, mostrando ser a hidrólise enzimática com a lipase pancreática porcina um método eficiente para a concentração destes ácidos graxos.

4 Conclusão

O substrato foi caracterizado como um óleo de pescado industrial com um potencial muito interessante para a produção de ácidos graxos poliinsaturados, utilizando um processo de hidrólise enzimática.

Tabela 2. Composição das frações MAG, DAG, TAG e AGL produzidas na hidrólise enzimática do óleo de pescado^a.

Fração	mg	%	μmoles*	%
Monoacilgliceróis (MAG)	257,72 ± 4,10	22,72 ± 0,38	722,92 ± 11,50	24,74 ± 0,16
Diacilgliceróis (DAG)	233,62 ± 1,98	20,59 ± 0,18	376,20 ± 3,18	12,88 ± 0,24
Triacilgliceróis (TAG)	189,53 ± 12,60	16,71 ± 1,09	214,06 ± 14,29	7,33 ± 0,56
Ácidos graxos livres (AGL)	453,57 ± 10,60	39,98 ± 0,88	1608,41 ± 30,85	55,05 ± 0,65

^aMédia de três repetições ± σ; e *calculados com base nos pesos moleculares de MAG = 356,6 (monooleína), DAG = 621 (dioleína), TAG = 885,40 (trioleína), AGL = 282 (ácido oléico).

Tabela 3. Composição percentual de ácidos graxos do óleo natural (original) e das frações TAG, DAG mais AGL e MAG^a.

AG	Óleo	TAG	%	DAG + AGL	%	MAG	%
14:0	4,60 ± 0,16	3,33 ± 0,14	-38,14	5,05 ± 0,01	+9,78	6,38 ± 0,30	+38,69
16:0	16,89 ± 0,10	13,14 ± 0,14	-28,54	15,96 ± 0,03	-5,83	21,97 ± 0,32	+0,08
16:1	7,11 ± 0,19	5,24 ± 0,13	-35,68	8,93 ± 0,03	+25,59	4,57 ± 0,33	-55,58
18:0	2,23 ± 0,04	2,14 ± 0,04	-4,20	-	-	2,24 ± 0,01	+0,45
18:1	19,28 ± 0,11	15,65 ± 0,09	-23,19	24,65 ± 0,24	+27,85	13,21 ± 0,30	-45,95
18:2	3,55 ± 0,06	2,46 ± 0,10	-44,31	3,95 ± 0,03	+11,26	3,26 ± 0,07	-8,89
18:3	1,22 ± 0,00	3,78 ± 0,10	+210,0	1,40 ± 0,01	+14,75	2,05 ± 0,06	+68,03
20:0	2,87 ± 0,03	-	-	2,52 ± 0,03	-13,89	2,30 ± 0,11	-24,78
20:1	5,36 ± 0,02	5,38 ± 0,00	+0,37	6,14 ± 0,04	+14,55	-	-
20:3	0,99 ± 0,01	1,11 ± 0,02	+12,12	1,02 ± 0,01	+3,03	-	-
20:4	6,87 ± 0,01	10,04 ± 0,10	+46,14	5,38 ± 0,03	-27,69	4,67 ± 0,35	-47,11
20:5	4,82 ± 0,01	6,76 ± 0,08	+40,23	5,08 ± 0,05	+5,39	2,30 ± 0,15	-109,56
22:5	0,99 ± 0,01	1,11 ± 0,00	+12,12	0,69 ± 0,03	-46,48	1,95 ± 0,01	+96,96
22:6	16,27 ± 0,22	20,6 ± 0,62	+26,61	11,18 ± 0,11	-46,97	24,82 ± 0,32	+52,55

AG = ácido graxo; e ^aMédia de três repetições ± σ.

A lipase pancreática apresentou uma boa atividade enzimática, que permitiu nos primeiros 10 minutos uma liberação linear de ácidos graxos até se estabilizar em aproximadamente 60 minutos.

A maior fração nos produtos da hidrólise foi a de ácidos graxos livres, seguida da fração mono-, di- e tri-acilgliceróis.

Nos produtos da hidrólise verifica-se que a concentração dos ácidos graxos poliinsaturados EPA, DPA e DHA teve um acréscimo substancial em relação ao óleo de pescado, o que permite concluir que o processo de hidrólise enzimática é um meio eficaz para a obtenção desses ácidos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, à CAPES, ao PET/DEPEM/ SESU/MEC e à equipe do laboratório: Sra. Dulce Stauffert, Karen Daiane Tolotti e Mayane Colpo Teixeira.

Referências bibliográficas

1. ANDO, Y.; SATAQUI, M.; TAKAHASHI, Y. Reinvestigation of positional distribution of fatty acids in docosahexaenoic acid-rich fish oil triacyl-*sn*-glycerols. **Lipids**, v. 35, n. 5, p. 579-582. 2000.
2. AMERICAM OIL CHEMISTS' SOCIETY (AOCS). **Official and Tentative Methods of American Oil Chemists' Society**. USA: ACS, 3. ed. 1980.
3. AUGUSTO-RUIZ, W., TORALLES, R. P. Hidrólise enzimática dos óleos vegetais. **Óleos e Grãos**, São Paulo, p. 42-48, set./out., 1999.
4. BERNARDINI, E. **Tecnología de Aceites y Grasas**. Editorial Alhambra, S. A., Madrid, España, p. 229-316. 1986.
5. BOTTINO, N. R.; VANDENBURG, G. A.; REISER, R. Resistance of certain long-chain polyunsaturated fatty acids of marine oils to pancreatic lipase hydrolysis. **Lipids**, v. 2, n. 6, p. 489-493, 1967.
6. CONTRERAS, E. S. G. **Bioquímica de Pescados e Derivados**. Jaboticabal, SP, Br: FUNEP, p. 315-330. 1994.
7. GONÇALVES, A. A.; SOUZA-SOARES, L. A. Efeitos do processamento e armazenamento na fração lipídica do pescado. **Vetor**, FURG, Rio Grande, v. 10, p. 93-112, 2000.
8. GONÇALVES, A. A.; SOUZA-SOARES, L. A. Lipídios em Peixes. **Vetor**, FURG, Rio Grande, v. 8, p. 35-53, 1998.
9. HARTMAN, L.; ESTEVES, W. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais**. Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia (Série Tecnologia Agroindustrial, 13), São Paulo, 169 p. 1981.
10. HORROCKS, L. A.; YEO, Y. K. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). **Pharmacological Research**, v. 40, n. 3. p. 211-25, 1999.
11. IKEMOTO, M.; OTA, Y. Production of two types of non-specific lipases by *Geotrichum* sp. FO 274A: a fish oil-assimilating strain. **J. Gen. Appl. Microbiol.**, v. 147, n. 42, p. 371-379. 1996.
12. KINSELLA, J. E. Food components with potential therapeutic benefits: The n-3 polyunsaturated fatty acids of fish oils. **Food Technology**, v. 40, n. 2, 1986.
13. KINSELLA, J. E. et al. Fatty acids and composition of freshwater finfish. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 54, n. 10, p. 424-429. 1977.
14. MAIA, E. L. **Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídicos e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixe de água doce**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). FEA. Universidade de Campinas – UNICAMP Campinas, SP 1992.
15. MORAES, M. M. **Estudo do Processo de Refino do Óleo de Pescado**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), FURG, Rio Grande, RS. 2000.
16. MORAES, M. M.; SOUZA-SOARES, L. A. Obtenção e purificação de óleo de pescado: uma breve revisão. **Vetor**, v. 10. FURG, Rio Grande, p. 81-92, 2000.
17. RODRIGUEZ-MARQUÉS, G. La Industria de los Pequeños Pelágicos y la industria de la Harina y el Aceite de pescado en América Latina. **FAO/Programa de Investigación de GLOBEFISH**, v. 20, p. 31-40. 1993
18. SEIBEL, N. F. **Valoração de resíduo de pescado: emprego na dieta de codornas e estudo de seu efeito nos ovos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). FURG, 2002.
19. SIKORSKI, Z. E. **Tecnología de los productos del mar; Recursos, Composición Nutritiva y conservación**. Editorial Acribia, S. A., Zaragoza, España, p. 54-62. 1990
20. STAUFFERT, D. **Hidrólise Enzimática de Óleo de Pescado**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). FURG, Rio Grande. 2000.
21. TORALLES, R. P. **Modelo Experimental para Reação de Lipólise com Lipase Pancreática**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). FURG, Rio Grande. 1998.
22. TORALLES, R.P., AUGUSTO-RUIZ, W. Produção e utilização de ácidos graxos. **Óleos e Grãos**. São Paulo, p. 20-32, jul./ago., 2001.
23. WINDSOR, M., BARLOW, S. **Introducción a los subproductos de pesquería**, Zaragoza: Acribia, p. 4-94. 1984.
24. XU, X. et al. Pilot batch production of specific-structured lipids by enzymatic interesterification: preliminary study on incorporation and acyl migration. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 75, n. 2, p. 301-308, 1998.
25. XU, X. et al. Production of specific-structured lipids by enzymatic interesterification: elucidation of acyl migration by response surface design. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 75, n. 9, p. 1179-1186, 1998.
26. ZILLER, S. **Grasas y Aceites Alimentários**. Zaragoza, España: Acribia. p. 37-45.1996.