



# Instituto Politécnico de Santarém

Escola Superior Agrária

## Óleos Alimentares

Caracterização Físico-Química de Óleos Novos e Usados para  
Identificação de Indicadores de Degradação da Qualidade

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre  
na área de Sistemas de Prevenção e Controlo Alimentar

**Sara Margarida Concruta Sanchez Bermejo**

**Orientador:**

Marília Oliveira Inácio Henriques (*PhD*)

**Co-Orientadores:**

Cristina Maria Carruço Laranjeira (*MSc*)

Maria Fernanda da Silva Pires Ribeiro (*MSc*)

Santarém

2014



## **Agradecimentos**

Teria sido impossível apresentar o trabalho aqui descrito sem a ajuda fundamental de todos aqueles, que diretamente ou indiretamente, contribuíram para a sua realização, pois sem eles não teria sido possível.

Ao grupo Os Mosqueteiros pela iniciativa da realização do projeto Bienal no âmbito da Química Analítica e Ambiental e pela disponibilidade em fornecer os óleos para a realização deste trabalho.

Ao departamento de Tecnologia Alimentar, Biotecnologia e Nutrição da Escola Superior Agrária de Santarém, pela possibilidade de analisar as amostras, nomeadamente as técnicas de laboratório Anabela Matos e Ana Reis, que foram incansáveis durante o decorrer das análises de laboratório.

À Eng.<sup>a</sup> Maria da Conceição Tovar Faro pela sua ajuda e disponibilidade demonstradas durante a realização dos ensaios de determinação da atividade da água ( $a_w$ ).

À Mestre Cristina Laranjeira, co-orientadora da dissertação, uma ótima professora e uma ajuda preciosa em horas de stress, muito obrigado pela sua constante orientação e disponibilidade para a realização deste trabalho, pelo empenho revelado bem como todo o apoio e esclarecimento prestados.

À Doutora Marília Henriques, orientadora da dissertação, por todo o apoio e esclarecimento prestados.

À Mestre Maria Fernanda da Silva Pires Ribeiro, co-orientadora da dissertação, por todo o apoio e esclarecimento prestados.

Aos meus queridos pais, ao meu irmão pela paciência, compreensão e incentivo que sempre manifestaram ao longo da minha vida, em especial ao longo deste trabalho.

A todos os meus amigos e colegas, que sempre me acompanharam nos bons e maus momentos, pelo carinho e compreensão.

E por fim ao Filipe, por preencheres a minha vida e pela motivação constante para a realização deste trabalho.

A todos o meu sincero Obrigado!

## Resumo

Os óleos alimentares fazem parte da dieta alimentar. A sua principal aplicação é a confeção de alimentos através de processos de culinária conhecidos ancestralmente, em que aqueles são cozinhados por imersão a altas temperaturas. Os processos de fritura, caseira ou industrial e a reutilização sucessiva do óleo alimentar nessas operações, conduz à sua degradação irreversível, através de diferentes vias e agentes intervenientes, sendo a via oxidativa provavelmente a mais importante, conhecida e estudada. Questões como: qual o estado real de degradação do óleo, como o avaliar e qual o destino a dar a um óleo alimentar em fim de vida, são perguntas que se colocam a nível da nutrição e da saúde humanas e ambiental. O presente trabalho tem como objetivo identificar parâmetros físico-químicos que permitam uma rápida e rigorosa deteção e qualificação de estados de degradação incipiente e severa de óleos alimentares usados e ainda estabelecer melhores práticas laboratoriais disponíveis (MPLD), de forma a recomendá-los com *Indicadores de Degradação da Qualidade*. Considera-se que a par dos critérios de aceitabilidade técnica, o fator económico tem um peso significativo nos critérios de seleção dos parâmetros, com fim à minimização de custos, tendo em conta que o objetivo é analisar óleos em fim de vida. Propõe-se a análise de OAU's em contexto real de uso, pela correlação dos parâmetros: *Humidade*,  $a_w$ , *Acidez Total (AT)*, *Índice de Peróxidos (IP)*, *Índice de Iodo (IndI)*, *Cor* (CIE e CIELab) e *Absorvência no UV*, com monitorização por controlo microbiológico. Aplicando MPLD's identificaram-se variáveis críticas, redefiniram-se gamas de trabalho e condições de ensaio, pois os procedimentos normativos não permitem obter resultados em conformidade com critérios de aceitação técnica para todo o ciclo de vida do óleo, cujo perfil se altera com a reutilização. As conclusões são ainda preliminares. Os parâmetros  $a_w$ , AT, IP e cor CIELab revelam-se promissores como indicadores de degradação da qualidade. O teor de Humidade é, para este fim desinteressante. Cor CIE e Absorvência no UV, perfilam-se como métodos de referência.

**Palavras-chave:** Óleo alimentar; qualidade; fritura; degradação; parâmetros físico-químicos; ambiente

## **Abstract**

*Edible oils are components of human diet. Its main application is the confection of food through cooking processes known anciently, in which they are cooked by immersion at high temperatures. The frying process and the reuse of the cooking oil leads to its irreversible degradation through different pathways and agents involved, where the oxidative pathway is probably the best known and studied process of degradation. Questions like: what is the actual state of degradation of the oil and what will be the final disposition of edible used oil (EUO), are doubts that concerns both human nutrition and health and environmental terms. The present work aims to identify physicochemical parameters and best laboratory practices available (BLPA), to allow a rapid and effective detection of states of incipient and severe degradation of used cooking oils in order to recommend them as **Quality Degradation Indicators**. The economic criterion weighs in that decision, in order to minimize costs, given that the aim is to analyze oils wrecks. We propose the analysis of EUO's in real use by the correlation parameters: Humidity,  $a_w$ , Total Acidity (TA), Peroxide Value (PV), Iodine Value (IInd), Color (CIE and CIELab) and UV Absorbency with monitoring by microbiological control. Applying BLPA's, were identified critical variables, redefined working range and test conditions, as the regulatory procedures do not provide results in accordance with acceptance technique criteria for the entire life cycle of oil, whose profile changes with reuse. Conclusions are still preliminary. The parameters  $a_w$ , TA, PV and CIELab colour seem promising as indicators of quality degradation. The moisture content is, to this end, uninteresting. IInd, CIE Color and UV Absorbency, profile as reference methods.*

**Keywords:** *Edible oil; quality; frying; degradation; physicochemical parameters; environment.*

## Lista de Abreviaturas

<b>Abs</b>	Absorvência
<b>ANR</b>	Autoridade Nacional de Resíduos
<b>AT</b>	Acidez Total
<b>a<sub>w</sub></b>	<i>Water Activity</i> [atividade de água]
<b>AGS</b>	Ácidos Gordos Saturados
<b>AGL</b>	Ácidos Gordos Livres
<b>DAG</b>	Diacilgliceróis
<b>DL</b>	Decreto-Lei
<b>ETAR</b>	Estação de Tratamento de Águas Residuais
<b>IA</b>	Índice de Acidez
<b>IDQ</b>	Indicador de Degradação da Qualidade
<b>IndI</b>	Índice de Iodo
<b>IP</b>	Índice de Peróxidos
<b>MAG</b>	Monoacilgliceróis
<b>MPLD</b>	Melhores Práticas Laboratoriais Disponíveis
<b>MUFA</b>	<i>Monounsaturated Fatty Acids</i> [ácidos gordos monosaturados]
<b>NP</b>	Norma Portuguesa
<b>OAN</b>	Óleo alimentar novo, não usado em fritura
<b>OAU<sub>2x</sub></b>	Óleo alimentar usado duas vezes em fritura
<b>OAU</b>	Óleo Alimentar Usado
<b>OAU<sub>r</sub></b>	Óleo alimentar usado, degradado e rejeitado (em fim de vida)

**OMS** Organização Mundial de Saúde

**PUFA** *Polyunsaturated Fatty Acids* [ácidos gordos polinsaturados]

**RU** Resíduo Urbano

**TAG** Triacilglicerol

**UV** Ultra Violeta

# Índice Geral

Agradecimentos

Resumo .....	I
Abstract.....	II
Lista de Abreviaturas.....	III
Índice Geral .....	V
Índice de Figuras .....	VIII
Índice de Quadros .....	X
I. INTRODUÇÃO .....	1
II. OBJETIVO.....	4
Objetivo Geral .....	4
Objetivos Específicos.....	4
III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	6
1. LÍPIDOS.....	6
2. ÓLEOS VEGETAIS.....	7
2.1. Composição dos Óleos Vegetais .....	8
3. TECNOLOGIA .....	12
4. ÓLEO ALIMENTAR.....	16
4.1. Tipos de Óleos.....	16
4.2. Qualidade dos Óleos.....	19
5. MECANISMOS DE DEGRADAÇÃO DOS ÓLEOS .....	22
5.1. Autoxidação .....	22
5.2. Oxidação Térmica .....	24
5.3. Hidrólise.....	26
5.4 Polimerização .....	27
5.5. Actividade Microbiana.....	27

6.	ÓLEOS ALIMENTARES USADOS .....	28
6.1.	Legislação Comunitária e Nacional .....	29
6.2.	Processos de Valorização .....	30
6.3.	Impacto Ambiental .....	31
IV.	MATERIAIS E MÉTODOS .....	33
1.	ENQUADRAMENTO .....	33
2.	MATERIAIS .....	33
2.1.	Amostras.....	33
2.2.	Reagentes .....	35
3.	PROCEDIMENTOS.....	37
3.1.	Humidade e Atividade da Água ( $a_w$ ).....	37
3.2.	Acidez Total (AT) e Índice de Acidez (IA) .....	41
3.3.	Índice de Peróxidos (IP).....	43
3.4.	Índice de Iodo (IndI) .....	45
3.5.	Cor CIE e CIELAB .....	48
3.6.	Absorvência no Ultravioleta (UV) .....	55
3.7.	Controlo Microbiológico.....	58
4.	VALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE ENSAIO. REPETIBILIDADE .....	61
4.1.	Precisão .....	62
4.2.	Repetibilidade.....	62
V.	ANÁLISE E DISCUSSÃO DE RESULTADOS .....	65
1.	VALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE ENSAIO .....	65
1.1.	Humidade e Actividade da Água ( $a_w$ ).....	66
1.2.	Acidez Total (AT) e Índice de Acidez (IA) .....	72
1.3.	Índice de Peróxidos (IP).....	76
1.4.	Índice de Iodo (IndI) .....	81
1.5.	Cor CIE e CIELAB .....	86

1.6. Absorvências no UV .....	97
2. ANÁLISE ESTATÍSTICA DE RESULTADOS .....	104
2.1. Métodos Clássicos, Volumétricos e $a_w$ .....	104
3.2. Cor CIE e CIELab .....	108
3.3. Absorvência no UV .....	116
3. CONTROLO MICROBIOLÓGICO .....	119
VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	123
VII. BIBLIOGRAFIA .....	126
VIII. Apêndices .....	a
Apêndice I – Ensaio de Secagem .....	b
Apêndice II – Resultados e cálculos da validação do método analítico: Acidez Total (AT) e Índice de Acidez (IA) .....	j
Apêndice III – Resultados e cálculos da validação do método analítico: Índice de Peróxidos (IP) .....	n
Apêndice IV – Resultados e cálculos da validação do método analítico: Índice de Iodo (IndI) .....	q
Apêndice V – Resultados e cálculos da validação do método analítico: Cor CIE e Cor CIELab .....	u
COR CIE .....	v
COR CIELab .....	hh
Apêndice VI – Resultados e cálculos da validação do método analítico: Absorvência no ultravioleta (Abs UV) .....	nn
Apêndice VII – Análise Estatística .....	rr

## Índice de Figuras

<b>Figura 1:</b> Fórmula estrutural do ácido linoleico e do ácido linolénico .....	7
<b>Figura 2:</b> Fórmula estrutural de uma molécula de glicerol e representação esquemática ....	7
<b>Figura 3:</b> Representação de estrutura das moléculas de acilgliceróis. R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> e R <sub>3</sub> .....	8
<b>Figura 4:</b> Esquema representativo dos dois tipos de isómeros ( <i>cis e trans</i> ).....	10
<b>Figura 5:</b> Esquema do processo de obtenção de óleo refinado .....	15
<b>Figura 6:</b> Esquema do mecanismo de hidrogenação. ....	21
<b>Figura 7:</b> Esquema do Processo de autoxidação, com formação de radicais livres .....	24
<b>Figura 8:</b> Esquema da oxidação térmica de um óleo.....	25
<b>Figura 9:</b> Percentagem da produção Estimada de OAU .....	29
<b>Figura 10:</b> OAN – OAU <sub>2x</sub> - OAU <sub>r</sub> .....	34
<b>Figura 11:</b> Esquema do procedimento para a determinação da atividade da água (a <sub>w</sub> ) .....	40
<b>Figura 12:</b> Material utilizado para a leitura da atividade da água (a <sub>w</sub> ) - cadinho.....	40
<b>Figura 13:</b> Diagrama CIE de cromaticidade.....	50
<b>Figura 14:</b> Esfera da cor CIEL*a*b*. ....	55
<b>Figura 15:</b> Curvas de secagem do OAN.....	67
<b>Figura 16:</b> Curva de secagem do OAU <sub>2x</sub> .....	68
<b>Figura 17:</b> Curvas de secagem do OAU <sub>r</sub> .....	68
<b>Figura 18:</b> Variação da AT em condições de repetibilidade .....	74
<b>Figura 19:</b> Variação da repetibilidade do IP, em OAU <sub>r</sub> com a dimensão da amostra.....	78
<b>Figura 20:</b> Gráfico de variação do IP em condições de repetibilidade.....	81
<b>Figura 21:</b> Comportamento do IndI ao longo do tempo.....	82
<b>Figura 22:</b> Sequência das diferentes fases da titulação do método tradicional (Wijs) de determinação do IndI.....	82
<b>Figura 23:</b> Gráfico da variação do índice de iodo em condições de repetibilidade .....	85
<b>Figura 24:</b> Variação da repetibilidade do IndI, em OAU <sub>r</sub> com a dimensão da amostra com e sem centrifugação .....	86
<b>Figura 25:</b> Amostra dos três óleos, OAN – OAU <sub>2x</sub> – OAU <sub>r</sub> após o processo de secagem	98
<b>Figura 26:</b> Representação gráfica do parâmetro a <sub>w</sub> .....	106
<b>Figura 27:</b> Representação gráfica do parâmetro IA .....	107
<b>Figura 28:</b> Representação gráfica do parâmetro AT .....	107
<b>Figura 29:</b> Representação gráfica do parâmetro IInd .....	107
<b>Figura 30:</b> Representação gráfica do parâmetro IP .....	107

<b>Figura 31:</b> Representação gráfica do parâmetro $Tg \alpha$ .....	110
<b>Figura 32:</b> Representação gráfica do parâmetro $\lambda$ dominante .....	110
<b>Figura 33:</b> Representação gráfica do parâmetro $\sigma$ .....	111
<b>Figura 34:</b> Representação gráfica do parâmetro $Y$ .....	111
<b>Figura 35:</b> Representação gráfica do parâmetro $L^*$ .....	114
<b>Figura 36:</b> Representação gráfica do parâmetro $a^*$ .....	114
<b>Figura 37:</b> Representação gráfica do parâmetro $b^*$ .....	115
<b>Figura 38:</b> Representação gráfica do parâmetro absorvência no UV para $K_{232}$ .....	117
<b>Figura 39:</b> Representação gráfica do parâmetro absorvência no UV para $K_{268}$ .....	117
<b>Figura 40:</b> Gráfico $dL^*(D65)$ obtido no colorímetro para o OAN.....	ii
<b>Figura 41:</b> Gráfico $L^*(D65)$ obtido no colorímetro para o OAN.....	ii
<b>Figura 42:</b> Gráfico $dL^*(D65)$ obtido no colorímetro para o $OAU_{2x}$ .....	kk
<b>Figura 43:</b> Gráfico $L^*(D65)$ obtido no colorímetro para o $OAU_{2x}$ .....	kk
<b>Figura 44:</b> Gráfico $dL^*(D65)$ obtido no colorímetro para o $OAU_r$ .....	mm
<b>Figura 45:</b> Representação gráfica do parâmetro absorvência no UV - $\Delta_{268}$ .....	xx

## Índice de Quadros

<b>Quadro 1:</b> Composição Química de uma Gordura ou Óleo .....	8
<b>Quadro 2:</b> Principais ácidos gordos saturados .....	10
<b>Quadro 3:</b> Principais ácidos gordos insaturados .....	10
<b>Quadro 4:</b> Composição do óleo alimentar (valores por 100g de parte edível) .....	16
<b>Quadro 5:</b> Reações e interação ocorridas num óleo alimentar com a temperatura .....	26
<b>Quadro 6:</b> Levantamento de reagentes necessários.....	36
<b>Quadro 7:</b> Variação da massa da toma com o valor esperado de índice de iodo .....	47
<b>Quadro 8:</b> Número de placas por diluição .....	61
<b>Quadro 9:</b> Tempo de secagem das amostras de óleo .....	66
<b>Quadro 10:</b> Valores de $a_w$ medidos para os três tipos de óleos.....	70
<b>Quadro 11:</b> resultados de validação do parâmetro $a_w$ .....	71
<b>Quadro 12:</b> resultados da validação (repetibilidade) do parâmetro AT e IA. ....	73
<b>Quadro 13:</b> variação dos valores de AT, para o OAN e OAU <sub>r</sub> .....	75
<b>Quadro 14:</b> resultados de validação (repetibilidade) do parâmetro IP para as amostras de OAN, OAU <sub>2x</sub> e OAU <sub>r</sub> . ....	77
<b>Quadro 15:</b> comparação de variáveis em condições de repetibilidade .....	79
<b>Quadro 16:</b> resultados de validação do parâmetro IndI para as amostras OAN, OAU <sub>2x</sub> e OAU <sub>r</sub> .....	84
<b>Quadro 17:</b> resultado de validação do parâmetro IndI para as amostras de óleo OAU <sub>r</sub> sem (caso 4) e com (caso5) centrifugação .....	86
<b>Quadro 18:</b> Coeficiente de variação repetibilidade para OAN, parâmetro da cor CIE.....	87
<b>Quadro 19:</b> Coeficiente de variação repetibilidade para OAU <sub>2x</sub> , parâmetro da cor CIE... ..	87
<b>Quadro 20:</b> Coeficiente de variação repetibilidade para OAU <sub>r</sub> , parâmetro da cor CIE.....	88
<b>Quadro 21:</b> Quadro comparativo do caso 2 e 3 para a amostra de OAN.....	89
<b>Quadro 22:</b> Quadro comparativo do caso 2 e 3 para a amostra de OAU <sub>2x</sub> .....	90
<b>Quadro 23:</b> Quadro comparativo do caso 2 e 3 para a amostra de OAU <sub>r</sub> .....	91
<b>Quadro 24:</b> Leituras e resultados do parâmetro da Cor CIELab para os OAN com centrifugação .....	94
<b>Quadro 25:</b> Leituras e resultados do parâmetro da Cor CIELab para os OAU <sub>2x</sub> com centrifugação .....	95
<b>Quadro 26:</b> Leituras e resultados do parâmetro da Cor CIELab para os OAU <sub>r</sub> com centrifugação .....	96

<b>Quadro 27:</b> Resultados do 1º teste prévio do critério de diluição/concentração.....	97
<b>Quadro 28:</b> Resultado do 2º teste prévio do critério de diluição/concentração .....	99
<b>Quadro 29:</b> resultados do teste ao líquido de referência .....	101
<b>Quadro 30:</b> leitura de absorvência para amostra de OAU <sub>r</sub> em diluição 1:5 e 1:25 .....	101
<b>Quadro 31:</b> Variação da repetibilidade para a diluição 1:5.....	102
<b>Quadro 32:</b> Variação da repetibilidade para a diluição 1:25.....	102
<b>Quadro 33:</b> Coeficiente de variação repetibilidade para OAN - Absorvência no UV .....	103
<b>Quadro 34:</b> Coeficiente de variação repetibilidade para OAU <sub>2x</sub> - Absorvência no UV ..	103
<b>Quadro 35:</b> Coeficiente de variação repetibilidade para OAU <sub>r</sub> - Absorvência no UV ....	103
<b>Quadro 36:</b> Valores médios e desvio padrão dos parâmetros a <sub>w</sub> , IA, AT, IndI e IP.....	105
<b>Quadro 37:</b> Valores médios e desvio padrão do parâmetro Cor CIE.....	109
<b>Quadro 38:</b> Valores médios e desvio padrão do parâmetro Cor CIELab.....	113
<b>Quadro 39:</b> Valores médios e desvio padrão do parâmetro Absorvência no UV para K <sub>232</sub> e K <sub>268</sub> .....	116
<b>Quadro 40:</b> Valores médios e desvio padrão do parâmetro Absorvência no UV para Δ <sub>268</sub> .....	118
<b>Quadro 41:</b> Resultado da contagem de microrganismos lipolíticos.....	120
<b>Quadro 42:</b> Resultado da contagem de fungos xerófilos .....	121
<b>Quadro 43:</b> resultado da contagem de fungos lipolíticos.....	122
<b>Quadro 44:</b> 1º ensaio prévio do tempo de secagem do OAN), tempo de secagem utilizado – 21 horas .....	d
<b>Quadro 45:</b> 1º ensaio prévio do tempo de secagem do OAU <sub>r</sub> em número indeterminado de reutilizações, tempo de secagem utilizado – 21 horas.....	e
<b>Quadro 46:</b> 2º Ensaio prévio do tempo de secagem do OAN, tempo de secagem utilizado – 2 horas. ....	f
<b>Quadro 47:</b> 2º Ensaio prévio do tempo de secagem do OAU <sub>2x</sub> , tempo de secagem utilizado – 1 hora e 45 minutos .....	g
<b>Quadro 48:</b> 2º Ensaio prévio do tempo de secagem do OAU <sub>r</sub> , tempo de secagem utilizado – 5 hora e 30 minutos .....	h
<b>Quadro 49:</b> 3º Ensaio prévio do tempo de secagem do OAN, tempo de secagem utilizado – 1 hora e 30 minutos .....	i
<b>Quadro 50:</b> Ensaio para OAN com dimensão da amostra de 5g com o padrão 0,01 N NaOH.....	k

<b>Quadro 51:</b> Ensaio para OAN com dimensão da amostra de 20g com o padrão 0,1 N NaOH.....	k
<b>Quadro 52:</b> Ensaio para óleo OAU <sub>2x</sub> com dimensão da amostra de 5g com o padrão 0,01 N NaOH.....	l
<b>Quadro 53:</b> Ensaio para OAU <sub>2x</sub> com dimensão da amostra de 20g com o padrão 0,1 N NaOH.....	l
<b>Quadro 54:</b> Ensaio para OAU <sub>r</sub> com dimensão da amostra de 5g com o padrão 0,01 N NaOH.....	m
<b>Quadro 55:</b> Ensaio para OAU <sub>r</sub> com dimensão da amostra de 20g com o padrão 0,1 N NaOH.....	m
<b>Quadro 56:</b> Ensaio para OAN com dimensão da amostra de ±2g com o padrão 0,01 N de Tiosulfato de Sódio .....	o
<b>Quadro 57:</b> Ensaio para OAU <sub>2x</sub> com dimensão da amostra de ±2g com o padrão 0,01 N de Tiosulfato de Sódio .....	o
<b>Quadro 58:</b> Ensaio para OAU <sub>r</sub> com dimensão da amostra de ±2g com o padrão 0,01 N de Tiosulfato de Sódio .....	p
<b>Quadro 59:</b> Ensaio para OAU <sub>r</sub> com dimensão da amostra de ±5g com o padrão 0,01 N de Tiosulfato de Sódio .....	p
<b>Quadro 60:</b> Estudo da cor aparente dos três óleos, OAN – OAU <sub>2x</sub> , OAU <sub>r</sub> .....	v
<b>Quadro 61:</b> Estudo da cor verdadeira, após centrifugação a 3000 r.p.m durante 30 minutos .....	w
<b>Quadro 62:</b> Estudo da cor verdadeira, após centrifugação e decantação .....	x
<b>Quadro 63:</b> Resultado do teste ao líquido de referência .....	y
<b>Quadro 64:</b> coordenadas cromáticas param as amostras de óleos sem centrifugação .....	bb
<b>Quadro 65:</b> coordenadas cromáticas param as amostras de óleos com centrifugação e decantação .....	cc
<b>Quadro 66:</b> comprimento de onda dominante para as amostras de óleo sem centrifugação .....	dd
<b>Quadro 67:</b> comprimento de onda dominante para as amostras de óleo centrifugadas e decantadas.....	ee
<b>Quadro 68:</b> Pureza e transparências para as amostras de óleo sem centrifugação.....	ff
<b>Quadro 69:</b> Pureza e transparências para as amostras de óleo com centrifugação e decantadas.....	gg
<b>Quadro 70:</b> Leituras e cálculos realizados para o parâmetro de cor dos OAN .....	hh

<b>Quadro 71:</b> Leituras e cálculos realizados para o parâmetro de cor dos OAU <sub>2x</sub> .....	jj
<b>Quadro 72:</b> Leituras e cálculos realizados para o parâmetro de cor dos OAU <sub>r</sub> .....	ll
<b>Quadro 73:</b> resultados e cálculos referentes às leituras de absorvência da solução de dicromato de potássio versus hidróxido de potássio 0,05N.....	oo
<b>Quadro 74:</b> Leituras de absorvência .....	pp
<b>Quadro 75:</b> Cálculos auxiliares para absorvência, coeficiente de extinção e extinção específica .....	qq
<b>Quadro 76:</b> Efeito da amostra e variedade nos parâmetros físico-químicos ( <i>Test de Wilks , Multivariate</i> ).....	ss
<b>Quadro 77:</b> Grupos homogêneos para o parâmetro a <sub>w</sub> ( <i>LSD Fisher Post Hoc</i> ) das três amostras de óleos alimentares estudadas.....	ss
<b>Quadro 78:</b> Grupos homogêneos para o parâmetro IA ( <i>LSD Fisher Post Hoc</i> ) das três amostras de óleos alimentares estudadas.....	ss
<b>Quadro 79:</b> Grupos homogêneos para o parâmetro AT ( <i>LSD Fisher Post Hoc</i> ) das três amostras de óleos alimentares estudadas.....	ss
<b>Quadro 80:</b> Grupos homogêneos para o parâmetro IndI ( <i>LSD Fisher Post Hoc</i> ) das três amostras de óleos alimentares estudadas.....	tt
<b>Quadro 81:</b> Grupos homogêneos para o parâmetro IP ( <i>LSD Fisher Post Hoc</i> ) das três amostras de óleos alimentares estudadas.....	tt
<b>Quadro 82:</b> Efeito da amostra e variedade nos parâmetros físico-químicos ( <i>Test de Wilks , Multivariate</i> ).....	tt
<b>Quadro 83:</b> Grupos homogêneos para o parâmetro Cor CIE ( <i>LSD Fisher Post Hoc</i> ) das três amostras de óleos alimentares estudadas.....	tt
<b>Quadro 84:</b> Grupos homogêneos para o parâmetro Cor CIELAB - L* ( <i>LSD Fisher Post Hoc</i> ) das três amostras de óleos alimentares estudadas.....	vv
<b>Quadro 85:</b> Grupos homogêneos para o parâmetro Cor CIELAB - a* ( <i>LSD Fisher Post Hoc</i> ) das três amostras de óleos alimentares estudadas.....	vv
<b>Quadro 86:</b> Grupos homogêneos para o parâmetro Cor CIELAB - b* ( <i>LSD Fisher Post Hoc</i> ) das três amostras de óleos alimentares estudadas.....	vv
<b>Quadro 87:</b> Grupos homogêneos para o parâmetro Absorvência no UV - K <sub>232</sub> ( <i>LSD Fisher Post Hoc</i> ) das três amostras de óleos alimentares estudadas.....	ww
<b>Quadro 88:</b> Grupos homogêneos para o parâmetro Absorvência no UV - K <sub>268</sub> ( <i>LSD Fisher Post Hoc</i> ) das três amostras de óleos alimentares estudadas.....	ww

**Quadro 89:** Grupos homogêneos para o parâmetro Absorvência no UV -  $\Delta_{268}$  (LSD *Fisher Post Hoc*) das três amostras de óleos alimentares estudados. .... ww

## I. INTRODUÇÃO

Óleo alimentar é a mistura de dois ou mais óleos, refinados isoladamente ou em conjunto – Decreto-Lei n.º 106/2005, de 29 de Junho.

O consumo médio diário de óleos alimentares é de 10g de óleo *per capita*; estes são uma fonte válida de energia, vitaminas e ácidos gordos essenciais para uma dieta saudável e equilibrada, tendo sido estabelecido, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), que 30% do consumo calórico deveria ter origem em gorduras vegetais (PITTS *et al.*, 2007).

O processo de fritura dos alimentos por imersão é um processo ancestral; os óleos são aquecidos a temperaturas acima do ponto de ebulição da água e em recipientes abertos em contacto directo com o ar. Os **óleos alimentares usados** (OAU) são usualmente designados óleos de fritura (MATIAS, 2008).

A qualidade dos óleos é subjectiva, dado ser variável com a sua origem, aplicação e funcionalidades. Destinando-se à alimentação humana, exige-se-lhes um rigoroso controlo analítico, para assegurar a genuinidade da sua composição química, inocuidade e características sensoriais *sui generis*. De matriz lipídica, os óleos apresentam composição química relativamente complexa, refletida na sua estrutura interna e estabilidade, com consequências nas suas propriedades reológicas (viscosidade), óticas (cor) e organolépticas, correlacionáveis com o perfil químico (LARANJEIRA *et al.*, 2012).

A degradação dos óleos pode ocorrer por vias química (hidrólise ácida, oxidação, escurecimento e ranço oxidativo), enzimática (hidrólise enzimática e ranço hidrolítico) e actividade microbiana (de bolores, leveduras e por último, bactérias), estando esta última geralmente associada aos estados mais severos de degradação (adaptado de LARAJEIRA e RIBEIRO, 2011).

Os OAU's incorporam produtos de degradação e matérias externas ao óleo, como por exemplo restos de batatas, pão ralado, ovo, entre outros (IGAOT, 2005). Factores como a exposição ao ar, calor, luz, humidade e incorporação de resíduos são as principais causas para a degradação dos óleos de fritura. O efeito da luz é exercido através de compostos minoritários do óleo, tais como pigmentos que podem ser electronicamente excitados por absorção de luz e transferência do excesso de energia para a molécula de

oxigénio, criando o estado de singleto, reativo, favorável à adição de oxigénio a ácidos gordos (adaptado de KALUA *et al.*, 2007).

A reutilização sistemática do óleo, pode causar alterações na estrutura molecular, originando compostos altamente reactivos como os hidropéroxidos e peróxidos, radicais livres de ácidos gordos, que por sua vez originam produtos finais de cisão, como aldeídos, cetonas, dienos conjugados, monómeros cíclicos, ácidos e álcoois de cadeia curta e por outro lado, compostos poliméricos, de elevada massa molar, que passam a fazer parte do alimentos, podendo causar malefícios à saúde do consumidor (adaptado de REDA e CARNEIRO, 2007). As características organolépticas desagradáveis são, em parte, causadas pela presença de ácidos gordos livres e seus produtos de degradação (COUTINHO, 2000); de igual modo, à medida que progride a degradação oxidativa e se acumulam os produtos finais de cisão, voláteis e de baixa massa molar, intensificam-se o odor e sabor a ranço, associáveis a estes compostos (adaptado de LARANJEIRA *et al.*, 2013).

Para caracterizar um óleo alimentar, avaliar a qualidade, estabelecer o tempo de vida de prateleira e os seus mecanismos de degradação antes, durante e após o seu uso, é preciso estabelecer critérios que passam pela selecção cuidadosa dos parâmetros analíticos (químicos, físicos, biológicos) e condições de ensaio (LARANJEIRA *et al.*, 2012).

O destino final destes óleos, em Portugal, está a cargo dos produtores, não existindo um sistema de recolha obrigatório bem articulado. Desta forma, o principal destino dos OAU's é o envio/descarga para a rede de esgotos, apesar de tal prática ser proibida. Além de ser um problema para as ETAR's e para o meio ambiente, a não utilização dos OAU's é um desperdício de matéria-prima, que pode ser valorizada na produção de sabão ou na produção de energia, como por exemplo o biodiesel (IGAOT, 2005).

Neste contexto, o Grupo *Os Mosqueteiros* e a Unidade de Investigação do Instituto Politécnico de Santarém (UIIPS), estabeleceram um contrato de parceria com vista ao desenvolvimento de um projecto bienal (2011-2013), no âmbito da Química Analítica e Ambiental, tendo como entidade executora a Escola Superior Agrária de Santarém. Este projecto visa dar cumprimento à alínea b) do nº 2 do artigo 13º do decreto-lei nº267/2009, que refere que os produtores de óleos alimentares devem prever “acções de investigação e desenvolvimento no domínio da prevenção e valorização dos óleos alimentares usados” (LARANJEIRA *et al.*, 2012; LARANJEIRA e RIBEIRO, 2011).

No projecto bienal, propõe-se a análise comparativa de óleos alimentares novos (OAN) e usados (OAU), em amostras de marca própria fornecidas pelo Grupo *Os Mosqueteiros*, sendo os OAU's obtidos em contexto real de uso (fritura industrial) e por degradação induzida em laboratório. Pretende-se a selecção de Indicadores de Degradação da Qualidade (IDQ's) e o estabelecimento de Melhores Práticas Laboratoriais Disponíveis (MPLD's). O objectivo geral deste projecto, sendo mais abrangente, visa ainda aprofundar e interligar ópticas diferentes do mesmo estudo: 1) análise físico-química, com fim à identificação de alterações significativas em parâmetros de qualidade indicados para estes produtos (e outros produtos afins), sua correlação e evolução temporal e/ou com a reutilização, concretamente: *Humidade, a<sub>w</sub>, Acidez Total, Índice de Peróxidos, Índice de Iodo, Cor CIE, Cor CIELab e Absorvência no UV*; 2) monitorização, por controlo microbiológico, dos óleos estudados na componente química; 3) análise financeira, por imputação de custos a cada método analítico. Ponderou-se que sendo o fator económico uma das premissas e a minimização dos custos um requisito, não faria sentido seleccionar técnicas onerosas para análise de óleos em fim de vida (adaptado de LARANJEIRA *et al.*, 2013; LARANJEIRA *et al.*, 2012 e LARANJEIRA e RIBEIRO, 2011).

## II. OBJETIVO

### Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objectivo avaliar parâmetros físico-químicos e seleccionar os que permitem uma melhor e mais rápida detecção e qualificação de estados de degradação incipiente ou profunda (severa) em óleos alimentares novos e usados, por forma a identificá-los e recomendá-los como *Indicadores de Degradação da Qualidade*.

### Objetivos Específicos

Tratando-se de um projecto em co-promoção com um horizonte de vida de dois anos (LARANJEIRA e RIBEIRO, 2011), que se prolongará para além do *terminus* do presente trabalho, os objectivos específicos deste projecto, são:

- Avaliar e comparar resultados do perfil de composição de óleos alimentares novos (OAN's) e usados (OAU's), mediante análise físico-química, com fim à identificação de alterações significativas nos valores de parâmetros - seleccionados de acordo com as normas e regulamentos específicos para este tipo de produtos e outros parâmetros complementares de reconhecida importância -, concretamente: *Teor de Humidade* e  $a_w$  (actividade da água), *Acidez Total* e *Índice de Acidez*, *Índice de Peróxidos*, *Índice de Iodo*, *Cor CIE*, *Cor CIELab* e *Absorvência no UV*;
- Estudar, em condição de laboratório, as técnicas analíticas físico-químicas pré-seleccionadas, mediante a realização de ensaios preliminares em óleos novos e usados, com fim à optimização e validação das metodologias, bem como ao estabelecimento de gamas espectáveis de valores por parâmetro, por forma a estabelecer Melhores Práticas Laboratoriais Disponíveis (MPLD's);
- Monitorizar, por controlo microbiológico, os óleos estudados na componente química, atendendo a que a degradação por via microbiológica se associa geralmente aos estados mais severos da degradação dos OAU's.

Sublinha-se que a necessidade de realização, neste trabalho, de um estudo prévio conducente à optimização e validação das técnicas analíticas físico-químicas pré-seleccionadas, mediante a realização de ensaios preliminares em óleos novos e usados, bem como a definição de gamas paramétricas e de trabalho adaptadas a OAU's, constitui o aspecto fulcral desta fase do trabalho (primeiro ano do projecto bienal).

Com efeito, tendo em conta que a composição dos óleos evolui com a sua reutilização, um dos objectivos principais do projecto consiste na identificação e recomendação dos métodos analíticos mais promissores para os OAU's. Considerando os mecanismos da sua degradação, ponderou-se que seria previsível a gama de valores paramétricos, em óleos em fim vida, diferir da dos óleos novos ou com um pequeno número de utilizações (implicando, plausivelmente, a necessidade de adaptação das próprias metodologias recomendadas). Importa, pois, proceder a adaptações e validá-las, quantificar diferenças e verificar em que parâmetros são (mais) significativas. (adaptado de LARANJEIRA *et al.*, 2013; HENRIQUES, LARANJEIRA e RIBEIRO *et al.*, 2012 e LARANJEIRA e RIBEIRO, 2011)

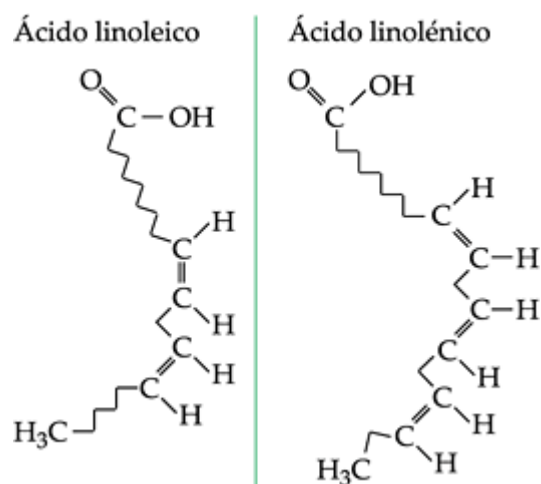
### III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste Capítulo, com vista a alcançar os objectivos propostos, iniciou-se um trabalho de revisão à bibliografia existente, no que diz respeito à origem, obtenção e degradação de óleos alimentares, para melhor se compreenderem estes produtos, quando estudados numa perspectiva menos comum: a óptica dos óleos alimentares usados e em fim de vida, sua requalificação, valorização, legislação aplicável e o seu impacto no meio ambiente.

#### 1. LÍPIDOS

Lípidos são componentes importantes, que contribuem significativamente para o valor nutricional e sensorial de quase todos os alimentos (KOLAKOWSKA e SIKORSKI, 2003). O termo lípido usa-se para designar um conjunto bastante heterogéneo de compostos (RICARDO e TEIXEIRA, 1983). É o nome científico dado a uma ampla gama de compostos naturais, constituídos por carbono, hidrogénio e oxigénio em diferentes proporções. Por definição, são compostos biológicos que têm em comum uma muito reduzida solubilidade na água (hidrofóbicos) e uma elevada solubilidade em solventes orgânicos como o éter etílico, éter de petróleo, clorofórmio, benzeno, tetracloreto de carbono, acetona, entre outros (GUNSTONE, 2008; RICARDO e TEIXEIRA, 1983). A designação de lípido implica ainda a propriedade do composto ser utilizável pelo organismo animal, para que assim se excluam os óleos minerais e os seus derivados (RICARDO e TEIXEIRA, 1983). O efeito sobre a qualidade dos alimentos é predominantemente relacionada com o conteúdo, distribuição na matriz alimentar, composição química e reatividade dos lípidos, bem como às suas transformações físicas devidas ao processamento e à interação com outros componentes (KOLAKOWSKA e SIKORSKI, 2003).

Os óleos e gorduras estão incluídos neste grupo, são uma fonte de energia e fornecem elementos e compostos essenciais para as células do corpo humano, tais como os ácidos gordos linoleico e linolénico e são ricos em vitaminas A, D, E e K (CHISTIAN e VACLAVIK, 2008) (**FIG. 1**).



**Figura 1:** Fórmula estrutural do ácido linoleico e do ácido linolénico  
 (<http://profs.ccems.pt/OlgaFranco/10ano/biomoleculas.htm>)

Óleos e gorduras são designações usualmente empregues para denominar um grupo de lípidos simples, saponificáveis, formados por ésteres de acilgliceróis, produtos resultantes da esterificação entre uma molécula glicerol e ácidos gordos. Os acilgliceróis, são compostos hidrofóbicos e à temperatura ambiente, possuem uma consistência pastosa, de líquido para sólido (**FIG. 2**). De facto, quando estão sob forma sólida, à temperatura ambiente, são denominados **gorduras** e quando estão sob forma líquida são chamados **óleos** (FARIA *et al.*, 2002; RICARDO e TEIXEIRA, 1983).



**Figura 2:** Fórmula estrutural de uma molécula de glicerol e representação esquemática (fórmula reduzida) de um triacilglicerol (<http://www.enq.ufsc.br>)

## 2. ÓLEOS VEGETAIS

Os óleos e as gorduras vegetais são essencialmente formados por acilgliceróis (97% do óleo) ou seja, uma molécula de glicerol à qual estão ligados um, dois ou três ácidos gordos.

A composição química é bastante importante visto que influencia as propriedades físicas essenciais do óleo, como a viscosidade, o ponto de fusão e a estabilidade térmica,

permitindo assim prever, o comportamento de um dado óleo vegetal (CHOW & LOBB, 2008) (**QUADRO 1**).

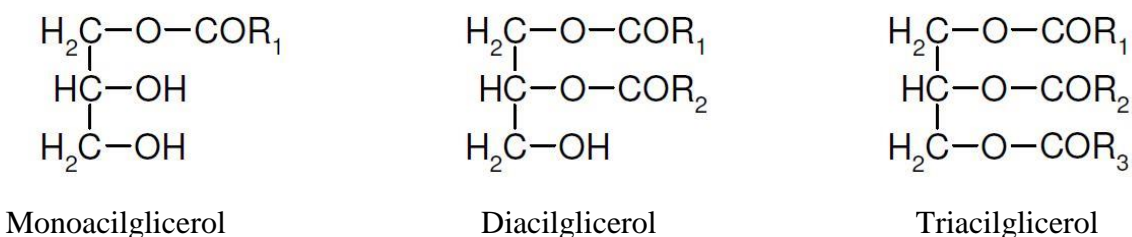
**Quadro 1:** Composição Química de uma Gordura ou Óleo (CHOW & LOBB, 2008)

97 – 99%		1 – 3%
<b>Acilgliceróis</b>	Triacilgliceróis (TAG)	Fosfolípidos
	Diacilgliceróis (DAG)	Tocoferóis
	Monoacilgliceróis (MAG)	Esteróis
<b>Ácidos Gordos Livres</b>	Saturados	Hidrocarbonetos
	Monoinsaturados	Álcoois Superiores
	Polinsaturados	Vitaminas Lipossolúveis
		Pigmentos

## 2.1. Composição dos Óleos Vegetais

### 2.1.1 Acilgliceróis

Os acilgliceróis (ou lípidos neutros) contêm glicerol unido a um ou vários ácidos gordos através de ligações éster. As gorduras naturais existentes contêm cerca de 95% de triacilgliceróis (TAG), entre 0,1 e 2% de diacilgliceróis (DAG) e de monoacilgliceróis (MAG). Tri-, di-, e monoacilgliceróis são constituídos por uma molécula de glicerol à qual estão ligadas três, duas ou uma molécula de ácidos gordos, respectivamente (APARICIO, 2000; FIRESTONE, 1996; RICARDO e TEIXEIRA, 1983) (**FIG. 3**).



**Figura 3:** Representação de estrutura das moléculas de acilgliceróis. R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> representam grupos alquilo constituídos por átomos de carbono e de hidrogénio (<http://lipidlibrary.aocs.org>).

Os triacilgliceróis têm, tanto nas plantas como nos animais, funções de reserva energética. Ocorrem em todos os órgãos vegetais, embora os órgãos vegetativos contenham pequenas percentagens em relação às encontradas em sementes e alguns frutos (RICARDO e TEIXEIRA, 1983).

### 2.1.2. Ácidos Gordos

As propriedades funcionais dos óleos são determinadas pela sua composição em ácidos gordos e também pelo padrão de distribuição dos resíduos de ácidos gordos nos triacilgliceróis (DUBOIS *et al.*, 2007).

Os ácidos gordos são moléculas cuja estrutura apresenta uma longa cadeia hidrocarbonada saturada ou insaturada, ligada a um grupo metilo (-CH<sub>3</sub>) numa extremidade da cadeia e a um grupo carboxilo (-COOH) (CAMPOS, 2005).

Os ácidos gordos mais frequentes das gorduras e dos óleos são em geral de moléculas não ramificadas e com um número par de átomos de carbono, entre 2 e 22. Os ácidos gordos com moléculas ramificadas, com um número ímpar de átomos de carbono ou com cadeias curtas (menos de 6 átomos de carbono) aparecem raramente a constituir triacilgliceróis (RICARDO e TEIXEIRA, 1983).

A numeração dos carbonos dos ácidos gordos faz-se a partir do carboxilo terminal (C1) para o grupo metil (Cn). Por representarem até 96% da massa total dos lípidos, contribuem de forma significativa para as propriedades físico-químicas dos diferentes óleos e gorduras. O tamanho das cadeias de ácidos gordos, o grau de insaturação e a posição das duplas ligações influenciam as propriedades físicas e químicas destes compostos (CAMPOS, 2005; DUBOIS, 2007).

Quando saturados, possuem apenas ligações simples entre carbonos e possuem pouca reactividade química; encontram-se fundamentalmente nas gorduras de origem animal (**QUADRO 2**). Já os ácidos gordos insaturados, contêm uma ou mais ligações duplas no seu esqueleto carbónico (*Monounsaturated Fatty Acids* – MUFA – com ligação dupla ou *Polyunsaturated Fatty Acids* – PUFA – com duas ou mais ligações duplas); são mais reativos e mais susceptíveis a termo-oxidação (adaptado de GARISO, 2011) (**QUADRO 3**).

**Quadro 2:** Principais ácidos gordos saturados

PRINCIPAIS ÁCIDOS GORDOS SATURADOS		
Nº de carbonos	Nome Vulgar	Fórmula
4	Butírico	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH
5	Valérico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH
6	Capróico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH
8	Caprílico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH
10	Cáprico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> COOH
12	Láurico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH
14	Mirístico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH
16	Palmítico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH
18	Estearico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> COOH
20	Araquídico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> COOH
22	Beénico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>20</sub> COOH
24	Linhocérico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>22</sub> COOH

Adaptada de CAMPOS (2005)

**Quadro 3:** Principais ácidos gordos insaturados

PRINCIPAIS ÁCIDOS GORDOS INSATURADOS			
N.º de carbonos	N.º de duplas ligações	Nome vulgar	Fórmula
14	1	Miristoleico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
16	1	Palmitoleico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
18	1	Oleico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
18	2	Linoleico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> (CH=CHCH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH
18	3	Linolénico	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> (CH=CHCH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH
20	4	Araquidónico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> (CH=CHCH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH

Adaptada de CAMPOS (2005)

A presença de duplas ligações (insaturações) pode conduzir a fenómenos de isomeria geométrica *cis* e *trans* durante o processo de refinação (**FIG. 4**).



**Figura 4:** Esquema representativo dos dois tipos de isómeros (*cis* e *trans*) (<http://lipidlibrary.aocs.org>).

O isómero *cis* ocorre quando os átomos de hidrogénio à volta da ligação dupla estão do mesmo lado da cadeia hidrocarbonada; se estes átomos se encontram em lados opostos da cadeia, ocorre o isómero *trans*. As duplas ligações, quando presentes, encontram-se quase sempre na natureza na forma *cis* (COULTATE, 1999).

Os óleos vegetais são uma das principais fontes de ácidos gordos polinsaturados (PUFA's); estes são compostos de elevado valor nutricional, sendo frequentemente associados a atividades fisiológicas. No entanto, são também estes ácidos gordos essenciais os principais responsáveis pela instabilidade dos óleos quando na presença de compostos indutores da degradação, como o oxigénio (DUBOIS, 2007).

### **2.1.3. Esteróis**

São provavelmente os mais importantes compostos minoritários e constituem a maior parte da fracção insaponificável dos lípidos. Estão presentes em todos os óleos e são característicos do produto (APARICIO *et al.*, 2000; FIRESTONE *et al.*, 1996). Podem encontrar-se na forma livre ou esterificados com ácidos gordos (FIRESTONE *et al.*, 1996). A sua grande variabilidade entre diferentes óleos vegetais, torna-se um parâmetro adequado para determinação da origem botânica dos óleos e também para detectar adulterações e contaminações entre os óleos vegetais (APARICIO *et al.*, 2000). Apesar dos esteróis serem geralmente estáveis ao calor, temperaturas elevadas e certos tratamentos durante o processo de refinação podem afectar o seu teor nos óleos vegetais (FIRESTONE *et al.*, 1996). A estes compostos são atribuídos inúmeras actividades biológicas, nomeadamente acção antioxidante (ABIDI, 2001).

### **2.1.4. Compostos polares**

Estes compostos são definidos como o conjunto dos materiais glicerídicos que não sendo triacilgliceróis apresentam maior polaridade que estes. A sua determinação é actualmente considerada como o parâmetro que melhor informa acerca do estado de deterioração oxidativa do óleo. São vários os factores que contribuem para a degradação do óleo, embora a água, a temperatura e o oxigénio sejam considerados com os principais. A água é responsável pela hidrólise dos triacilgliceróis. Na presença de oxigénio, a autoxidação lipídica leva à formação de hidroperóxidos (CERT *et al.*, 2000).

### 3. TECNOLOGIA

O processo de extração de óleo varia de acordo com a matéria-prima processada. São dois, os métodos genéricos empregues na extração de óleos vegetais: a prensagem e a extração por solvente, ou ainda, uma combinação de ambos.

O processamento de óleos pode dividir-se em três etapas com diversas operações unitárias cada (**FIG. 5**). Essas etapas podem designar-se por **pré-tratamentos** (seleção e limpeza das sementes, secagem, descasque, trituração e cozedura), **obtenção** (extração, eliminação dos solventes) e **refinação** (desgomagem, neutralização, branqueamento e desodorização) (SOVENA, 2012; INETI, 2001).

#### **Pré-tratamentos**

Antes de se proceder à extração do óleo, é necessário verificar a qualidades das sementes e a rentabilidade do processo. Os diversos tipos de sementes, como girassol, soja, colza, entre outros, são descarregadas para silos onde são armazenadas até se iniciar o processo produtivo (SOVENA, 2012).

Após colheita, as sementes oleaginosas são submetidas a secagem para permitir um armazenamento prolongado com um mínimo de deterioração. Procede-se em seguida à remoção de impurezas, utilizando peneiras, aspiradores e ímanes. É um passo muito importante para obtenção de um óleo de elevada qualidade e para prevenir que o equipamento de processamento se danifique. Após eliminação das impurezas, algumas sementes têm de ser descascadas. Por exemplo, para o óleo de girassol é normalmente feito o descasque antes da extração do óleo. Este passo aumenta a capacidade de extração. A cozedura é outra etapa importante para inativar enzimas lipolíticas ou outras indesejáveis e para romper a estrutura da célula (SOVENA, 2012; FREIRE, 2002).

#### **Obtenção**

Para sementes de baixo teor de gordura (ex. soja), depois da limpeza, trituração, cozimento e laminagem, realiza-se a extração e esta é feita com solvente orgânico. Na segunda extração tritura-se o resíduo, seca-se e submete-se a uma extração por percolação, habitualmente em contracorrente. A mistura solvente/óleo separa-se por destilação com recuperação do solvente. Um dos solventes permitidos e dos mais usados é o hexano, que apesar de inflamável, é menos tóxico que outros. No caso de sementes ricas, de elevado teor de gordura (ex. colza e girassol), é feito um passo prévio de prensagem mecânica onde

70% do óleo cru é obtido por expressão (extração mecânica) e o restante por extração por solventes (adaptado de SOVENA, 2012; FREIRE, 2002)

## **Refinação**

O produto obtido por pressão e extração de sementes oleaginosas designa-se óleo bruto e contém 10 a 15% de impurezas, principalmente AG livres e fosfolípidos, que são posteriormente eliminados através da refinação. Estes compostos podem conferir sabor, cheiro e aparência desagradáveis e diminuir a estabilidade do produto. Para tornar o óleo bruto próprio para alimentação humana, este é submetido a um conjunto de operações de purificação. As etapas da refinação são: **desgomagem**, **neutralização**, **branqueamento** e **desodorização** (SOVENA, 2012; FREIRE, 2002; INETI, 2001)

A **desgomagem** visa remover fosfatídios, que devido ao seu poder emulsionante, conduziriam a perdas de óleo durante a refinação. Na desgomagem procede-se à hidratação dos fosfatídios, usando soluções aquosas de ácido fosfórico ou cítrico a 60-80° C. Os fosfatídios tornam-se insolúveis no óleo, sendo removidos por centrifugação ou filtração (FREIRE, 2002)

Os óleos brutos contêm teores elevados de AG livres, o que pode ser um risco acrescido de deterioração oxidativa. Uma colheita cuidada e um armazenamento adequado das sementes, é muito importante para obtenção de um óleo bruto com um teor de AG livres reduzido. Os AG livres provocam odores desagradáveis, pelo que devem ser removidos para que o óleo se torne edível. A operação de **neutralização** consiste em eliminar os AG livres sob a forma de sabões, através da adição de hidróxido de sódio (NaOH) ou de potássio (KOH) a quente, com posterior separação. No entanto, inicialmente, é adicionado ácido fosfórico que remove a acidez e os fosfatídeos, sendo no caso do girassol necessária uma operação adicional de *winterização*, que tem como objetivo evitar que o óleo turve quando frio. Os AG precipitam na forma de sabões e podem ser eliminados por adição de água e decantação/centrifugação. Na solução alcalina também podem ser eliminados outras impurezas como proteínas, fosfolípidos e sais minerais (SOVENA, 2012; FREIRE, 2002; INETI, 2001).

O principal objetivo do **branqueamento** é a remoção dos compostos corados indesejáveis presentes nos óleos brutos ou parcialmente refinados. O método é baseado na

oxidação/absorção de pigmentos, o que conduz a um produto sem cor. Nesta fase podem também ser eliminados peróxidos e iões de metais pesados (SOVENA, 2012).

A **desodorização** é o último passo na refinação. Consiste basicamente em eliminar algumas substâncias, não eliminadas nas fases anteriores, que produzem odores desagradáveis, como aldeídos e cetonas, ou resíduos de AG livres. Faz-se por destilação a pressão reduzida e temperaturas inferiores a 200°C. Devem evitar-se aquecimentos prolongados que podem originar polimerização. A remoção destas substâncias assegura a estabilidade do produto, garantindo-lhe um período de vida aceitável (SOVENA, 2012; FREIRE, 2002).

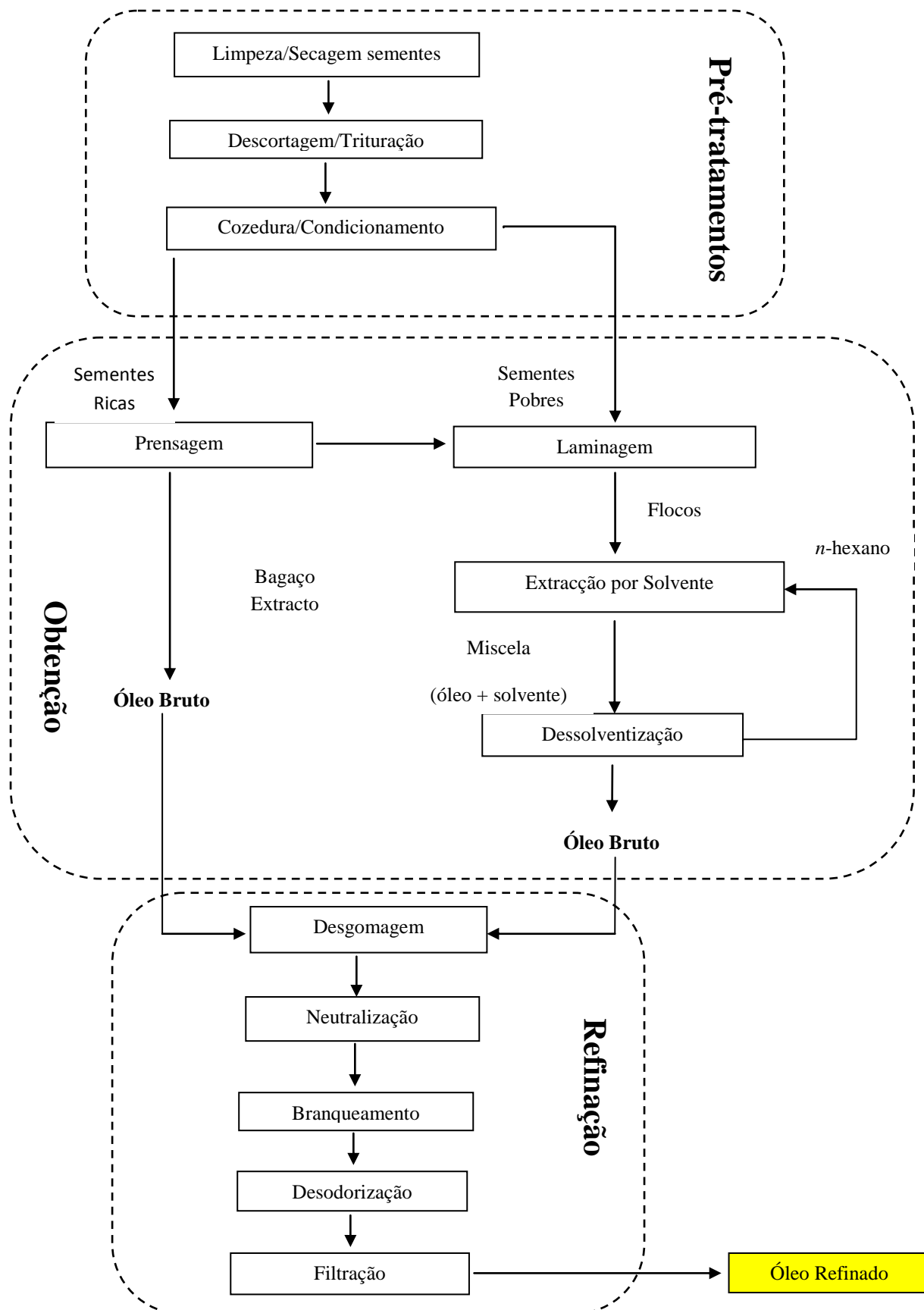


Figura 5: Esquema do processo de obtenção de óleo refinado (Adaptado de SOVENA, 2012)

## 4. ÓLEO ALIMENTAR

Óleo vegetal alimentar é constituído essencialmente por triacilgliceróis, que são formados pela esterificação completa do glicerol com ácidos gordos. Os triacilgliceróis são insolúveis em água e à temperatura ambiente, variam em consistência de líquido a sólido (REDA e CARNEIRO, 2007) (**QUADRO 4**).

Segundo a legislação Portuguesa, óleo alimentar define-se como: “ **a mistura de dois ou mais ou mais óleos, refinados isoladamente ou em conjunto**” (Decreto-Lei n.º 106/2005, de 29 de Junho).

**Quadro 4:** Composição do óleo alimentar (valores por 100g de parte edível)

<b>Ácidos Gordos</b>	
<b>Saturados</b>	11,3 g
<b>Monoinsaturados</b>	58,4 g
<b>Polinsaturados</b>	17,7 g
<b>Trans</b>	0,2 g
<b>Ácido Linoleico</b>	63,8 g

(Adaptado de Tabela da Composição de Alimentos, 2006)

### 4.1. Tipos de Óleos

As principais fontes de obtenção de gorduras são as plantas e os animais. As gorduras e os óleos vegetais destinados à alimentação humana devem ser provenientes de **frutos** (azeitona, palma, coco) ou **sementes** (girassol, amendoim, soja, colza). Segundo o Decreto-Lei n.º 106/2005 de 29 de Junho os óleos e gorduras vegetais em estado para o consumo humano são:

- **Algodão**

O óleo de algodão é obtido da semente de diversas espécies cultivadas da *Gossypium* (DL n.º106/2005).

- **Amendoim**

Óleo de Amendoim é obtido da semente de *Arachis hipogaea* L. (DL n.º106/2005).

As sementes de amendoim contêm 45-55% de óleo, sendo a extracção feita por pressão seguida de extracção por solvente. Tem uma excelente estabilidade oxidativa e é considerado um óleo de excelência para cozinhar e fritar alimentos (O'Brien, 2000).

- **Arroz**

Óleo de arroz é obtido do farelo e gérmen da semente de *Oriza sativa* L. (DL nº106/2005).

- **Azeitona**

O óleo de bagaço de azeitona é obtido do fruto de *Olea europaea* L., após obtenção do azeite (DL nº106/2005).

A extração de azeite virgem corresponde a 30 a 38% da azeitona. A extração do bagaço de azeitona é um processo químico, utilizando um solvente, n-hexano e obtêm-se óleo cru de extração. O teor de gordura é variável e depende do tipo de processo utilizado na extração de azeite (adaptado de GARISO, 2010).

- **Babussu**

Óleo de babassu é obtido da amêndoa do fruto de diversas espécies da palmeira *Orbignya* (DL nº106/2005).

- **Bolota**

Óleo de bolota é obtido do fruto do *Quercus ilex* L. e *Quercus suber* L. (DL nº106/2005).

- **Cártamo**

Óleo de cártamo é obtido da semente de *Carthamus tinctorius* L. (DL nº106/2005).

- **Coco**

Gordura de coco é obtida da amêndoa parcialmente seca do fruto do coqueiro, *Cocos nucifera* Linnaeus (DL nº106/2005).

- **Colza**

Óleo de colza é obtido da semente de *Brassica napus* L. e de *Brassica campestris* L. (DL nº106/2005).

Este óleo vegetal é usado como óleo alimentar. Apresenta um baixo teor de ácidos gordos saturados (C16:0 ácido palmítico, 3,5% e C18:0 ácido esteárico, 0,9%), alto teor de ácidos gordos monoinsaturados (C18:1 ácido oleico) e ainda contém um nível moderado de ácidos

gordos polinsaturados (C18:2 ácido linoleico, 31% e C18:3 ácido linolénico, 8,23%) (O'BRIEN, 2000).

- **Gergelim ou Sésamo**

Óleo de gergelim ou sésamo é obtido da semente de *Sesamum indicum* L. (DL nº106/2005).

- **Girassol**

Óleo de girassol é obtido da semente de *Helianthus annuus* L. (DL nº106/2005).

O teor de óleo das sementes de girassol varia entre 20 e 40%. O óleo de girassol é constituído essencialmente por quatro ácidos gordos, sendo o mais abundante o ácido oleico, seguido do ácido linoleico. O ácido palmítico e o esteárico estão presentes numa menor percentagem (ENIG, 2000).

- **Grainha de Uva**

Óleo de grainha de uva é um produto obtido das sementes da *Vitis vinífera* L. (DL nº106/2005).

O teor de óleo oscila entre 6 e 20% dependendo da variedade da uva. Apresenta um teor de ácido linoleico de cerca de 70% e uma baixa concentração de ácidos gordos saturados, aproximadamente 7% (adaptado de GARISO, 2010).

- **Mostarda**

Óleo de mostarda é obtido da semente da mostarda branca *Sinapis alba* L. ou *Brassica hirta* Moench, da mostarda castanha e amarela *Brassica juncea* L. Czern e Coss e ainda da mostarda preta *Brassica nigra* L. Koch (DL nº106/2005).

- **Palma**

A gordura de palma é directamente obtida do mesocarpo carnudo do fruto da palmeira de dendém, *Elaeis guineensis* Jacq e que pode ser fracionada, dando origem a:

- Palmaestearina, a fracção sólida da gordura de palma;
- Palmoleína, a fracção líquida da gordura de palma.

O óleo de palma contém uma relação de aproximadamente 1:1, entre ácidos gordos saturados e insaturados. Relativamente aos ácidos gordos saturados, tem-se o ácido palmítico e o ácido esteárico, com percentagens de 43 e 4,5%, respectivamente. No que diz respeito aos ácidos insaturados, são compostos por ácido oleico (C18:1) e ácido linoleico (C18:2) com percentagens de 41 e 10%, respectivamente (O'BRIEN, 2000).

- **Soja**

Óleo de soja é obtido da semente de *Glycine Max* L. Merrill (DL nº106/2005).

É o óleo produzido em maior quantidade no mundo. Apresenta cor levemente amarelada, límpida, com odor e sabor suave característico. Apresenta alto teor (50%) de ácido linoleico (ómega 6), além (24%) de ácido oleico (ómega 9) e (15%) ácido linolénico (ómega 3); é também rico em vitamina E (FULA, 2012; COLL *et al.*, 1999). As sementes contêm 17-27% de óleo. Para reduzir os efeitos associados à presença de teores significativos de ácido linolénico, grande parte do óleo de soja consumido sofre hidrogenação. Este óleo pode ser obtido por prensagem, mas é mais frequentemente utilizada a extracção por solvente (ENIG, 2000).

- **Tomate**

Óleo de semente de tomate é obtido da semente de *Solanum lycopersicum* L. (DL nº106/2005).

#### **4.2. Qualidade dos Óleos**

Qualidade de um alimento é definida como a característica essencial, propriedade de distinção, ou grau de excelência. Um óleo ideal deverá possuir propriedades químicas, físicas e nutricionais adequadas para a sua utilização. No entanto, esses requisitos nem sempre são compatíveis entre si e alterações devem ser feitas. Por exemplo, as propriedades físicas e químicas desejadas só podem ser conseguidas com alguma perda de qualidade nutricional (GUSTONE, 2008).

A qualidade global do óleo é analisada pelos atributos que o compõem, de modo assegurarem a sua genuidade. Os atributos afectam a aceitabilidade do produto, como a cor, sabor e textura (COOPER e ORTHOEFER, 1996).

Os métodos de modificação, para atingir um óleo de qualidade, podem ser tecnológicos ou biológicos. Os procedimentos tecnológicos incluem a mistura de óleos,

fraccionamento, hidrogenação e interesterificação química ou catálise enzimática. Os procedimentos biológicos incluem o desenvolvimento agrícola de novas culturas para produção de sementes, no sentido de torná-las mais adequadas para o cultivo e colheita por processos convencionais ou mais recentes, com o objectivo de produzir óleos com uma composição de ácidos gordos mais desejáveis, óleos ricos em ácidos gordos polinsaturados (GUSTONE, 2008).

## **Hidrogenação**

A hidrogenação é um processo químico cujo objectivo é a redução da insaturação dos óleos ou gorduras, que visa o aumento do ponto de fusão do óleo e da sua estabilidade em relação à oxidação, por meio da adição de átomos de hidrogénio às insaturações existentes nos ácidos gordos que o compõem. Para além da transformação das ligações duplas em ligações simples, as técnicas de hidrogenação podem contribuir para a isomerização indesejável dos ácidos gordos insaturados da forma *cis* para a forma *trans* (LIST *et al.*, 1977), o que pode causar problemas de saúde (ZHANG *et al.*, 2000).

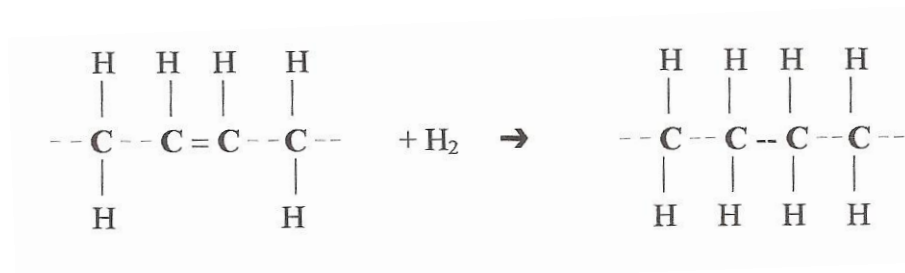
As características que um óleo apresenta depois de hidrogenado são devidas essencialmente às modificações físicas que ocorrem nos ácidos gordos (aparecimento dos isómeros *trans*) (ERICKSON, 1995).

A isomerização ocorre essencialmente durante a hidrogenação dos óleos ou gorduras e é devida à migração das ligações duplas ao longo da cadeia de ácidos gordos, originando a formação de ácidos gordos na forma *trans* a partir das respectivas forma *cis*. Este processo converte as ligações duplas em ligações simples e provoca também isomerização das ligações duplas (LIST *et al.*, 1997).

O aumento do teor de isómeros *trans* contribui, de modo decisivo, para o aumento da temperatura de fusão da gordura. Esta modificação no ponto de fusão pode ser desejável, pois estas formas *trans*, contrariamente às respectivas formas *cis*, são sólidas à temperatura ambiente e fundem a temperaturas relativamente próximas das do corpo humano (35-37°C), enquanto as gorduras saturadas possuem temperaturas de fusão da ordem dos 70°C. Actualmente, é do conhecimento geral que a ingestão de ácidos gordos *trans* é tão grave como a ingestão de ácidos gordos saturados (AGS) e em alguns países é obrigatório a rotulagem das percentagens do teor de gorduras *trans* (HASMAN, 1995).

A redução do número de ligações duplas nos ácidos gordos, que constituem um óleo ou gordura, altera a sua composição química (desaparecem ácidos gordos essenciais como o ácido linoleico – C18:2, o ácido linolénico – C18:3 e o ácido araquidónico – C20:4) levando à modificação do seu valor nutricional (CAULTATE, 1999).

Na **Figura 6** pode observar-se um esquema representativo do mecanismo de hidrogenação.



**Figura 6:** Esquema do mecanismo de hidrogenação (<http://lipidlibrary.aocs.org>).

## Fracionamento

O fracionamento é um processo físico que tem como objectivo a separação dos constituintes do óleo ou gordura com pontos de fusão mais elevados (mais sólidos) dos de ponto de fusão mais baixos (mais líquidos), dividindo assim a fase oleosa, fluida, da fase sólida de algumas gorduras comestíveis. Isto é conseguido através de cristalização fracionada (FAUR, 1996).

Esta técnica consiste na diferenciação das condições de cristalização da gordura (fracionamento), através de um arrefecimento controlado, separando os triacilgliceróis com pontos de fusão semelhantes, uns dos outros. Dos cristais formados, depois filtrados, obtêm-se dois produtos gordos com pontos de fusão diferentes. O fracionamento é um processo alternativo à hidrogenação, em que há uma seleção dos triacilgliceróis com as características pretendidas, a fim de se obter um produto com as propriedades de fusão e estabilidade adequadas (KAMM *et al.*, 2001).

## Interesterificação

As propriedades físicas de gorduras e óleos também podem ser modificadas por interesterificação. O termo “interesterificação” refere-se às reações nas quais uma gordura ou outro material composto por ésteres de ácidos gordos reage com ácidos gordos, álcoois

ou ésteres, havendo a transferência de grupos de ácidos gordos para produzir um novo éster. Assim, a reação entre um éster e um ácido é denominada acidólise, a reação de um éster com um álcool chama-se alcoólise e à reação entre dois ésteres dá-se o nome de intercâmbio éster ou transesterificação (SONNTAG, 1982).

A interesterificação é utilizada principalmente para o rearranjo dos resíduos acilo dos triacilgliceróis, o que resulta em novas moléculas e estruturas de óleos e gorduras, com propriedades melhoradas, comparativamente com as características físicas e funcionais da gordura original. Não há modificação da composição em AG, mas sim uma alteração das posições relativas destes nas moléculas do triacilglicerol. Este processo apresenta elevado interesse, pois possibilita a produção de matérias gordas para barrar com teores de isómeros *trans* próximos de zero (KAMM *at al*,2001; PETRAUSKAITE *et al*, 1998).

## 5. MECANISMOS DE DEGRADAÇÃO DOS ÓLEOS

Os lípidos nos alimentos, como nos óleos e gorduras, estão sujeitos a uma série de reações que podem levar à modificação da estrutura, afetando o valor nutricional e também os padrões de qualidade, como cor, odor, sabor e textura (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Podem sofrer transformações químicas durante o processamento, nos processos de armazenamento e ainda no uso, como meio de transferência de calor (REDA & CARNEIRO, 2007). As modificações e alterações dos óleos podem ser classificadas como (adaptado de ARAÚJO, 1999 citado por FELISBERTO *et al.*, 2011):

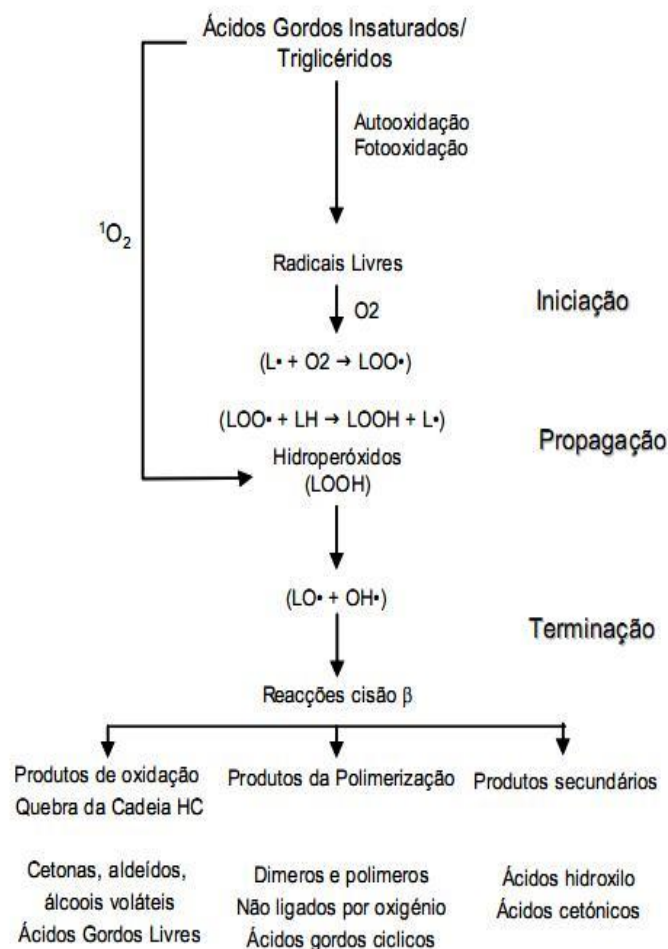
- a) **Auto-oxidação**: oxidação que ocorre a temperaturas abaixo de 100 °C;
- b) **Polimerização térmica**: oxidação que ocorre a temperaturas que variam entre 200 e 300 °C, na ausência de oxigénio;
- c) **Oxidação térmica**: oxidação que ocorre na presença de oxigénio a altas temperaturas (oxipolimerização);
- d) **Modificações físicas**: modificações que ocorrem nas propriedades físicas dos óleos;
- e) **Modificações nutricionais**: modificações nos aspectos fisiológicos e nutricionais dos óleos;
- f) **Hidrólise dos triacilgliceróis**: resulta na libertação de ácidos gordos, glicerina (glicerol), mono e diglicéridos, na presença de água ou humidade residual.

### 5.1. Autoxidação

A autoxidação é provavelmente a principal causa de degradação nos óleos alimentares. Está associada à elevada reactividade do oxigénio com os ácidos gordos

insaturados, através da formação de radicais livres, normalmente quando o óleo é colocado em contacto com o ar, calor, luz, metais e humidade (ADNAN *et al.*, 2009). É uma das maiores preocupações económicas da indústria, dado que afecta as qualidades sensoriais e nutritivas dos óleos alimentares, sendo relevante a formação durante este processo de degradação, de compostos potencialmente tóxicos para consumo humano (FRANKEL, 1998). Para controlar a oxidação dos óleos é necessário compreender os factores externos que a afectam. (KALUA *et al.*, 2007).

Durante o processo de decomposição dos ácidos gordos pelo mecanismo de autooxidação, formam-se pequenas moléculas voláteis responsáveis por aromas desagradáveis associados ao conhecido ranço. Estes produtos da oxidação são obtidos a partir de hidroperóxidos lipídicos (produtos intermediários ou de oxidação primária), cuja decomposição resulta na quebra das cadeias dos ácidos gordos, produzindo os compostos voláteis de baixo peso molecular (produtos de oxidação secundários). Este tipo de oxidação é, na maioria dos casos, uma reacção em cadeia envolvendo radicais livres, que pode ser descrita pelas etapas de iniciação, propagação e processos de terminação (**FIG. 7**). Esta produção de radicais livres pode ocorrer por dissociação térmica directa (termólise), pela decomposição de hidroperóxidos, por catálise e pela exposição à luz (fotólise), com ou sem a intervenção de fotossensibilizadores. A susceptibilidade de substratos orgânicos para a autooxidação, depende da sua facilidade relativa em doar um hidrogénio por etapa de reacção. Para gorduras insaturadas, a susceptibilidade para a autooxidação depende da disponibilidade em hidrogénios para reacções com radicais peróxido (FRANKEL, 1980).



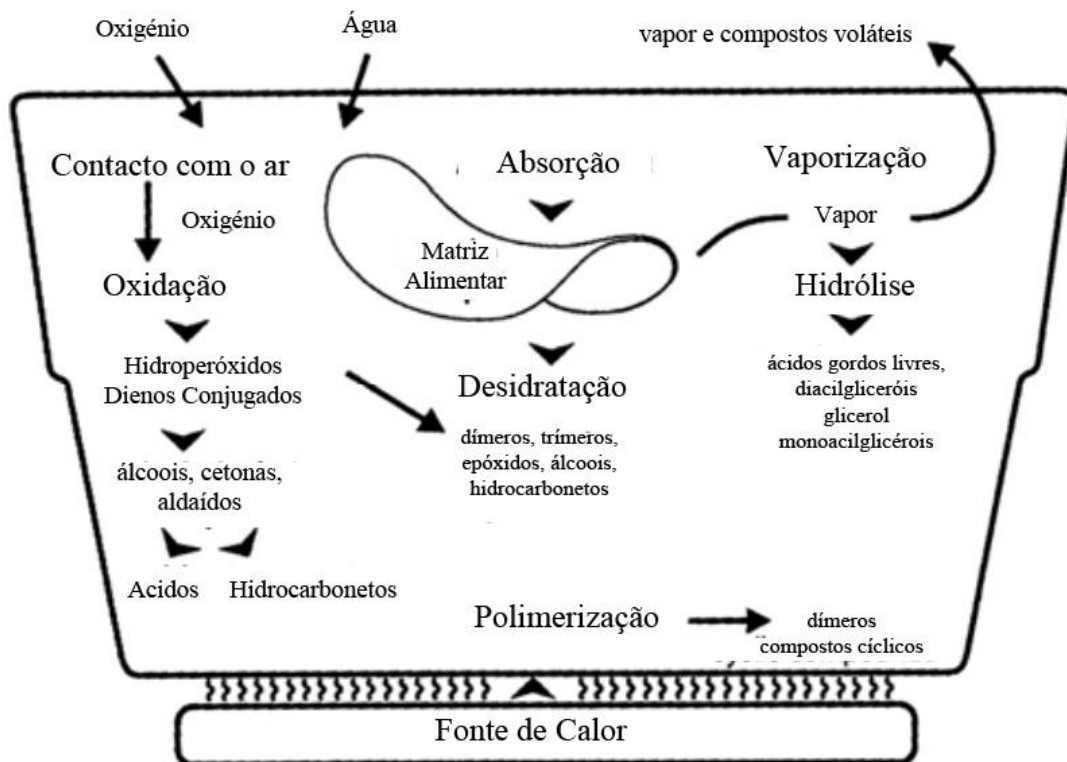
**Figura 7:** Esquema do Processo de autooxidação, com formação de radicais livres (adaptado de FRANKEL, 1980)

Para controlar a autooxidação pode actuar-se a vários níveis (HARDY, 1979):

- Armazenamento do produto alimentar a temperaturas baixas;
- Controlo dos factores que promovem a iniciação (ex: adição de antioxidantes);
- Eliminação ou diminuição do oxigénio no meio;
- Remoção dos radicais livres.

## 5.2. Oxidação Térmica

O mecanismo químico da oxidação térmica é essencialmente o mesmo que o mecanismo de autooxidação. Contudo, a taxa de oxidação térmica é mais rápida do que a autooxidação. A **Figura 8** representa o esquema do processo de oxidação térmica.



**Figura 8:** Esquema da oxidação térmica de um óleo (adaptado de CHOE *et al*, 2007)

O oxigénio reage com o óleo quente no recipiente de fritura, oxidando-o. A oxidação conduz à formação de hidroperóxidos e dienos conjugados que se decompõem em moléculas voláteis de cadeia curta, nomeadamente aldeídos, cetonas e álcoois; estes são responsáveis pelos odores e sabores indesejáveis associados ao ranço oxidativo. Alguns produtos de reacção são eliminados através do vapor formado durante a fritura, mas outros produtos permanecem no óleo, levando a uma oxidação mais rápida (DOBARGANES, 2009). No **Quadro 5**, estão sumarizadas as reacções e interações que podem ocorrer num óleo alimentar quando submetidos a um processo de aquecimento de 20 °C a 200 °C.

**Quadro 5:** Reações e interação ocorridas num óleo alimentar com a temperatura

Intervalo de Temperaturas	Reação	Iniciada por:
20 – 100 °C	<b>Hidrólise</b> Mecanismo: <ul style="list-style-type: none"><li>• Hidrólise (reacção com água)</li></ul>	H <sub>2</sub> O (dos alimentos)
20 – 140 °C	<b>Autoxidação</b> Mecanismo: <ul style="list-style-type: none"><li>• Radicalar</li></ul>	O <sub>2</sub> , Iões Metálicos.
120 – 200 °C	<b>Polimerização</b> Mecanismo: <ul style="list-style-type: none"><li>• Eliminação</li><li>• Desidratação</li><li>• Substituição Nucleofílica</li></ul>	H <sup>+</sup> , Vapor de água.

adaptado de CHUNG et al (2004)

### 5.3. Hidrólise

A partir da hidrólise completa dos triacilgliceróis obtêm-se ácidos gordos livres (AGL), glicerol e mono e diacilgliceróis. A produção dos AGL origina de imediato uma modificação nas características organolépticas do produto (HARDY, 1979). Assim que se liberta um ácido gordo, a hidrólise prossegue (existindo água no meio) até que se libertam os três ácidos gordos do glicerol (**FIG. 8**).

A medição dos ácidos gordos livres na matéria gorda é um bom método para avaliação do seu grau de alteração através da hidrólise (PERRIN, 1996). Quanto maior for o teor inicial em ácidos gordos livres, mais elevados tornar-se-ão ainda, após a reacção de interesterificação (FRISTSCH, 1981). Todos os processos de interesterificação enzimática contribuem para o acréscimo dos valores de AGL em cerca de 4-6%. Este aumento é verificado fundamentalmente no início da reacção, o que explica que tenham vindo a ser estudados vários processos de remoção desta acidez (MALCATA *et al.*, 1990).

O sabor e aroma devidos à hidrólise dos óleos que contém principalmente ácidos gordos de cadeias maiores que C16 quase não se alteram, pois estes ácidos são essencialmente insípidos. O ranço hidrolítico diz respeito principalmente aos produtos finais, pois no processo de desodorização são removidos os ácidos gordos formados no decorrer do armazenamento (ERICKSON, 1995; LIST *et al.*, 1977).

A degradação hidrolítica dos óleos pode ocorrer por via enzimática e não enzimática. A primeira pode acontecer por ação das enzimas lipoxigenases, que catalisam a reação de adição de oxigénio à cadeia hidrocarbonada insaturada do ácido gordo. A capacidade que as enzimas lipoxigenases apresentam de co-oxidação de substratos (carotenóides, tocoferóis, clorofila, proteínas, etc.), pode ser responsável pela iniciação de novos processos oxidativos (HALLIWEL *et al*, 1995).

A rancificação hidrolítica não-enzimática, ocorre principalmente devido à presença de água no meio, tendo como resultado a formação de peróxidos e hidroperóxidos que podem envolver-se em diferentes reações de degradação, semelhantes às observadas para os processos de autooxidação, originando diversos outros produtos de oxidação (HALLIWEL *et al.*, 1995).

A estabilidade do óleo à oxidação tem sido correlacionada com o conteúdo total de antioxidante natural e também com a composição de ácidos gordos. A avaliação da estabilidade oxidativa de óleos permite analisar o estado de conservação da matéria-prima e dos produtos finais, além da determinação da presença de antioxidantes (HALLIWEL *et al.*, 1995).

#### **5.4 Polimerização**

A oxidação excessiva é normalmente seguida de polimerização. Todas as gorduras com um elevado teor de ácidos gordos polinsaturados, tendem a formar grandes moléculas (polímeros) quando sujeitos a condições extremas de elevadas temperaturas e tempo. Em condições normais de fritura, os polímeros formados são em quantidades insignificantes, mas à medida que os óleos vão sendo usados, são formados vários produtos. Alguns, como os peróxidos, os mono e os diacilgliceróis, os aldeídos, as cetonas e os ácidos carboxílicos são compostos voláteis (CHOE e MIN, 2007). A formação destes produtos origina o aparecimento de espuma e aumenta a viscosidade (PEDRESCHI *et al.*, 2005) e (OSAWA *et al.*, 2006), sendo os polímeros os principais responsáveis pelas alterações de cor e textura do alimento (CHOE e MIN, 2007).

#### **5.5. Actividade Microbiana**

A nível microbiológico é rara a ocorrência de alterações nos óleos alimentares, uma vez que estes são praticamente isentos de água. No entanto, podem eventualmente ocorrer

hidrólises e oxidações por ação de microrganismos lipolíticos quando as condições são favoráveis, caso das gorduras com teores de água suficientes para o desenvolvimento de microrganismos, como os óleos alimentares usados (OAU), que incorporam água por transferência dos alimentos cozinhados nestes óleos (COLL *et al.*, 1999). Um dos processos de deterioração dos lípidos provocado por acções de bolores, leveduras e algumas bactérias lipolíticas é a rancificação que acarreta alterações no aroma e no sabor dos alimentos (adaptado de FREIRE, 2002).

#### **5.5.1. Microrganismos lipolíticos**

A flora lipolítica é muitas vezes responsável pela rancificação de gorduras. A rancificação é responsável pelo aparecimento de compostos e odores desagradáveis (ácidos, aldeídos, cetonas) resultantes da hidrólise das gorduras. A capacidade de conservação das gorduras vegetais depende da concentração de microrganismos lipolíticos. Por isso, é muito importante fazer a sua contagem (PLUSQUELLEC, 1991).

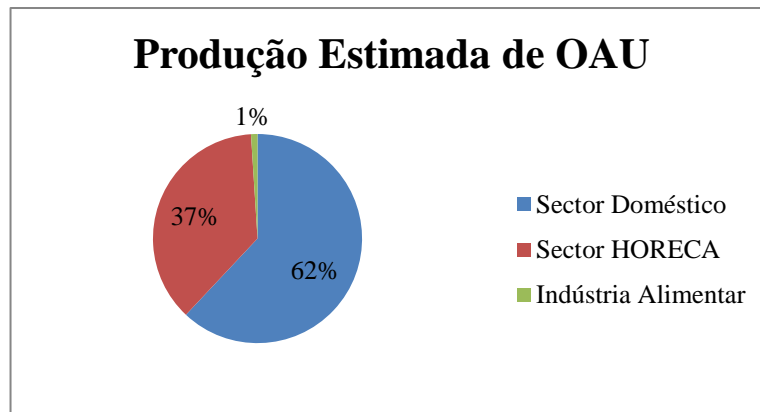
#### **5.5.2. Fungos xerófilos**

Os fungos xerófilos são fungos filamentosos que possuem a capacidade de crescimento em ambientes secos ou em ambientes com grande quantidade de solutos, como o sal e o açúcar. São conhecidos por crescerem em ambientes com actividade de água abaixo de 0,85.

## **6. ÓLEOS ALIMENTARES USADOS**

Os óleos alimentares usados (OAU) são usualmente designados como óleos de fritar. Segundo a legislação Portuguesa, óleo alimentar usado define-se como: “**o óleo alimentar que constitui um resíduo**” (DL 267/09).

Em Portugal a produção estimada de OAU é da ordem de 43 000 t a 65 000 t por ano, da qual cerca de 62% é gerada pelo sector doméstico, 37% provém do sector da hotelaria e restauração e uma fracção residual da indústria alimentar (IGAOT, 2005) (**FIG. 9**).



**Figura 9:** Percentagem da produção Estimada de OAU (adaptado de IGAOT, 2010)

O principal destino dos OAU's é o envio para a rede de esgotos, apesar de tal prática ser proibida, provocando graves problemas de funcionamento nas ETAR's, podendo provocar igualmente, problemas de maus cheiros e impactos negativos ao nível da fauna e flora envolventes (IGAOT, 2005).

### **6.1. Legislação Comunitária e Nacional**

No que diz respeito a documentos normativos nacionais, a gestão de resíduos de óleos alimentares, até há bem pouco tempo, não obedecia a legislação específica, tendo sido assegurada inicialmente pelo Decreto-Lei n.º 239/97, de 9 de Setembro, que estabelecia as regras a que ficavam sujeitas a gestão de resíduos. Este documento foi, no entanto revogado pelo Decreto-lei n.º 178/2006, de 5 de Setembro, que assumiu posteriormente o regime geral de gestão de resíduos, transpondo para a ordem jurídica interna a Directiva 2006/12/CE de 5 de Abril e a Directiva 91/689/CE de 12 de Dezembro. O referido diploma, que assume actualmente o regime geral de gestão de resíduos, aplica-se às operações de gestão de resíduos (recolha, transporte, armazenagem, triagem, tratamento, valorização e eliminação).

O regime geral de gestão de resíduos, acima referido, não dava contudo resposta aos problemas específicos apresentados pela gestão deste fluxo específico de resíduos. A importância de definir uma estratégia de valorização nacional nesta matéria, levou a um interesse crescente por parte dos sistemas de gestão de resíduos urbanos (RU) na promoção de iniciativas de índole voluntária de recolha de óleos e gorduras alimentares usados. Em Outubro 2005, foi celebrado pela Autoridade Nacional de Resíduos (ANR) um acordo relativo à gestão de OAU. Este acordo veio agregar os diversos sectores de actividade

envolvidos no ciclo de vida deste fluxo de resíduos, nomeadamente representantes dos produtores de óleos alimentares, dos sectores de distribuição e HORECA, de recolhedores e valorizadores. Ainda assim, o carácter “voluntário” em que este mesmo sistema se baseava veio a constituir um dos seus principais pontos críticos, sendo fundamental a criação de um modelo mais consolidado, capaz de responsabilizar os diferentes intervenientes no respectivo ciclo de vida dos OAU.

Atualmente, segundo o Decreto-Lei n.º 267/2009, de 29 de Setembro, artigo 7º estabelece o regime jurídico da gestão dos OAU, produzidos pelos sectores: industrial, HORECA e doméstico.

Este novo diploma vem proibir:

- i. “A introdução de OAU ou de substâncias recuperadas de OAU na cadeia alimentar;
- ii. A descarga de OAU nos sistemas de drenagem, individuais ou colectivos, de águas residuais;
- iii. A deposição em aterro de OAU, nos termos do regime jurídico da deposição de resíduos em aterro;
- iv. A mistura de OAU com substâncias ou resíduos perigosos;
- v. A realização de operações de gestão de OAU por entidades não licenciada nos termos do Decreto-Lei n.º178/2006, de 5 de Setembro;
- vi. A utilização, como combustível em veículos, de OAU que não cumpram os requisitos técnicos aplicáveis aos biocombustíveis previstos no Decreto-Lei n.º 62/2006, de 21 de Março.”

O diploma sugere a reciclagem, como opção integrada no cumprimento dos objectivos nacionais, no que refere às metas fixadas nesta matéria, “criando um conjunto de normas que visam quer a implementação de circuitos de recolha selectiva, o seu correcto transporte, tratamento e valorização, por operadores devidamente licenciados para os efeitos, quer a rastreabilidade e quantificação de OAU” (DL 267/09).

## **6.2. Processos de Valorização**

À semelhança de outros resíduos passíveis de valorização, os OAU não devem ser encarados como um “desperdício” de que é necessário se desfazer. Devem sim, ser

considerados como um recurso, dado que constituem matéria-prima que pode ser utilizada em empresas de saponificação, ou utilizada como fonte de energia, na qual está incluída a produção de biodiesel e a produção de biogás ou a incineração com recuperação de energia.

A produção de biodiesel e de sabão são os dois processos de valorização de OAU com maior representatividade a nível nacional, sendo realizados em pequena escala.

A produção de sabão a partir exclusivamente de OAU já foi alvo de estudo. Wang *et al.* (2009) conduziram diversas reações de saponificação à escala laboratorial, tendo como objectivo a determinação das condições óptimas para a sua ocorrência, nomeadamente, o tempo e a temperatura da reação e a concentração de hidróxido de sódio. Este estudo consistiu na adição, por fases, de uma solução aquosa de NaOH (30%, 60mL) e 50g de OAU.

O biodiesel é um biocombustível que tem vindo a ser reconhecido e investigado desde o início do século passado, principalmente na Europa, na tentativa de substituição do gasóleo.

Em Portugal, o biodiesel tem vindo a assumir um lugar importante no desenvolvimento de políticas energéticas, não só por imposições comunitárias, mas porque traz vantagens do ponto de vista ambiental e apresenta melhor relação preço-eficácia (INETI, 2001)

Segundo Araujo *et al.* (2010), os resíduos de óleos e gorduras alimentares são considerados actualmente uma matéria-prima apetecível para a produção de biodiesel a nível industrial, uma vez que reduzem para metade o seu custo de produção. Tal como já foi dito anteriormente, estes resíduos podem ser recolhidos a partir das unidades de restauração e hotelaria, de cantinas e de indústrias responsáveis pelo processamento de fritos. Estas matérias-primas, após a respectiva recolha, e antes de entrarem no processo produtivo, são sujeitas a uma análise de caracterização.

### **6.3. Impacto Ambiental**

A importância da valorização, para este tipo de resíduos, deve-se ao facto de estarem associados vários impactes ambientais negativos quando não são realizadas práticas adequadas na gestão dos OAU produzidos. A descarga de águas residuais contendo OAU nas linhas de água, tem como consequência a diminuição da concentração de oxigénio presente nas águas superficiais, devendo-se tal situação principalmente ao

facto deste tipo de águas residuais conterem substâncias cuja carência de oxigénio é significativa (matéria orgânica biodegradável), que ao serem descarregadas nos cursos de água, além de contribuírem para um aumento considerável da carga orgânica, conduzem a curto prazo à depleção do oxigénio e à degradação da qualidade do meio hídrico receptor. Além disso, a presença de óleos e gorduras nos efluentes de águas residuais provoca um ambiente desagradável com graves problemas ambientais de higiene e maus cheiros, provocando igualmente impactos negativos ao nível da fauna e flora envolventes (adaptado de FERREIRA, 2011).

Outra consequência da descarga para as redes públicas de esgoto e colectores municipais resulta no seu encaminhamento para as ETAR's, contribuindo significativamente para o aumento dos níveis de CBO (Carência Bioquímica de Oxigénio), de CQO (Carência Química de Oxigénio) e de SST (Sólidos Suspensos Totais) nas águas residuais a tratar, dificultando o desempenho/funcionamento eficiente das ETAR's, pelo facto do aumento no valor destes parâmetros conduzir a um considerável consumo de energia no desempenho das mesmas, além de implicarem manutenções e limpezas mais frequentes nos equipamentos de separação de óleos e gorduras associados a gastos consideráveis de tempo neste tipo de operações (IPA,2004).

A utilização de OAU como matéria-prima na produção de biodiesel tem sido apontada como uma das melhores soluções para o aproveitamento adequado deste resíduo; conseguindo-se com esta opção resolver os problemas ambientais causados pela má gestão deste resíduo e fornecer também um combustível alternativo ao diesel convencional, reduzindo a dependência externa do país em combustíveis fósseis. Por outro lado, a incorporação dos OAU como matéria-prima auxiliar na indústria de sabões, tem como principal vantagem a poupança de matérias-primas virgens, acarretando vantagens óbvias a nível económico e ambiental (FERREIRA, 2011).

## IV. MATERIAIS E MÉTODOS

### 1. ENQUADRAMENTO

Neste trabalho foram selecionados como possíveis Indicadores de Degradação da Qualidade dos OAU's parâmetros de análise físico-química apropriados a este tipo de produtos, de acordo com as normas e regulamentos específicos para os óleos alimentares, bem como outros parâmetros aplicáveis a produtos afins (ricos em matéria gorda) de reconhecida importância, concretamente:

- **Teor de Humidade e  $a_w$**  (atividade da água)
- **Acidez Total (AT) e Índice de Acidez (IA)**
- **Índice de Peróxidos (IP)**
- **Índice de Iodo (IndI)**
- **Cor CIE e Cor CIELAB**
- **Absorção em UV**

Na pré-seleção de técnicas, teve-se em consideração a sua aplicabilidade e especificidade, mas também a sua exequibilidade, em meios humanos e materiais: nos métodos volumétricos utiliza-se exclusivamente material corrente de laboratório e nos métodos gravimétricos e instrumentais de análise, equipamentos habitualmente presentes num laboratório de química alimentar.

### 2. MATERIAIS

#### 2.1. Amostras

As amostras disponibilizadas pelo Grupo *Os Mosqueteiros* foram exemplares de três lotes de marca própria, com número distinto de reutilizações em fritura: óleo alimentar novo, não usado (OAN); óleo alimentar usado por duas vezes (OAU<sub>2x</sub>) e óleo alimentar usado num número indeterminado de reutilizações, em fim de vida e rejeitado da cozinha do refeitório da base de Alcanena (OAU<sub>r</sub>) (**FIG. 10**).



**Figura 10:** OAN – OAU<sub>2x</sub> - OAU<sub>r</sub>

Com estas amostras, foi realizado o conjunto de ensaios preliminares a que se tem feito menção. Optou-se deliberadamente, nesta fase, por limitar os ensaios prévios a um reduzido número de lotes, a fim de introduzir um menor número de variáveis a estudar nos primeiros procedimentos de otimização e validação das referidas técnicas. Contudo, as amostras analisadas cobrem o ciclo de vida do óleo (óleo novo, óleo reutilizado, óleo rejeitado) e possuíam dimensões suficientes (em massa) por forma a permitir a execução de todas as técnicas analíticas físico-químicas pré-selecionadas.

O procedimento de colheita e homogeneização das amostras para análise, consistiu em agitar previamente cada embalagem fechada para facilitar a homogeneização do seu conteúdo, seguindo-se a recolha de tomas com auxílio de uma pipeta, de modo a facilitar a colheita de uma amostra representativa de toda a profundidade da embalagem sujeita a amostragem, evitando apenas o eventual sedimento no fundo e espuma superficial (observável em OAU<sub>r</sub>).

Para os óleos usados, referenciados como OAU<sub>2x</sub> e OAU<sub>r</sub> - para os quais se dispunha em laboratório de uma só embalagem de cada exemplar (dimensão da amostra global: 5L) -, o procedimento de colheita de tomas foi repetido em número igual ao número de réplicas necessárias. Com fim à otimização e validação das técnicas analíticas, uniformizou-se o número de réplicas por cada ensaio prévio, em 10 (dez) replicados.

Para o óleo novo, referenciado como OAN, dado que se dispunha em laboratório de duas embalagens do mesmo lote (dimensão da amostra global: 2x1L), foram criadas amostras compostas, reunindo tomas com volumes idênticos (e em ligeiro excesso relativamente ao necessário), colhidas por pipetagem a partir de cada uma das embalagens

disponíveis, pelo processo já descrito. Pretendeu-se, assim, minimizar o efeito do erro de amostragem associado a uma embalagem individualizada. Posteriormente, o volume rigoroso de cada amostra composta requerida para análise, seria aferido por nova pipetagem. Uniformizou-se o número de réplicas compostas, por ensaio e por parâmetro, em 10 (dez) replicados.

Uma vez colhidas as tomas, as amostras restantes foram mantidas fechadas, nas embalagens de origem, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente, até nova utilização. Com este procedimento pretendeu-se simular as condições de conservação caseira dos óleos.

## **2.2. Reagentes**

Na análise físico-química e microbiológica dos óleos, foram unicamente utilizados reagentes de grau analítico (p.a.) de acordo com os critérios estabelecidos pelos métodos de análise (**Quadro 6**). As soluções utilizadas foram preparadas à medida que foram sendo necessárias e armazenadas à temperatura ambiente (cerca de 20°C). A água laboratorial utilizada foi água ultrapura de qualidade Mili-Q.

Os reagentes utilizados encontram-se listados por técnica analítica, no Quadro 6:

**Quadro 6:** Levantamento de reagentes necessários para a realização dos parâmetros físico-químicos

<b>Parâmetro Analítico</b>	<b>Reagente</b>	<b>Marca dos reagentes</b>
<b>Acidez total/ Índice de Acidez</b>	Éter Dietílico	Scharlau
	Álcool etílico absoluto	Merck
	Ampola de Titrisol de Hidróxido de Sódio 0,1 N	Fisher Chemical
<b>Índice de Peróxidos</b>	Ácido Acético Glacial	Scharlau
	Clorofórmio	Scharlau
	Ampola de Tiosulfato de sódio 0,1 N	Fisher Chemical
	Cozimento de Amido/5g Amido	Scharlau
	Iodeto de Potássio	Fisher Chemical
	Solução Ácido Acético	Scharlau
<b>Índice de Iodo</b>	Iodeto de Potássio	Fisher Chemical
	Tiosulfato de Sódio	Panreac 131721
	Cozimento de Amido	Scharlau
	n-Hexano	Fisher Scientific
	Ácido Acético Glacial	Scharlau
	Reagente de Wijs	Scharlau
<b>Cor CIELab</b>		
<b>Cor CIE</b>	Tetracloroeto de Carbono	Panreac
	Sulfato de Níquel Cristalizado	Riedel 31483
	Sulfato de Cobalto Cristalizado	ACROS
	Sulfato Cobalto	MERCK
	Ácido Clorídrico 1N	Panreac
<b>Absorvência no UV</b>	Isooctano	Lab-Scan
<b>Humidade</b>		
<b>Aw</b>		
<b>Controlo Microbiológico</b>	Água peptonada desidratada	MERCK
	Cloreto de Sódio	
	Tween 80	
	Peptona	
	Extrato de Levedura	
	Tributirato de Glicerol	

### **3. PROCEDIMENTOS**

#### **3.1. Humidade e Atividade da Água ( $a_w$ )**

##### **Humidade - Fundamento teórico:**

A determinação do teor de humidade realiza-se essencialmente por duas razões: (1) saber a quantidade de água presente, para prever e evitar a degradação do produto e (2) determinar o valor característico de H (%) do produto, a fim de detetar possíveis fraudes. O teor de humidade não é, contudo, tão bom indicador no que diz respeito ao estado e mecanismos de degradação e conservação dos géneros alimentícios quanto a atividade da água ( $a_w$ ), uma vez que aquela pode apresentar diferentes graus de disponibilidade. Com o aumento da humidade de um produto, são criadas condições favoráveis ao desenvolvimento microbiano, que leva a uma perda inevitável da qualidade destes. No caso dos óleos, cuja base é lipídica (gorda), as principais alterações degradativas correspondem à hidrólise dos acilgliceróis, conducentes ao aumento da acidez do produto, precursora do ranço (hidrolítico e enzimático), degradação que se repercute também nos índices de iodo e de peróxidos (LARANJEIRA e RIBEIRO, 2011).

O teor de humidade é determinado gravimetricamente, mediante adaptação da Norma ISO 3727-1/2001, por secagem em estufa, a  $102 \pm 2^\circ\text{C}$  e pesagem a peso constante. Na determinação gravimétrica do teor de humidade, pesam-se as amostras e colocam-se a desidratar numa estufa com circulação forçada de ar (Mettler, Modelo 40050 IP20, Schwabach, Germany). Proceder-se ao arrefecimento em excicador e afere-se o tempo de secagem, verificando as perdas de peso da amostra para análise, até peso constante.

##### **Determinação dos Teores de Humidade adaptada da ISO 3727-1/2001**

O teor de humidade é expresso em percentagem de massa.

##### **Material e Equipamentos**

- Balança analítica de precisão sensível a 0,0001g (Sartorius BI210s);
- Estufa de secagem ventilada, controlo de temperatura, capacidade para manter a temperatura de  $102 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  (Cassel-CBT, CasselMesstechnik GmbH, Dransfeld, Germany).;
- Excicador

- Pratos/pesa filtros – porcelana, metal resistente à corrosão, com altura entre 20 mm a 40 mm, diâmetro entre 50 mm a 70 mm;
- Espátula

### **Procedimento**

1. Secagem e descontaminação dos pesa filtros em mufla durante 30 minutos a uma temperatura de 500° C;
2. Deixar arrefecer e transferir para um tabuleiro forrado com papel

**Nota 1:** o período de secagem de 30 minutos começa quando a temperatura do pesa filtros atinge 500 °C ± 2 °C.

**Nota 2:** o tempo necessário para atingir a temperatura necessária depende da capacidade de aquecimento, da frequência da ventilação e do tamanho da mufla. Depende também do número, massa e material dos pratos.

3. Arrefecer os pesa filtros no exicador até temperatura ambiente, aproximadamente 30 minutos;
4. Tarar os pesa filtros com precisão de 1 mg;

**Nota:** tomar nota do peso do ensaio em branco e do ensaio analítico ( $m_0$  e  $m_1$ )

5. Pesar para o pesa filtro uma toma de amostra com  $5g \pm 0,001g$ ;

**Nota:** tomar nota do peso ( $m_2$ )

6. Secar na estufa conforme o estado de degradação visível do óleo
7. Arrefecer amostra no exicador até temperatura ambiente, aproximadamente 30 minutos.
8. Pesar o pesa filtro com o seu conteúdo com precisão de 1 mg;
9. Realizar o número necessário de secagens até atingir peso constante;

**Nota 1:** quando há aumento de peso o óleo sofreu oxidação, considerar o peso da última secagem.

**Nota 2:** tomar nota do peso do ensaio em branco e ensaio com amostra ( $m_3$  e  $m_4$ )

10. Para efeitos de validação, executar o ensaio em réplicas de dez.
11. Realizar ensaio em branco em simultâneo

12. Calcular o teor de humidade

$$\text{Teor de Humidade} = \frac{(m_0 + m_2) - (m_4)}{m_4} \times 100\%$$

$m_0$  - massa, gramas, do pesa filtros vazio

$m_1$  - massa, gramas, do pesa filtros usado no ensaio em branco, antes da secagem

$m_2$  - massa, gramas, do pesa filtros com toma de amostra, antes da secagem

$m_3$  - massa, gramas do pesa filtros usado no ensaio em branco, depois da secagem

$m_4$  - massa, gramas do prato com toma de amostra, depois da secagem

### **Atividade da água ( $a_w$ ) - Fundamento Teórico**

A atividade da água ( $a_w$ ), é um parâmetro que exprime a fração de água do alimento que está disponível para participar nas reações físico-químicas e nas reações bioquímicas do metabolismo microbiano. É definida como o quociente entre a tensão do vapor de água de um alimento ( $p$ ) e da água pura ( $p_0$ ), para a mesma temperatura ( $a_w = p/p_0$ ). Os valores variam entre 1 para a água pura e 0 na total ausência dela.

A acção da  $a_w$  sobre a microflora do alimento assume particular importância, na medida em que o seu controlo permite conservar determinados produtos sem recurso à refrigeração, sem risco para a saúde do consumidor, como é o caso dos óleos alimentares. Aquela acção pode ainda ser potenciada pelo pH, potencial redox e temperaturas adversas, pela presença de substâncias inibidoras e de flora microbiana competitiva desprovida de acção competitiva.

A amostra é hermeticamente fechada na célula termostaticada do aparelho medidor de  $a_w$ , permitindo-se, assim, que a humidade relativa (HR) do alimento e a HR do ambiente no interior da célula fiquem em equilíbrio. O sensor do aparelho faz a leitura constante da HR, estabilizando quando a variação for mínima.

A atividade da água ( $a_w$ ) é determinada instrumentalmente por método directo, com um medidor de  $a_w$  (Rotronic-Hygroskop DT, rotronic ag, Zurique, Suíça), células da

mesma marca (modelo DMS 100H) e banho de água (Selecta, Barcelona, Espanha; modelo Unitronic 6320100). A temperatura deve ser mantida a 25°C.

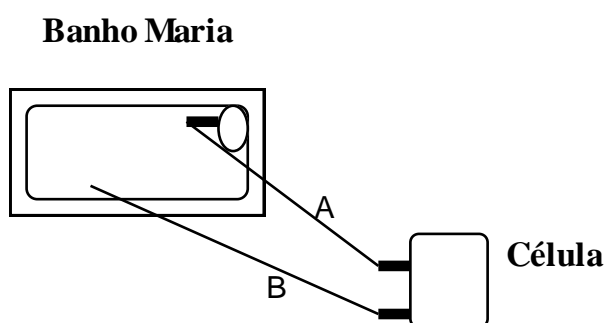
### Determinação da atividade da água

#### Material e equipamentos:

- Medidor de  $a_w$  (ROTRONIC - Hygroskop DT) com dois conjuntos de células (com sensores de humidade e temperatura);
- Banho de água.

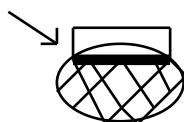
#### Procedimento:

1. Colocar os tubos de borracha na célula. O tubo **A** coloca-se no bocal de cima da célula (bocal de entrada de água) e no bocal de saída de água existente dentro do banho de água. O tubo **B** coloca-se no bocal de baixo da célula (bocal de saída de água) e coloca-se dentro do banho de água de forma à água sair lá (**FIG. 11**).



**Figura 11:** esquema do procedimento para a determinação da atividade da água ( $a_w$ )

2. Regula-se o banho de água para uma temperatura de forma a que a temperatura indicada no aparelho Rotronic seja 25°C. Normalmente a temperatura que deve estar regulada no banho de água é de  $\pm 26,8^\circ\text{C}$ . Este valor varia.
3. Colocar a amostra no cadinho aproximadamente até ao nível indicado pela seta (**FIG.12**).



**Figura 12:** material utilizado para a leitura da atividade da água ( $a_w$ ) - cadinho

4. Abrir a célula (rodar a alavanca para a esquerda).

5. Retirar a célula.
6. Colocar o cadinho com a amostra na célula.
7. Colocar a célula no conjunto. Encaixar a célula na ranhura existente por baixo dela e rodar a alavanca para a direita.
8. Ligar o aparelho Rotronic no botão vermelho.
9. Para seleccionar a célula que se pretende, carregar no botão cinzento
10. Se se usar só a célula nº1 carregar no botão Input 1-2 até o sinal vermelho aparecer indicando que é a célula nº1 que está em contacto com o aparelho. Ao pretender trabalhar com a célula nº2, carregar no botão Input 1-2 até aparecer a luz verde. Pode-se também trabalhar com as duas células em simultâneo. Neste caso aparecerão as duas luzes acesas.
11. A luz vermelha indica que o valor que aparece no écran tem tendência a subir. Se a luz for verde quer dizer que o valor indicado no écran tem tendência a descer.
12. Quando se apagarem as luzes tanto da temperatura como da humidade, significa que está feita a medição à amostra.
13. Os valores que aparecem no écran da humidade são indicados em %. O valor da humidade/atividade da água encontra-se entre os limites de 0 e 1. Portanto, os valores que se registaram nas medições devem ser divididos por 100.

### **3.2. Acidez Total (AT) e Índice de Acidez (IA)**

#### **Fundamento Teórico:**

A determinação da acidez visa quantificar os ácidos gordos livres presentes nos óleos. A Acidez Total (titulada) – AT – e o Índice de Acidez – IA – são indicadores de qualidade dos óleos, já que valores de acidez total elevados podem indiciar uma alteração destes produtos pela formação de ácidos gordos livres, de cadeia longa, bem como de ácidos orgânicos de cadeia curta e seus aldeídos e cetonas, por acções enzimática e bacteriana, ou por alterações (puramente) químicas de hidrólise ou oxidação dos acilgliceróis, conducentes à rancificação. São, pois, bons parâmetros indicadores de degradação hidrolítica (LARANJEIRA e RIBEIRO, 2011).

Neste trabalho, a determinação destes parâmetros (que diferem exclusivamente na forma de expressão dos resultados), realizou-se por volumetria de ácido-base direta, mediante adaptação interna da Norma Portuguesa 903 (1987). O processo baseia-se na

neutralização dos ácidos gordos livres de uma amostra previamente dissolvida em mistura dissolvente (álcool etílico/ éter dietílico), seguida de titulação dos ácidos gordos livres com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) padronizada, na presença de um indicador de neutrimetria, neste caso a fenolftaleína (LARANJEIRA e RIBEIRO, 2011). A acidez total expressa-se em ácido oleico, como uma percentagem mássica (% m/m); o índice de acidez é considerado uma grandeza adimensional (NP 903/1987).

### **Determinação da acidez total e do índice de acidez adaptado da norma Portuguesa NP 903/1987**

#### **Material e equipamentos:**

- Balança analítica de precisão sensível a 0,0001g (Sartorius BI210s)
- Agitador magnético (Agimatic)
- Balão de Erlenmeyer, de boca larga de 250 cm<sup>3</sup>
- Bureta de precisão graduada de 25 cm<sup>3</sup>
- Pipetas volumétricas de 100cm<sup>3</sup>
- Material corrente de laboratório

#### **Reagentes:**

- Éter Dietílico, p.a.
- Álcool etílico absoluto, p.a.
- Solução aquosa de hidróxido de sódio a 0,01N
- Solução alcoólica de fenolftaleína a 2% (m/v)
- Água de qualidade laboratorial (Milli-Q)

#### **Procedimento:**

1. Pesar para balão de Erlenmeyer cerca de 5±0,001g de amostra.
2. Adicionar 100cm<sup>3</sup> de mistura dissolvente (álcool e éter dietílico, 1:1 v/v).

3. Agitar em agitador magnético.
4. Adicionar cinco gotas de solução alcoólica de fenolftaleína
5. Titular com solução de hidróxido de sódio 0,01N até viragem para cor rosada persistente (30s)

**Nota:** este procedimento constitui alteração à **NP 903/1987**.

6. Para efeitos de validação, executar o ensaio em réplicas de dez.
7. Calcular a acidez total da amostra:

$$\text{Índice de Acidez} = \frac{5,611V}{m}$$

$$\text{Acidez Total} = \frac{2,82V}{m}$$

m – massa, expressa em gramas, da toma da amostra

V- Volume gasto, expresso em cm<sup>3</sup>, de solução titulante

O resultado apresenta-se arredondado as décimas

### 3.3. Índice de Peróxidos (IP)

#### **Fundamento Teórico:**

Um óleo contém ácidos gordos polinsaturados, podendo a sua oxidação ocorrer ao nível das duplas e triplas ligações com a incorporação de oxigénio, que conduz à formação de hidroperóxidos e peróxidos, quimicamente muito instáveis. Estes decompõem-se, posteriormente em cadeia, com a presença de radicais livres, noutros produtos finais que têm normalmente odor e sabor desagradáveis. A terminação da oxidação dá-se com o rompimento de moléculas contendo o radical livre para formarem produtos de massa molar mais baixa (aldeídos, cetonas, álcoois, ácidos e ésteres), os quais são voláteis e associam-se

ao odor a ranço. A peroxidação é um processo autocatalítico e desenvolve-se em aceleração crescente, uma vez iniciada. Factores como temperatura, pressão, humidade, enzimas, luz, iões metálicos (Fe, Co, Cu, Mn) influenciam na formação de radicais livres. A degradação dos óleos por rancificação oxidativa faz variar o índice de peróxidos ao longo do ciclo de vida dos óleos e da sua reutilização (LARANJEIRA e RIBEIRO, 2011; WHITE, 2000).

Entende-se por Índice de Peróxidos (IP) a quantidade de oxigénio ativo, expresso em miliequivalentes, contida em 1 kg de gordura ou óleo. A determinação é feita por volumetria redox indirecta, pela Norma Portuguesa NP 904 (1987). O processo baseia-se na oxidação do iodeto de potássio a iodo em meio acético, pelo oxigénio ativo de uma massa conhecida de gordura ou óleo. A quantidade de iodo formado é titulada com uma solução de tiosulfato de sódio na presença do indicador cozimento de amido. O IP é um parâmetro indicador da degradação oxidativa (LARANJEIRA e RIBEIRO, 2011).

### **Determinação do índice de peróxidos adaptado da Norma Portuguesa NP 904/1987**

#### **Material e equipamentos:**

- Erlenmeyers com rolha de 500 cm<sup>3</sup>
- Bureta de precisão graduada de 25 cm<sup>3</sup>
- Pipeta graduada de 2 cm<sup>3</sup>
- Pipetas volumétricas de 1, 10 e 15 cm<sup>3</sup>
- Proveta de 100cm<sup>3</sup>
- Goblé de 600 cm<sup>3</sup>
- Balança analítica de precisão sensível a 0,0001g - Sartorius BI210s

#### **Reagentes:**

- Clorofórmio, p.a.
- Acido acético glacial, p.a.
- Solução saturada de iodeto de potássio

- Tiosulfato de sódio 0,01N
- Cozimento de amido 10g/L
- Água de qualidade laboratorial (Milli-Q)

**Procedimento:**

1. Pesar com uma aproximação de 0,001g, 2g de amostra para o Erlenmeyer
2. Adicionar 10 cm<sup>3</sup> de clorofórmio.
3. Dissolver a gordura agitando
4. Adicionar 15cm<sup>3</sup> de ácido acético glacial e em seguida 1cm<sup>3</sup> de iodeto de potássio.
5. Tapar e agitar durante 1 minuto.
6. Deixar repousar no escuro a uma temperatura entre 15°C e 20°C durante exactamente 5 minutos.
7. Adicionar 75 cm<sup>3</sup> de água destilada.
8. Titular com solução de tiosulfato de sódio 0,01N usando 2cm<sup>3</sup> de solução de amido como indicador, até a cor virar amarelo palha.
9. Para efeitos de validação, executar o ensaio em réplicas de dez.
10. Calcular o índice de peróxidos

$$\text{Índice de Peróxidos} = \frac{V \times N \times 1000}{m}$$

V- Volume, em cm<sup>3</sup>, gasto na titulação da amostra corrigida pelo branco

N- Normalidade exacta da solução de tiosulfato de sódio

m – massa, expressa em gramas, da toma de amostra

### 3.4. Índice de Iodo (IndI)

**Fundamento Teórico:**

Os óleos contêm uma percentagem de triacilgliceróis constituídos por ácidos gordos saturados e insaturados e muitas das propriedades dependem da relação entre estes dois tipos de ácidos. O grau de insaturação é medido pelo Índice de Iodo (IndI), baseado nas reações químicas com o monocloreto de iodo (reagente de *Wijs*), definido como a quantidade de halogéneos, expressa em percentagem mássica de iodo, que pode ser fixada em determinadas condições, pelo óleo (DIOGO, 2010; GUNSTONE, 2008). À medida que o produto se oxida, o grau de insaturação da gordura vai decrescendo, fazendo diminuir continuamente o IndI ao longo do tempo de vida de prateleira e de utilização sucessiva. Trata-se, pois, de um bom indicador de degradação oxidativa (adaptado de LARANJEIRA e RIBEIRO, 2011).

A determinação é feita por volumetria redox indireta, por adaptação interna da Norma Portuguesa 941 (1985). O óleo dissolvido numa matriz solvente apropriada (ex: n-hexano e ácido acético), sofre halogenação com um excesso de monocloreto de iodo, ao abrigo da luz. O iodo consumido é determinado por titulação do iodo libertado (após adição de iodeto de potássio) com uma solução de tiosulfato de sódio.

### **Determinação do índice de iodo adaptado da Norma Portuguesa NP 941/1985**

#### **Material e Equipamentos**

- Erlenmeyers com rolha de 500cm<sup>3</sup>
- Bureta de precisão graduada de 25 cm<sup>3</sup>
- Pipetas volumétricas e graduadas de 2, 20 e 25cm<sup>3</sup>
- Balões Volumétricos
- Balança analítica de precisão sensível a 0,0001g (Sartorius BI210s)
- Agitador de frascos (Precision Scientific 66722 Shaking Bath)

#### **Reagentes**

- Mistura Dissolvente (n-hexano e ácido acético, 1:1 v/v)
- Solução de Iodeto de potássio 100g/L
- Solução de Tiosulfato de sódio 0,1N padronizado

- Cozimento de amido 10g/L
- Reagente de *Wijs*
- Água de qualidade laboratorial (Milli-Q)

### Procedimento

1. Pesar  $1,5 \pm 0,001$  g de amostra para um Erlenmeyer rolhado de  $500\text{cm}^3$ ;

**Nota:** A massa da toma depende do Índice de Iodo esperado (Quadro 7)

**Quadro 7:** variação da massa da toma com o valor esperado de índice de iodo

Índice de Iodo Esperado	Massa da Toma (g)
Inferior a 5	3,00
5 a 20	1,00
21 a 50	0,40
51 a 100	0,20
101 a 150	0,13
151 a 200	0,10

2. Adicionar 20 ml de mistura dissolvente, 10 ml n-hexano + 10 ml ácido acético;

**Nota:** adicionar n-hexano e o ácido acético sobre a amostra, separadamente.

3. Adicionar  $25\text{cm}^3$  de solução de *Wijs*;
4. Deixar repousar durante duas horas no escuro em agitação constante;

**Nota:** este procedimento constitui alteração à **NP 941/1985**.

5. Executar o ensaio em branco, de um modo similar;
6. Adicionar  $20\text{cm}^3$  de solução de iodeto de potássio 100g/L;
7. Adicionar  $150\text{cm}^3$  de água;
8. Titular imediatamente com solução de tiosulfato de sódio padronizado até viragem da cor a amarelo pálido;
9. Adicionar  $2\text{cm}^3$  de solução de amido 10g/L;

10. Parar de titular quando o tom azul/roxo desaparecer;
11. Para efeitos de validação, executar o ensaio em réplicas de dez.
12. Calcular o índice de iodo.

$$\text{Índice de Iodo} = \frac{12.65 c (V_1 - V_2)}{m}$$

$c$  – representa a concentração exacta, expressa em moles por litro, de solução titulada de tiosulfato.

$V_1$  – representa o volume, expresso em  $\text{cm}^3$ , da solução titulada de tiosulfato de sódio gasto no ensaio em branco.

$V_2$  – representa o volume, expresso em  $\text{cm}^3$ , da solução titulada de tiosulfato de sódio gasto na determinação.

$m$  – representa a massa, expressa em gramas, da toma.

### **3.5. Cor CIE e CIELAB**

A aparência de um produto é a primeira impressão sensorial apercebida pelos consumidores. Normalmente o consumidor associa a aparência com a qualidade do produto; se esta aparência não for ao encontro das expectativas do consumidor, o produto é rejeitado. A avaliação da cor na indústria alimentar é de grande interesse, podendo ser feita por avaliação sensorial ou instrumental. No segundo caso podem ser utilizados instrumentos específicos, como o colorímetro de reflectância ou o espectrofotómetro de absorção molecular no visível. A aplicação da colorimetria oferece assim uma forma objetiva, quantitativa, de avaliação de cor, uma vez que se baseia na consideração de todo o espectro visível e torna possível obter o perfil de cada componente cromática do produto alimentar (OSORIO *et al.*, 2007).

A perda de qualidade por degradação oxidativa/rancificação dos óleos de fritura, pode ser monitorizada pela alteração da cor destes produtos, particularmente evidente a nível sensorial (visual), daí também a importância na seleção deste parâmetro para análise (adaptado de GARISO, 2010).

### 3.5.1. Cor CIE

#### Fundamento Teórico:

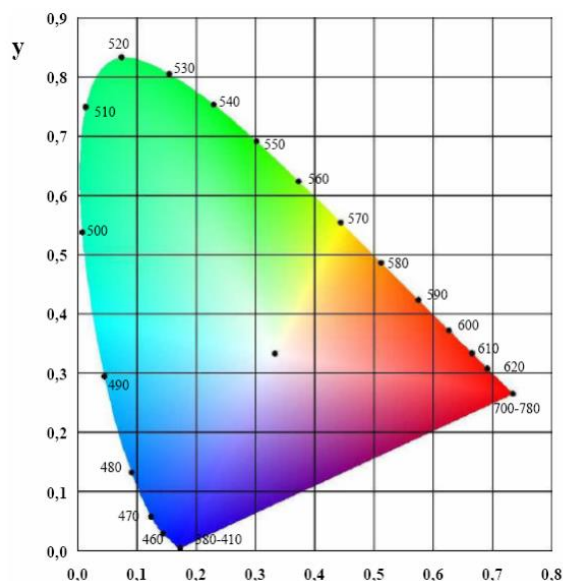
A A *Comission International d'Eclairaige* (CIE) define a cor como o aspeto da perceção visual de um objeto distinto, que um observador distingue mediante o tamanho, forma, textura, posição e brilho, os quais dependem da posição espectral da luz incidente e também da geometria da ótica de visualização (LIMA e LARANJEIRA, 2010).

Em 1931 a *CIE* criou um sistema com três cores primárias denominadas X, Y e Z, que substituíram as cores primárias vermelha, verde e azul, do sistema RGB (*red-green-blue*), para que passasse a ser possível representar todas as cores do espectro visível. Estes padrões não correspondem a estímulos reais de cor, ou seja não são cores visíveis. O diagrama *CIE* de cromaticidade, apresenta todos os valores de cromaticidade para as cores visíveis, dado que a todos os pontos com valores iguais de cromaticidade mas de diferentes intensidades luminosas, corresponde um único ponto neste diagrama (**FIG. 13**). As cores puras do espectro visível encontram-se localizadas sobre a parte curva do limite do diagrama, com a fonte de luz branca referência localizada no seu interior, num ponto cujas coordenadas são, aproximadamente, de 1/3. As cores puras visíveis que não existem no espectro visível, como a cor magenta, encontram-se localizadas, no diagrama *CIE*, sobre o segmento de recta que une os extremos do arco em forma de pata de cavalo (LIMA e LARANJEIRA, 2010)

A Cor CIE é determinada por método indireto, a uma temperatura da ordem de 20°C, das transmitâncias do óleo, relativas ao tetracloreto de carbono e referidas à espessura de 1 cm, através de medições absolutas de absorvência (Abs), aos comprimentos de onda de 445, 495, 560 e 625 nm, usando um espectrofotómetro molecular de UV-Visível (marca HITACHI, modelo U – 2001), seguida do cálculo dos atributos necessários para definir a cor do óleo, ou seja as características cromáticas. A determinação é feita por adaptação interna da Norma Portuguesa NP 937 (1987), tendo em conta as especificidades de calibração do aparelho para medições em escala absoluta (adaptado de COUTINHO, 2000 e GARISO, 2010).

Quando se pretende apenas saber se a transparência do óleo é superior ou inferior à de um padrão testemunha, sem que interesse conhecer a cor, podem comparar-se

visualmente essas transparências, em igual espessura. Uma diferença manifesta faz dispensar, nesse caso particular, a determinação (COUTINHO, 2000).



**Figura 13:** Diagrama CIE de cromaticidade (LIMA e LARANJEIRA, 2011)

### **Definições:**

Cor de um óleo – a característica dada pela sensação visual humana normal, perante a luz transmitida por uma camada de óleo (transparência), em que incide a luz difusa do dia com céu encoberto (correspondente ao iluminante C).

Cor verdadeira – cor após ser eliminada turvação.

Cor aparente – cor devida não só à absorção de luz pelas partículas em fase homogênea, mas também à dispersão de luz devida às partículas em suspensão verdadeira e coloidal. A centrifugação é o método aconselhado para a eliminação de turvação.

Características cromáticas – atributos de cor, visto à transparência da luz, necessários para a definir. As características cromáticas são:

- **Coordenadas cromáticas** – abscissa x e ordenada y do diagrama de cromaticidade da CIE correspondente à luz transmitida pelo óleo
- **Transparência** – percentagem (Y%) da luz incidente, transmitida após a passagem pela camada do óleo. Pela sua definição, Y corresponde também à luz amarela, ou coordenada cromática amarela.

- **Comprimento de onda dominante** – radiação espectral  $\lambda$ , expressa em nanómetros (nm), que predomina na luz transmitida pelo óleo. O comprimento de onda dominante determina-se no diagrama pata de cavalo, sendo a radiação espectral correspondente ao ponto da curva de contorno desse diagrama, definido pelo lugar geométrico de todas as radiações monocromáticas (curva das cores saturadas ou *spectrum locus*), onde cruza a recta que passa pelos pontos definidos pelas coordenadas cromáticas da cor do óleo (x,y) e do iluminante C.
- **Pureza** – percentagem ( $\sigma\%$ ) da luz com o comprimento de onda dominante, no feixe de luz transmitido pelo óleo. Mede o maior ou menor grau de monocromaticidade (100%) ou heterocromaticidade (0%) da luz transmitida pelo óleo.
- **Tangente de  $\alpha$**  – declive da recta que une as coordenadas cromáticas (y, x) do diagrama de cromaticidade da CIE correspondente à luz transmitida pelo óleo em estudo e o ponto correspondente à luz branca padrão o iluminante C. O ângulo  $\alpha$  é formado por essa recta e o eixo das abcissas do referido diagrama.

(NP 937, 1987; LIMA e LARANJEIRA, 2010)

### **Determinação da cor dos óleos adaptado da Norma NP 937/1987**

#### **Material e Equipamento:**

- Espectrofotómetro de UV-Visível de feixe duplo (HITACHI-Modelo U – 2001, Tóquio, Japão)
- Células de vidro com 1cm percurso óptico
- Balança analítica de precisão sensível a 0,0001g (Sartorius BI210s)
- Balões volumétricos, 50, 100 e 1000 ml

#### **Reagentes:**

- Tetracloreto de carbono, p.a.
- Solução ácida de sulfato de níquel e cobalto
  - Sulfato de níquel cristalizado ( $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )

- Sulfato de cobalto cristalizado ( $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )
- Ácido Clorídrico 1N
- Água de qualidade laboratorial (Milli-Q)

### **Procedimento:**

#### Teste aos líquidos de referência (tetracloreto de carbono para espectrofotometria)

1. Não se traçou um espectro contínuo correspondente ao varrimento de 380 a 770 nm, mas foram determinadas as absorvências discretas (descontínuo), analisando-se assim o comportamento nos cinco comprimentos de onda (445, 495, 560, 595, 625 nm), correspondentes às leituras da cor, como é referido em 5.2 da Norma – 937 de 1987, página 3 (alterando assim o procedimento indicado nesta).

#### Aferição do espectrofotómetro e correção do percurso óptico das células

1. Segundo a Norma NP-937 de 1987, considera-se que o espectrofotómetro está aferido quando, na escala de transmitâncias (T), são lidos os seguintes valores, em termos de percentagem (100T):  $51,4 \pm 0,3$ ;  $26,9 \pm 0,5$  e  $73,3 \pm 0,3$ , respectivamente a 439, 512, 581 nm para a solução a seguir indicada, a uma temperatura da ordem de 20 °C, na espessura de  $1,000\text{cm} \pm 0,002$ , com a menor fenda possível e utilizando, como líquido testemunha o tetracloreto de carbono.

A solução é constituída por:

- Sulfato de níquel cristalizado ( $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 4,7g
- Sulfato de cobalto cristalizado ( $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 3,1g
- Ácido clorídrico 1 N, 11ml
- Água ultra pura (qualidade Milli-Q), para completar o balão de 100 ml.

#### Determinação das transmitâncias

1. No espectrofotómetro, utilizando células com paredes paralelas de vidro, determinam-se as transmitâncias do óleo a 445, 495, 560, 595 e 625 nm, utilizando o tetracloreto de carbono como líquido de referência.

#### Determinação dos estímulos

Sendo:  $T_{445}$ ,  $T_{495}$ ,  $T_{560}$ ,  $T_{595}$ , e  $T_{625}$  as transmitâncias do óleo, na espessura de 1 cm, respectivamente nos comprimentos de onda de 445, 495, 560, 595 e 625 nm, determinam-se os estímulos X, Y, Z pelas expressões:

$$X = 19 T_{445} + 38 T_{560} + 13 T_{595} + 28 T_{625}$$

$$Y = 21 T_{495} + 62 T_{560} + 17 T_{625}$$

$$Z = 94 T_{445} + 24 T_{495}$$

#### Determinação das coordenadas cromáticas

Determina-se as coordenadas cromáticas x e y pelas expressões:

$$x = \frac{X}{X + Y + Z}$$

$$y = \frac{Y}{X + Y + Z}$$

#### Determinação dos comprimentos de onda dominantes:

Segundo a Norma NP-937 de 1987, o comprimento de onda dominante é a radiação espectral correspondente ao ponto da curva constituída pelo lugar geométrico de todas as radiações monocromáticas, no diagrama de cromaticidade, onde se cruza a recta que passa pelos pontos definidos pelas coordenadas cromáticas da cor do óleo e do iluminante C. Sendo  $\alpha$  o ângulo formado por essa recta e o eixo das abcissas.

#### Preparação e leitura das amostras

**Cor aparente** – é realizada a leitura direta nas amostras de óleo, utilizado o tetracloreto de carbono na célula de referência.

**Cor Verdadeira** – realizar uma centrifugação a 3000 r.p.m. durante 30 minutos antes da leitura direta das amostras de óleo, utilizando tetracloreto de carbono na célula de referência.

As leituras das amostras, quer para a cor aparente quer para a cor verdadeira, são feitas para os comprimentos de onda de 445, 495, 560, 595 e 625 nm.

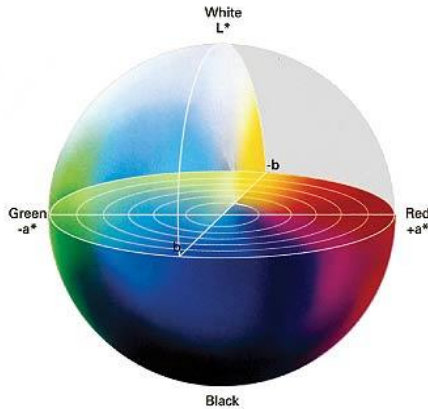
#### **3.5.2. Cor CIELAB**

##### **Fundamento Teórico:**

O método CIELab tem como base a teoria de que a cor é definida com a combinação de três cores primárias (azul, verde e vermelho); foi criado a partir de testes feitos para determinar a sensibilidade média de diversos observadores reais, a partir dos quais foram definidas curvas de sensibilidade para cada uma das cores primárias. Aos valores de X (vermelho), Y (verde) e Z (azul) foi dado o nome de “valores triestímulos”. Para tornar a resposta mais fácil de interpretar, estes valores são usualmente convertidos para o denominado sistema CIELab, onde a cor se define e quantifica através de três coordenadas ortogonais ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) e duas coordenadas cilíndricas ( $C^*$  e  $H^\circ$ ), sendo este o sistema atualmente aceito a nível mundial. Os colorímetros são equipamentos que permitem a medição destas coordenadas, com rapidez e exatidão, a partir das quais se pode detetar as diferenças de cor (adaptado de LIMA, 2007).

O sistema CIELab define o espaço com coordenadas retangulares ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) onde **(FIG. 14)**:

- $L^*$  mede a variação da luminosidade entre o negro (0) e o branco (100);
- $a^*$  é uma coordenada da cromaticidade que representa a quantidade de *croma* ou cor em plano cromático e define a cor vermelha para valores positivos e a cor verde para valores negativos;
- $b^*$  é uma coordenada da cromaticidade que representa a quantidade de *croma* ou cor em plano cromático e define a cor amarela para valores positivos e a cor azul para valores negativos;
- $C^*$  corresponde à pureza, saturação, *croma* ou qualidade de cor. Quanto mais forte e brilhante é a cor, mais afastada está da origem das coordenadas;
- $H^\circ$  corresponde à tonalidade, sendo representada por um ângulo entre  $0^\circ$  e  $360^\circ$ . Os ângulos entre  $0^\circ$  e  $90^\circ$  representam os tons de vermelho, laranja e amarelo; os de  $90^\circ$  a  $180^\circ$  correspondem aos amarelos, amarelos-verde e os verdes; os de  $180^\circ$  a  $270^\circ$  são os verdes, *cyans* (azul-verde) e azuis; por fim, de  $270^\circ$  a  $360^\circ$  estão representados os tons de azul, magenta e novamente os vermelhos.



**Figura 14:** Esfera da cor CIE L\*a\*b\* (LIMA, 2007).

### **Procedimento:**

A Cor CIELAB é determinada por método directo, utilizando um colorímetro de reflectância *KONICA MINOLTA* modelo CR-400, controlado pelo programa *SpectraMagic NX*, uma vez definidas as condições de trabalho:

- Temperatura: ambiente;
- Iluminante: D65;
- Ângulo de Incidência: 2°.

A fim de determinar a cor verdadeira e a cor aparente foram feitas leituras dos três óleos, OAN, OAU<sub>2x</sub> e OAU<sub>r</sub> com e sem centrifugação prévia das amostras. As amostras sem centrifugação foi feita a colheita da amostra directamente da embalagem pelo método descrito anteriormente, as amostras com centrifugação foram feitas do seguinte modo:

- Para 10 tubos de centrífuga pipetar 10 ml do mesmo óleo e confirmar peso para assegurar que as massas não são significativamente diferentes.
- Centrifugar durante 30 minutos a 3000 r.p.m.
- Pipetar 5 ml directamente de cada tubo de centrífuga para o copo de leitura do colorímetro de reflectância *KONICA MINOLTA* modelo CR-400.
- Efetuar leitura

### **3.6. Absorvência no Ultravioleta (UV)**

#### **Fundamento Teórico:**

A absorvência no UV é um parâmetro valioso para a deteção de ácidos gordos com ligações duplas conjugadas, que traduzem a oxidação térmica do óleo. As alterações no espectro de absorvência no UV e a densidade de transmissão no ultravioleta são essencialmente índices de alteração de um óleo. A absorção provocada por dienos conjugados tem lugar a um comprimento de onda característico de 230-235 nm e a devida a trienos conjugados, bem como a produtos secundários de oxidação, ocorre na gama de 260, 270 e 280 nm. (WAN, 2000).

Para melhor apreciação da presença de trienos conjugados, recorre-se à variação da absorvência ( $\Delta$  Abs) ou densidade de transmissão interna, no intervalo definido pelos dois comprimentos de onda, respetivamente inferior e superior a 4 nm, do correspondente à absorvência máxima, na gama de 268 a 272 nm.

A absorvência exprime-se no coeficiente de absorção  $\epsilon$ , de 1g por 100 cm<sup>3</sup> em 1cm, correspondente à concentração de 1g de óleo em 100 cm<sup>3</sup> da solução, no percurso ótico de 1cm. A determinação é feita por espectrofotometria no ultravioleta, segundo a Norma Portuguesa 970 (1986), usando um espectrofotómetro molecular de UV-Visível (marca HITACHI, modelo U – 2001). São feitas as leituras de absorvência das amostras de óleo dissolvidas em iso-octano a 1% (m/v), a 232 nm e entre 268 a 272 nm em células de quartzo com 1cm de espessura, usando iso-octano como padrão.

### **Determinação da Absorvência no Ultravioleta (UV) adaptado da Norma Portuguesa NP 970/1986.**

#### **Material e Equipamento:**

- Espectrofotómetro aferido (marca HITACHI, modelo U – 2001)
- Balança de precisão sensível a 0,0001g (Sartorius BI210s)
- Cápsula ou copo de vidro para a pesagem de tomas
- Termómetro aferido na escala Celcius
- Pipetas aferidas de 50 mL
- Micropipetas de 400  $\mu$ L
- Tinas de quartzo transparente, com 1cm de espessura

#### **Reagentes:**

- Iso-octano (2,2,4 trimetilpentano) para espectrofotometria, com transmitâncias mínimas relativas a água destilada, em 1cm de percurso óptico, em termos de percentagem (T%):
  - a 230 nm – 85%
  - a 270 nm – 100%
- Tetracloreto de carbono, p.a.
- Dicromato de potássio, p.a.
- Hidróxido de potássio 0,05 N
- Solução ácida de sulfato de níquel e cobalto
  - Sulfato de níquel cristalizado ( $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )
  - Sulfato de cobalto cristalizado ( $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )
- Papel de filtro Whatman nº2

### **Procedimento:**

#### Determinação das Absorvências

1. Pesar  $0,25 \pm 0,001$ g para um balão volumétrico de 25 mL;
2. Dissolver em solvente iso-octano;
3. Perfazer o volume ao traço com o mesmo solvente;
4. Agitar para homogeneizar amostra;
5. Preparar uma diluição 1:25 da solução mãe, 400  $\mu\text{L}$ , para um balão volumétrico de 10 ml;
6. Na célula testemunha, utiliza-se iso-octano como padrão;
7. Encher uma tina de quartzo com amostra;
8. Determina-se o comprimento de onda da gama de 232 a 272.

#### Processo de Pré-secagem

1. Homogeneização das amostras, recolha da toma com auxílio de uma pipeta;
2. Pipetar 50 ml de amostra;
3. Adicionar 3g de carbonato de cálcio anidro (agente excicante);
4. Agitar para dissolver;
5. Deixar repousar no excicador durante 24 horas (um dia e uma noite);

6. Filtra para um balão de Erlenmeyer com auxílio de um funil e papel de filtro whatman n.º 2.

#### Aferição do espectrofotómetro e correção do percurso óptico da célula

1. Segundo a Norma NP-970 de 1986, considera-se que o espectrofotómetro está aferido quando, a uma temperatura da ordem dos 20 °C e utilizando células de quartzo com garantia de conferirem espessura de  $1,000\text{cm} \pm 0,002\text{cm}$  ao líquido nela contido, se determina a absorvência de  $0,200 \pm 0,005$ , a 275 nm, utilizando uma solução de 0,05 N de hidróxido de potássio como padrão. Assim, coloca-se a solução de hidróxido de potássio 0,05N nas células testemunha e amostra, e faz-se a calibração do aparelho dando a instrução de auto-zero (0 Abs); em seguida, coloca-se na célula de leitura a solução de dicromato de potássio seguindo este procedimento, foram efectuados dez conjuntos de leituras a 275 nm, cada conjunto é lido em condições de repetibilidade a  $n=10$ , alternados com novas calibrações, tal como se apresenta no **Apêndice VI**

#### Correção do percurso óptico da célula (Procedimento de Calibração 2)

1. Segundo a Norma NP – 970 de 1986, devem ser lida, na escala das transmitâncias, os seguintes valores, em termos de percentagem (100 T):  $51 \pm 0,3$ ,  $26,9 \pm 0,5$  e  $73,3 \pm 0,3$ , respetivamente a 439, 512, 581 nm para a solução a seguir indicada, a uma temperatura da ordem de 20° C, na espessura de 1 cm  $\pm 0,002$ , com a menor fenda possível e utilizada, como líquido testemunha o tetracloreto de carbono.

A solução é constituída por:

- Sulfato de níquel cristalizado ( $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 4,7g
- Sulfato de cobalto cristalizado ( $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 3,1g
- Ácido clorídrico 1 N, 11ml
- Água ultra pura (qualidade Milli-Q), para completar o balão de 100 ml.

### **3.7. Controlo Microbiológico**

#### **Fundamento Teórico**

Para a realização dos ensaios microbiológicos foram utilizados novas amostras de óleos alimentares, proveniente da sua utilização na origem, na base de

Alcanena do Grupo Os Mosqueteiros. A não utilização no controlo microbiológico das mesmas amostras utilizadas nos ensaios físico-químicos deveu-se ao facto de estas poderem ter ficado contaminadas em consequência da manipulação no laboratório de química da ESAS.

O isolamento de um determinado microrganismo em cultura pura a partir de uma amostra de óleo alimentar envolve, em geral, o uso de meios de cultura sólidos e o recurso a técnicas de isolamento de colónias, como seja pelo método espalhamento em placa. Este método permite obter colónias individualizadas e espacialmente separadas que, teoricamente, são originadas a partir de uma única célula, correspondendo, por isso, a uma cultura pura de um microrganismo particular.

As três amostras de óleos alimentares utilizadas foram as seguintes: O<sub>1</sub> – óleo novo com zero frituras; O<sub>2</sub> – óleo com um grau visível de degradação médio; O<sub>3</sub> – óleo com um grau visível de degradação superior ao O<sub>2</sub>.

A degradação de óleos alimentares, em termos microbiológicos, pode ser verificada também a partir da determinação quantitativa de microrganismos lipolíticos, de fungos xerófilos e fungos lipolíticos.

A contagem de microrganismos lipolíticos é realizada segundo Bourgeois e Leveau (1991). Nesta determinação é utilizado *Tributyryne Agar* (LIPO), meio lipídico que estimula o crescimento de microrganismos lipídicos. Incubação a 30°C por 48 horas.

A contagem de fungos xerófilos é realizada segundo NFV 08036 (2003). A determinação é feita com meio *Dicloran-Glycerol Cloramphenicol Agar*, meio otimizado para favorecer o crescimento de fungos, a incubação é realizada a 25°C por 3 a 5 dias.

A contagem de fungos lipolíticos é realizada de maneira semelhante a contagem de microrganismos lipolíticos, com a seguinte alteração, ao meio de cultura *Tributyryne Agar* é adicionado cloranfenicol, antibiótico inibidor da síntese proteica bacteriana. Incubação a 25°C por 3 a 5 dias.

### **Material e Equipamento:**

- Óleos alimentares (3 amostras: O1 – óleo novo (0 frituras); O2 – óleo com um número de utilizações média; O3 – óleo com n utilizações);
- Placas de Petri com meios de cultura;
- Bico de Bunsen;
- Pipetas;
- Tubos de diluição;
- Semeador.

### **Procedimento:**

Para o controlo microbiológico de óleos alimentares é utilizado duas diluições das amostras, diluição -1 e -2. Na diluição -1 foi utilizada dez mililitros do produto (óleo) e para a diluição -2 um mililitro.

#### Preparação da amostra:

##### Diluição da amostra até -1

- 90 mL de solução de água peptonada tamponada salina + Tween 80:
  - ✓ 25,5 g de H<sub>2</sub>O peptonada tamponada desidratada;
  - ✓ 8,5 g de Cloreto de Sódio;
  - ✓ 1% de Tween 80;
  - ✓ 1000 mL de H<sub>2</sub>O destilada.
- 10 mL de produto

##### Diluição da amostra até -2

- 9 mL de solução de água peptonada tamponada salina + 1% de Tween 80
- 1 mL da diluição anterior (-1)

#### Meios de Cultura:

- *Tributyryne Agar* (LIPO):
  - ✓ 5,0 g de peptona;
  - ✓ 3,0 g de extracto de levedura;
  - ✓ 1000 mL de H<sub>2</sub>O destilada;

- ✓ 30 minutos de esterilização em autoclave a 110 °C;
- ✓ 10 mL/1000 mL de Tributirato de glicerol (suplemento).
- Meio *Dicloran-Glycerol Cloramphenicol* Agar (DG18)
- Tributyrine Agar (LIPO) + cloranfenicol.

Metodologia analítica:

- Pipetar 1ml de sementeira por espalhamento à superfície – 3 placas por diluição.

**Quadro 8:** número de placas por diluição

	Diluição	
	-1	-2
<b>Contagem</b>		
Microrganismos lipolíticos	3 Placas	3 Placas
Fungos Xerófilos	3 Placas	3 Placas
Fungos Lipolíticos	3 Placas	3 Placas

- Molhar o semeador no copo contendo álcool puro e passá-lo na chama do bico de Bunsen, deixar a chama apagar e arrefecer na tampa da placa;
- Espalhar a porção de sementeira rodando as caixas de Petri com cuidado;

Nota: Ao mudar de meio ou de diluição passar novamente à chama.

- Incubar as placas em posição invertida durante 48 horas a 30 °C para microrganismos lipolíticos durante 3 a 5 dias e a 25 °C para fungos xerófilos e lipolíticos;
- Observar as placas e registar a existência de colónias isoladas.

#### 4. VALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE ENSAIO. REPETIBILIDADE

Um método de ensaio é um processo que envolve manipulações susceptíveis de acumularem erros (sistemáticos e/ou aleatórios), podendo em algumas situações alterar de forma significativa o valor final. É fundamental que os laboratórios disponham de meios e critérios objetivos, para demonstrarem que o métodos de ensaios que executam conduzem a resultados credíveis e adequados à qualidade pretendida. Quando o método seguindo no laboratório não é rigorosamente o descrito em Norma ou Regulamento Comunitário, sofrendo alguma alteração que justifique a criação de um método interno, pode haver necessidade de se efetuar um estudo de validação mais exaustivo (LARANJEIRA, 2011).

#### 4.1. Precisão

A precisão engloba a variabilidade dos resultados em duas situações: utilização do método em condições idênticas (repetibilidade) ou com modificações de, pelo menos, um parâmetro (reprodutibilidade intra-laboratorial). É um termo geral que pretende avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos sobre uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas. É importante salientar que será mais realista estudar preferencialmente a precisão sobre amostras, para minimizar efeitos de matriz.

Entre esta duas medidas extremas de precisão, repetibilidade e reprodutibilidade, existe uma situação intermédia denominada por **precisão intermédia** ou variabilidade intra-laboratorial. A precisão intermédia refere-se à precisão definindo exactamente certas condições a variar (uma ou mais), tais como:

- diferentes analistas;
- diferentes equipamentos;
- diferentes épocas (RELACRE, 2000).

#### 4.2. Repetibilidade

A repetibilidade exprime a precisão de um método de ensaio efectuado em condições idênticas, isto é, refere-se a ensaios efectuados sobre uma amostra, em condições tão estáveis quando possível, tais como:

- mesmo laboratório;
- mesmo analista;
- mesmo equipamento;
- mesmo tipo de reagentes;
- curtos intervalos de tempo.

O limite de repetibilidade ( $r$ ) é o valor abaixo do qual se deve situar, com uma probabilidade específica (normalmente 95%), a diferença absoluta entre dois resultados de ensaio ( $X_i, X_{i-1}$ ), obtidos nas condições acima referidas.

Na prática aceitam-se os resultados de duas determinações efectuadas em condições de repetibilidade se:

$$|X_i - X_{i-1}| \leq r$$

Caso a amplitude entre os dois ensaios seja superior ao limite, dever-se-á, numa primeira fase, fazer uma análise crítica e, caso seja necessário, recorrer à repetição de ensaios segundo um plano assente em dados bibliográficos ou normas (RELACRE, 2000).

### **Determinação da repetibilidade**

A repetibilidade pode ser determinada através de um ensaio interlaboratorial ou a partir de ensaios efectuados no próprio laboratório.

Para determinar a repetibilidade de um método no próprio Laboratório, efectuam-se uma série de medições ( $n \geq 10$ ) sobre uma mesma amostra ou padrões, em condições de repetibilidade. Caso se justifique, este procedimento é repetido sobre uma série de amostras, em vários níveis de concentração, cobrindo todo o domínio de aplicação do método.

Quando se pretende avaliar a repetibilidade através de um ensaio interlaboratorial, o número de medições, em cada nível de concentrações, poderá ser inferior ( $n \geq 2$ ). Em ambos os casos, o calculo é efectuado separadamente para cada nível de concentração  $i$ , a partir dos resultados obtidos e eliminando os valores aberrantes.

A estimativa da variação ( $S_r^2$ ) de um método de análise pode ser determinada pela média ponderada das estimativas das variações de  $W$  séries de análises estudadas nas condições de repetibilidade. Tendo em conta que a repetibilidade pode variar com o teor de elemento a dosear, esta última condição assegura, em princípio, a igualdade estatística das variações de  $w$  séries de análises.

Assim, a variância associada à repetibilidade do método de ensaio, para cada nível  $i$  de concentração:

$$S_{ri}^2 = \frac{\sum_{w=1}^p [(n_{wi} - 1) \times S_{wi}^2]}{\sum_{w=1}^p (n_{wi} - 1)}$$

Sendo:

$S_{ri}^2$  – variância de repetibilidade associada aos resultados considerados, para casa laboratório;

$S_{wi}^2$  - variância associada aos resultados considerados, para cada laboratório;

$(n_{wi} - 1)$  - graus de liberdade da série de análises;

$p$  - número de laboratórios participantes.

Para um nível de confiança de 95%, o limite de repetibilidade ( $r$ ) é avaliado  
Segundo:

$$r = t \times \sqrt{2} \times S_{ri} = 1,96 \times \sqrt{2} \times S_{ri}$$

Sendo:

$S_{ri}$  - desvio padrão de repetibilidade associada aos resultados considerados.

Isto é:

$$r = 2,8 \times \sqrt{S_{ri}^2}$$

Caso o Laboratório obtenha mais de dois resultados, o limite de repetibilidade ( $r$ ) é calculado de acordo com a norma ISO 5725-6.

O Coeficiente de Variação de Repetibilidade ( $CV_r$ ), é outro parâmetro de avaliação e quantificação da repetibilidade para cada nível de concentrações, expresso em percentagem, é dado por:

$$CV_r = \frac{S_{ri}}{\bar{X}} \times 100$$

Sendo:

$CV_r$  - numericamente igual ao desvio padrão de repetibilidade ( $S_{ri}$ ) a dividir pela média dos valores considerados ( $\bar{X}$ ) (RELACRE, 2000).

.

## V. ANÁLISE E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

### 1. VALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE ENSAIO

A magnitude dos resultados obtidos na primeira série de ensaios, exploratória, realizada em cada uma das amostras, veio demonstrar que os procedimentos descritos em Norma ou Regulamento Comunitário, quando executados sem alteração e em condições de repetibilidade, nem sempre permitem obter resultados com a precisão e rigor que satisfaçam critérios de aceitabilidade recomendados (RELACRE, 2000), para todo o ciclo de vida do óleo alimentar – e muito particularmente para o óleo de fritura que já apresenta um estado de degradação severa (caso do OAU<sub>r</sub>).

Nesses casos e para esses parâmetros, os estudos prévios incidiram na identificação de variáveis técnicas a otimizar (ex: tempo de contacto, agitação da amostra, concentração do padrão, dimensão da amostra, entre outras) e posteriormente, nos procedimentos de validação da nova técnica (Procedimento Interno ESAS), quanto ao parâmetro *repetibilidade*.

Os parâmetros analíticos referidos foram ensaiados nas três amostras de óleo alimentar – OAN, AOU<sub>2x</sub> e OAU<sub>r</sub> – em condições idênticas, de modo a garantir a repetibilidade de cada amostra.

Para determinar a repetibilidade dos métodos no laboratório de química da ESAS, efetuaram-se séries de medições (n=10) sobre a mesma amostra, em cada um dos óleos estudados, em condições de repetibilidade. Por outras palavras, os ensaios foram efetuados em condições tão estáveis quanto possível: mesmo laboratório; mesma analista; mesmo equipamento; mesmo tipo de reagentes; em curtos intervalos de tempo. (RELACRE, 2000).

### 1.1. Humidade e Actividade da Água ( $a_w$ )

O teor de humidade foi determinado gravimetricamente, por secagem em estufa, até se atingir peso constante. Nos primeiros ensaios realizados, as três amostras foram submetidas ao procedimento geral descrito na norma ISO 3727-2001, em condições de repetibilidade dos ensaios ( $n=10$ ). Inicialmente submetidas a um período de secagem de 4h, testaram-se seguidamente, ainda nos mesmos ciclos de secagem, períodos suplementares sucessivos de 1 hora e de 16 horas em estufa (noite), tal como se apresenta no **Apêndice I** no **Quadro 42** e **43**. O processo de secagem foi controlado por pesagem, monitorizado experimentalmente através das perdas de peso mas também por observação visual (aspecto e cor do óleo).

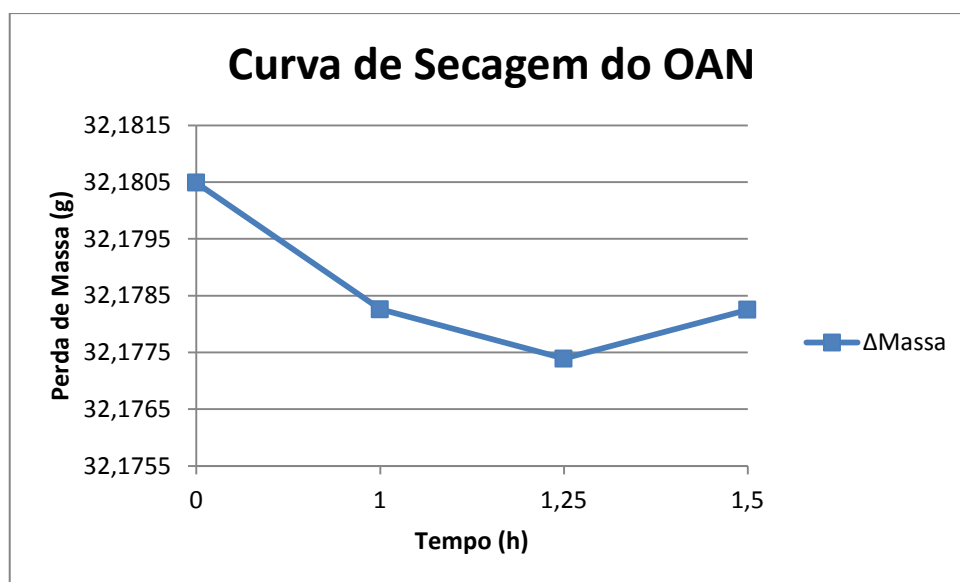
Deste primeiro estudo, pode-se concluir que os óleos, em função do seu estado de degradação, apresentam necessidades de secagem distintas, traduzidas por intervalos de tempo em estufa ( $102\pm 2^\circ\text{C}$ ) significativamente diferentes, para atingirem a condição de peso constante. Quanto mais degradado o óleo, maior o tempo necessário de secagem.

**Quadro 9:** tempo de secagem das amostras de óleo com base nos ensaios prévios realizados

Amostra	Estado de Degradação Visível	Nº de secagens				Tempo de Secagem
		1ª	2ª	3ª	4ª	
OAN	Não apresenta	1 Hora	15 Minutos	15 Minutos	-	1 Hora e 30 minutos
OAU <sub>2x</sub>	Ligeira	1 Hora	15 Minutos	15 Minutos	15 Minutos	1 Hora e 45 minutos
OAU <sub>r</sub>	Severa	4 Horas	30 Minutos	30 Minutos	30 Minutos	5 Horas e 30 minutos

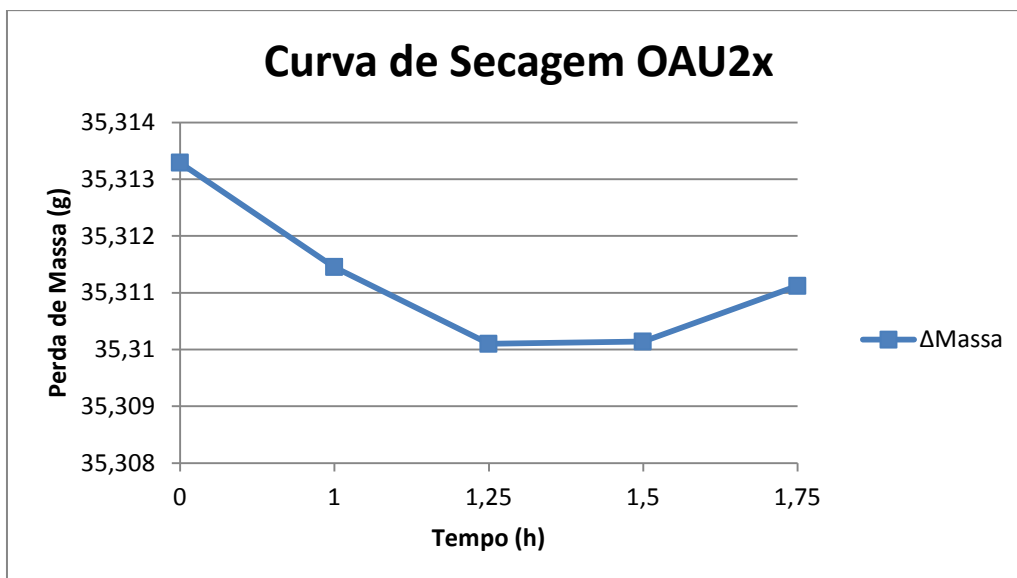
Posteriormente, para cada óleo foram realizados estudos complementares de secagem, diferenciados, adaptando a técnica em função dos resultados experimentais obtidos no primeiro estudo e monitorizando também o estado observável para cada óleo (alteração de cor, limpidez/opacidade/formação de crosta) (**Quadro 9**). Com os novos resultados obtidos, foram traçadas curvas experimentais de secagem, de que se apresentam três dos exemplos mais significativos, **Figuras 15, 16 e 17**. Estas curvas de secagem foram feitas com base nos quadros apresentados no **Apêndice I, Quadros 44, 45, 46 e 47**.

Para o óleo alimentar novo (OAN) foram testados tempos de secagem de 1 hora (fase inicial), seguidos de períodos sucessivos de 0,25 horas (15 minutos), até peso constante. A **Figura 13** mostra que após o período inicial de secagem (1 hora em estufa), continua a haver perda de massa registada após o primeiro período suplementar de 15 minutos (0,25h). Contudo, entre o segundo e o terceiro intervalos de tempo em estufa (também de 0,25 h), registou-se um aumento do peso da amostra.



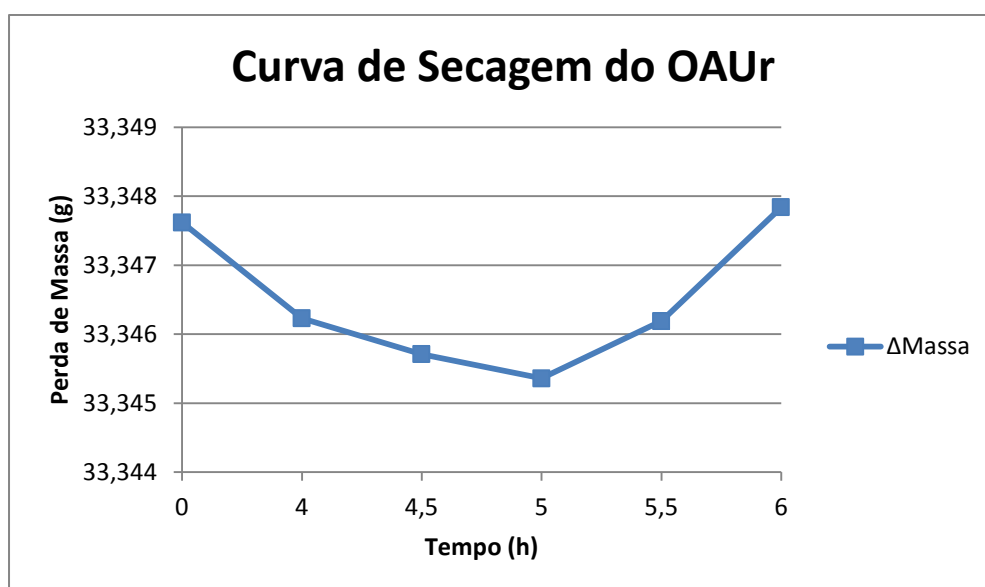
**Figura 15:** curvas de secagem do OAN

No caso do óleo alimentar usado duas vezes ( $OAU_{2x}$ ), foram utilizadas as mesmas condições de ensaio que para o OAN, ou seja, os mesmos intervalos de tempo em estufa. Neste caso é possível observar (**Figura 16**) um patamar a peso constante, entre o segundo e terceiro intervalos suplementares de secagem de 15 min (0,25 h). A partir desse ponto, a amostra passa a registar aumento de peso por secagem.



**Figura 16:** curva de secagem do OAU<sub>2x</sub>

Para o óleo alimentar usado proveniente do refeitório (OAU<sub>r</sub>), fixou-se um primeiro período de secagem de 4 horas, seguindo-se-lhe períodos suplementares de tempo em estufa de 0,50 horas (30 minutos). A **Figura 17**, representa a variação da massa, onde se verifica uma perda consistente de peso durante as 5 primeiras horas em estufa. É aproximadamente nessa altura que se regista o ponto de viragem.



**Figura 17:** curvas de secagem do OAU<sub>r</sub>

A perda de peso numa amostra de óleo num processo de secagem em estufa, é consistente com o facto de esta não se ter completado num período fixado inicialmente (1h ou 4h), continuando a amostra a perder humidade (e eventualmente também outro material

volátil residual, indiferenciado e não contabilizável). Em óleos e outros produtos ricos em lípidos, a inversão do sentido da variação do peso, para valores crescentes, nas curvas de secagem, está associada não à perda de humidade (que eventualmente já se completou) mas a uma rápida degradação oxidativa do óleo exposto ao ar quente da estufa, acelerada por efeito térmico. A oxidação é acompanhada de incorporação de oxigénio nas duplas ou triplas ligações (peroxidação), alterando a estrutura química e aumentando também a massa molar destes compostos (adaptado de HALPERN, 1997; adaptado de RICARDO e TEIXEIRA, 1983), fenómeno que justifica o ganho de peso registado.

Diversas variáveis têm influência no tempo necessário para reduzir a humidade dos óleos, por processos de secagem em estufa. Os principais fatores, críticos, são a temperatura, a pressão e a humidade relativa do ar na estufa; a eficiência da ventilação; o número de amostras em estufa; a humidade inicial do produto; a sua composição e maior ou menor fragilidade térmica e a sua área efetiva de exposição ao ar, que num produto líquido se limita a uma fina camada contínua superficial, a interface líquido-gás, a partir da qual a água livre se difunde e evapora (adaptado de BEJAN, 1996).

O processo exige um tempo relativamente longo para a sua execução, o que representa uma desvantagem do método, quando aplicado a óleos; por outro lado, não sendo possível definir de imediato, para cada tipo de amostra, o tempo que demora a secar o produto até obter peso constante, acaba por se tornar num método trabalhoso, limitativo, sem resposta rápida e que obriga sempre a um pequeno estudo prévio. O que o torna pouco interessante como indicador de degradação da qualidade de OAU's.

Com efeito, no presente trabalho, tendo em conta que o objetivo é analisar óleos em fim de vida, já se pode estimar, nesta fase, que o tempo de secagem em estufa de um óleo de fritura com sinais claros de degradação deva ser de 4-5 horas, aferidas a peso constante, ou mesmo mais, dependendo do grau de incorporação de água pelo óleo durante a fritura dos alimentos e por hidrólise dos acilgliceróis presentes no óleo. Contudo, pelos resultados já obtidos, verifica-se que um óleo novo, com humidade apenas residual, seca em pouco mais de uma hora e é muito susceptível à oxidação térmica; um óleo com duas utilizações, que no aspecto não apresenta sinais de degradação, já exige um tempo de secagem significativamente superior – introduzindo um grau de variabilidade pouco aceitável em rotina. Pelo exposto, considerou-se que este parâmetro é pouco interessante como

Indicador de Degradação da Qualidade, pelo que o seu estudo foi abandonado, a partir desta fase.

Analisando os resultados obtidos para o parâmetro  $a_w$  observou-se que entre as amostras, não existiam diferenças significativas (**Quadros 10 e 11**).

Os valores obtidos para a actividade da água ( $a_w$ ) dos três óleos, apresentaram valores pouco concordantes entre réplicas de ensaio (**Quadro 10**). A técnica é de execução simples mas morosa – à razão de duas medições de  $a_w$  por dia – não sendo, pois, possível fazer as 10 leituras no mesmo dia para cada amostra de óleo, como seria desejável, o que torna o parâmetro pouco fiável, traduzido no coeficiente de variação da repetibilidade (CVr%) excessivamente elevado (**Quadro 11**), para aquele número de réplicas.

**Quadro 10:** Valores de  $a_w$  medidos para os três tipos de óleos

OAN		OAU <sub>2x</sub>		OAU <sub>r</sub>	
Amostra	$a_w$	Amostra	$a_w$	Amostra	$a_w$
1	61,4	1	86,6	1	57,8
2	60,6	2	77,6	2	63,3
3	61,0	3	73,6	3	62,2
4	63,5	4	63,8	4	77,1
5	65,7	5	61,1	5	68,1
6	71,1	6	68,0	6	64,5
7	65,1	7	59,8	7	85,8
8	64,0	8	52,4	8	78,8
9	64,9	9	54,9	9	65,9
10	64,4	10	52,5	10	63,5

**Quadro 11:** resultados de validação do parâmetro  $a_w$  para as amostras de OAN, OAU<sub>2x</sub> e OAU<sub>r</sub>.

Atividade da Água ( $a_w$ )			
	Óleo Alimentar Novo	Óleo Alimentar Usado 2x	Óleo Alimentar Usado do Refeitório
Média (% m/v)	64,1	65,0	68,7
Desvio-Padrão, s (% m/v)	3,0	11,3	8,8
Limite da Repetibilidade, r (r= 2,8.s) (% m/v)	8,4	31,9	24,8
Coefficiente variação repetibilidade, CVr (%)	13%	49%	36%
Critérios de aceitação CVr (%) $\leq 5\%$ ou entre 5 – 10%			

Segundo Fellows (1996), o movimento de vapor de água a partir de um alimento para o ar circundante depende tanto do teor de humidade e da composição do alimento como da temperatura e da humidade do ar. A uma temperatura constante o teor de humidade do alimento varia até este entrar em equilíbrio com o vapor de água da atmosfera circundante. Este fenómeno pode justificar a dispersão de valores encontrada, mesmo que o banho de água se mantenha termostaticado sempre à mesma temperatura, 25 °C. Com efeito, manter essa variável constante não é condição suficiente, já que a sala onde o aparelho medidor de  $a_w$  (Rotronic-Hygroskop DT) se encontra, não dispõe de temperatura e humidade controladas, podendo haver migração e transferência reversível de humidade ar/óleo ou óleo/ar através da superfície do óleo, quando se alteram as condições atmosféricas.

Considerando o tempo total da análise, verifica-se que foram necessários 15 (quinze) dias úteis para a realização das 30 leituras, contabilizando 5 dias para cada amostra.

Como se pode verificar através da análise comparada dos Quadros 10 e 11, não obstante os valores médios de  $a_w$  evoluírem no sentido esperado à medida que o óleo se degrada, isto é, a  $a_w$  aumenta de OAN para OAU<sub>2x</sub> e deste para OAU<sub>r</sub> – a dispersão de resultados (com n=10) apresenta um elevado grau de aleatoriedade e não permite concluir que as diferenças entre óleos sejam significativas.

O óleo novo (OAN), com menos humidade residual e por hipótese, maior tensão superficial, é o que apresenta menor dispersão de resultados. Na prossecução do trabalho, pretende-se continuar o estudo deste parâmetro, mas as amostras serão analisadas em triplicado, o que poderá traduzir-se numa resposta não só mais rápida como até mais credível (melhor precisão), pelas razões apontadas.

## **1.2. Acidez Total (AT) e Índice de Acidez (IA)**

Para o índice de acidez (IA) e acidez total (AT) o procedimento foi repetido sobre uma série de amostras, fazendo variar a concentração do padrão de NaOH (**0,1N** e **0,01N**) e a dimensão da amostra (**5g** e **20g**), de maneira a cobrir todo o domínio de aplicação do método e testar a repetibilidade dos ensaios (**Quadro 12**). Apenas a variação da toma para ensaio (dimensão da amostra) está contemplada na NP 903/1987, sendo a introdução da variável concentração do padrão de NaOH, considerada uma alteração ao normativo sendo, pois, necessária a sua validação.

Como é sabido, a precisão dos métodos titulométricos pode ser sensivelmente modificada, alterando variáveis de ensaio como a dimensão da amostra e a concentração do padrão, que se repercutem num conjunto de outras variáveis dependentes, como: volume de titulante gasto nos ensaios analíticos e em branco; erros volumétricos e de pesagem (leitura e instrumental) associados, entre outros aspetos. Neste estudo, a fim de otimizar as condições de repetibilidade – que inicialmente não cumpriam os critérios de aceitação -, realizaram-se duas séries distintas de ensaios por cada óleo alimentar: 1) segundo o procedimento normativo, sem alteração, mas fixando a dimensão da amostra no valor máximo recomendado (20g); 2) através de procedimento interno, optando por um valor intermédio para a dimensão recomendada da amostra (5g), mas admitindo que a variável crítica é a concentração do padrão (NaOH 0,1N), que deve ser alterada, fixando a nova concentração para uma diluição 10 vezes superior (NaOH 0,01N).

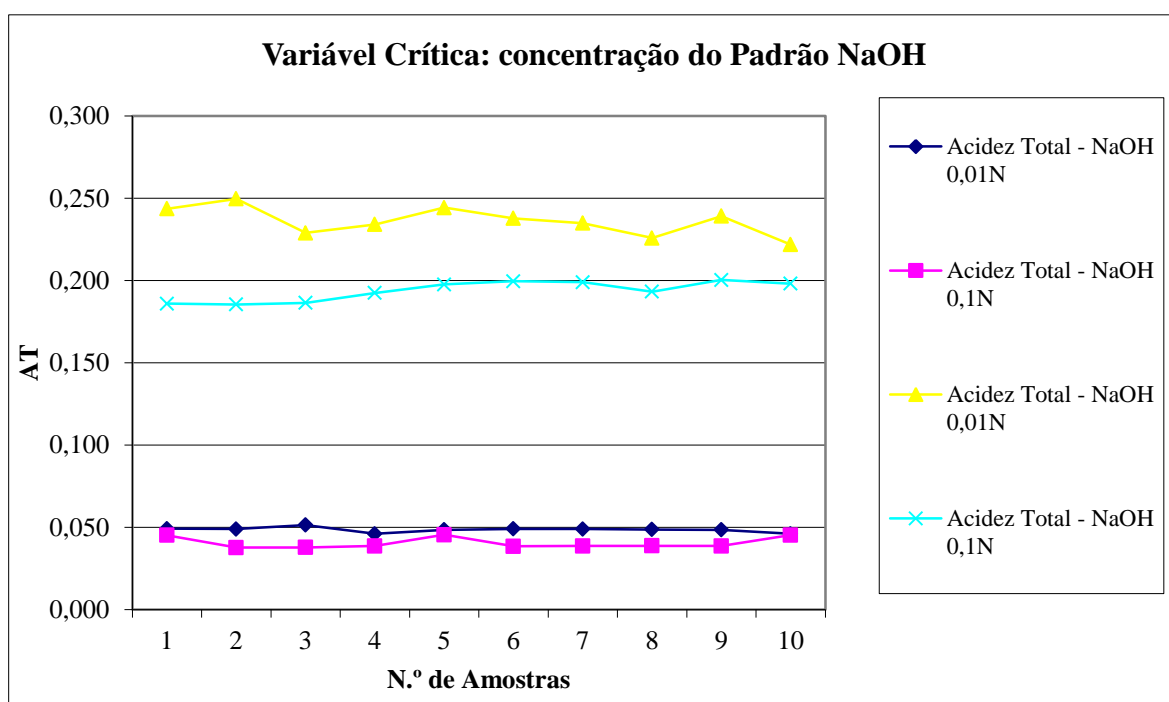
Para o cálculo da repetibilidade, foram estabelecidos os parâmetros média ( $x_m$ ) e desvio padrão ( $\sigma$ ), para cada estudo de caso, bem como o limite de repetibilidade,  $r$ , e o coeficiente de variação da repetibilidade (CVr%). Os resultados obtidos apresentam-se no **Quadro 12**. Como o quadro demonstra, o coeficiente CVr% é menor quando se utiliza o padrão de NaOH 0,01N para todos os casos estudados, com exceção do caso 3, em que o CVr (%) calculado utilizando o padrão mais concentrado, NaOH 0,1N, é inferior.

**Quadro 12:** resultados da validação (repetibilidade) do parâmetro AT e IA para as amostras OAN, OAU<sub>2x</sub> e OAU<sub>r</sub>.

Amostra	Padrão	Dimensão nominal da amostra (g)	Média (% m/v)	Desvio Padrão (% m/v)	Limite de repetibilidade r (r=2,8.s) (% m/v)	Coefficiente variação de repetibilidade CVr (%)
<b>Caso 1)</b> Óleo Alimentar Novo	0,01 N NaOH	5±0,001	0,049	0,0016	0,004	9,0
	0,1 N NaOH	20±0,001	0,040	0,0034	0,009	23
<b>Caso 2)</b> Óleo Alimentar Usado 2x	0,01 N NaOH	5±0,001	0,133	0,0049	0,014	10
	0,1N NaOH	20±0,001	0,054	0,0090	0,025	47
<b>Caso 3)</b> Óleo Alimentar Usado Refeitório	0,01 N NaOH	5±0,001	0,236	0,0087	0,024	10
	0,1 N NaOH	20±0,001	0,194	0,0060	0,017	8,6
Critérios de aceitação CVr (%) ≤ 5 % ou entre 5 – 10%						

A justificação para este facto (aparentemente contraditório), mas do qual se realça a importância das boas práticas em laboratório, reside com boa probabilidade no rigor crescente na execução das análises efetuadas, com o treino da analista. Destaque-se que com o procedimento interno, consegue-se diminuir a quantidade de amostra necessária para laboratório e para análise e aumentar proporcionalmente (em relação ao grau de diluição) o volume de titulante (branco e amostra), reduzindo-se significativamente os erros volumétricos associados à leitura de pequenos volumes de titulante em bureta. O procedimento torna-se globalmente mais preciso e com menores custos imputados à técnica

Como se pode verificar através dos **Quadros 12 e 13**, os valores médios de acidez total evoluem no sentido esperado à medida que o óleo se degrada, isto é, a AT aumenta com as reutilizações e com o estado de degradação do óleo, mas fica por provar, a partir de um maior número de resultados, qual o grau de significância dessa alteração e a importância deste parâmetro, enquanto indicador rápido e eficaz da degradação da qualidade dos OAU's em fim de vida (**FIG.18**).



**Figura 18:** variação da AT em condições de repetibilidade, para OAN e OAU<sub>r</sub>, com as variáveis concentração do padrão de NaOH e dimensão da amostra.

**Quadro 13:** variação dos valores de AT, para o OAN e OAU<sub>r</sub> em condições de repetibilidade (n=10).

	AT no caso 1 – OAN		AT no caso 3 – OAU <sub>r</sub>	
	NaOH		NaOH	
	0,01N	0,1N	0,01N	0,1N
	0,049	0,045	0,244	0,186
	0,049	0,038	0,250	0,185
	0,051	0,038	0,229	0,186
	0,046	0,039	0,234	0,192
	0,049	0,046	0,244	0,198
	0,049	0,038	0,238	0,199
	0,049	0,039	0,235	0,199
	0,049	0,039	0,226	0,193
	0,048	0,039	0,239	0,200
	0,046	0,045	0,222	0,198
<b>Média (% m/v)</b>	0,049	0,040	0,236	0,194
<b>Desvio Padrão (% m/v)</b>	0,002	0,003	0,009	0,006
<b>Limite de repetibilidade r (r=2,8.s) (% m/v)</b>	0,004	0,009	0,024	0,017
<b>Coefficiente variação de repetibilidade CV<sub>r</sub> (%)</b>	<b>9,0</b>	<b>23,4</b>	<b>10,3</b>	<b>8,6</b>

### 1.3. Índice de Peróxidos (IP)

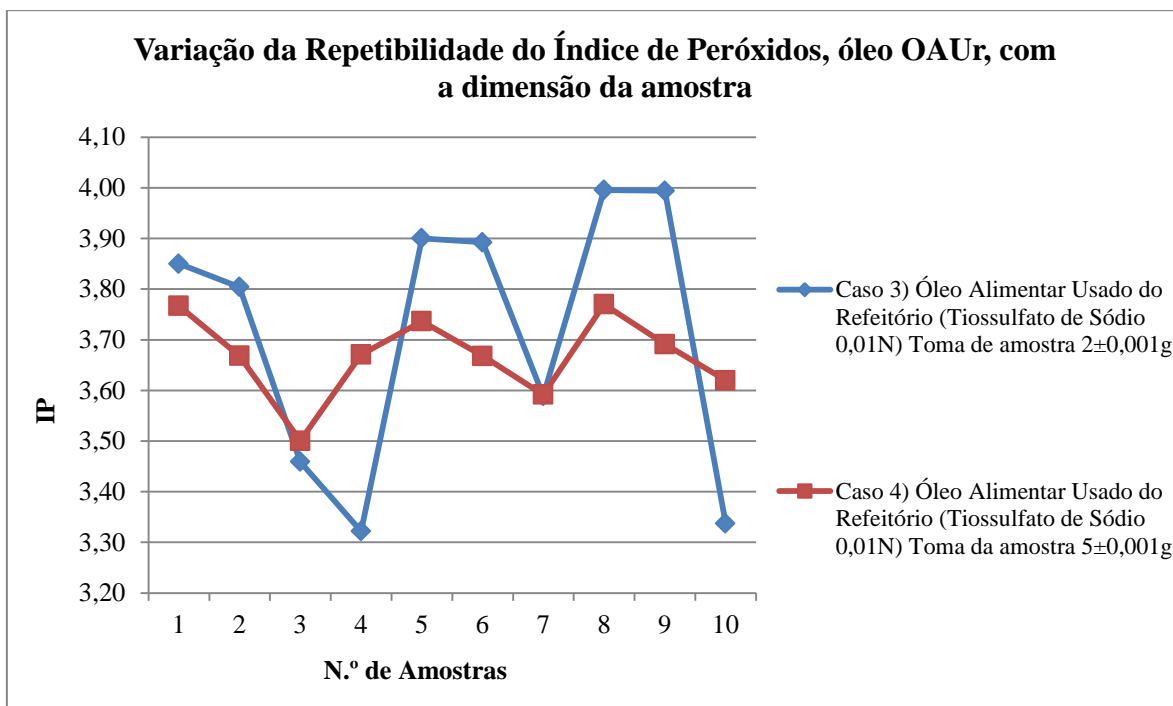
Para o índice de peróxidos (IP) o procedimento foi repetido sobre uma série de amostras, fazendo variar a dimensão da amostra (**2g** e **5g**), apenas no OAU<sub>r</sub> de maneira a cobrir todo o domínio de aplicação do método e testar a repetibilidade dos ensaios (**Quadro 14**), segundo o normativo (NP 904/1987). A segunda série de ensaios para o referido óleo, foi realizada a fim de otimizar as condições de repetibilidade, que inicialmente não cumpriam os critérios de aceitação para o referido óleo.

Para o cálculo da repetibilidade foram estabelecidos os parâmetros média ( $x_m$ ) e desvio padrão ( $\sigma$ ), limite de repetibilidade,  $r$ , e o coeficiente de variação da repetibilidade (CV<sub>r</sub>%), para cada estudo do caso.

No **Quadro 14** e **Figura 19** é possível observar que para o caso 3), se verifica a inversão do sentido da correlação paramétrica entre valores numéricos absolutos de IP e a reutilização ou estado de degradação do óleo. Os valores de IP observados para o óleo OAU<sub>r</sub> são, com efeito, inferiores aos dos casos 1) e 2).

**Quadro 14:** resultados de validação (repetibilidade) do parâmetro IP para as amostras de OAN, OAU2x e OAU<sub>r</sub>.

Amostra	Padrão	Dimensão nominal da amostra (g)	Média (% m/v)	Desvio Padrão (% m/v)	Limite de repetibilidade r (r=2,8.s) (% m/v)	Coefficiente variação de repetibilidade CV <sub>r</sub> (%)
<b>Caso 1)</b> OAN	0,01N	2±0,001	20,30	0,45	1,25	<b>6,2</b>
<b>Caso 2)</b> OAU <sub>2x</sub>	0,01N	2±0,001	37,55	0,37	1,03	<b>2,7</b>
<b>Caso 3)</b> OAU <sub>r</sub>	0,01N	2±0,001	3,71	0,26	0,74	<b>19,9</b>
<b>Caso 4)</b> OAU <sub>r</sub>	0,01N	5±0,001	3,67	0,08	0,23	<b>6,3</b>
Critérios de aceitação CV <sub>r</sub> (%) ≤ 5% ou entre 5 – 10 %						



**Figura 19:** variação da repetibilidade do IP, em OAU<sub>r</sub> com a dimensão da amostra

Este problema levantou uma nova questão, metodológica. Diminuindo o valor de IP e por conseguinte, também o volume de titulante para amostras de dimensão nominal semelhante (2g), tituladas com o mesmo padrão, concluiu-se através dos valores de CV<sub>r</sub>, que a repetibilidade para OAU<sub>r</sub> é significativamente mais baixa (pior) que nos outros dois óleos estudados. O CV<sub>r</sub>, sendo um coeficiente relativo e não absoluto, permite evidenciar melhor a dispersão dos resultados, em condições de repetibilidade. Tal como foi referido para o parâmetro AT, mas com um maior grau de relevância para o IP (também determinado por volumetria), a justificação para a maior dispersão dos resultados prende-se diretamente com o maior grau de incerteza nas leituras de volume de titulante muito inferiores aos dos casos 1) e 2), afetados por erros absolutos (instrumental e de leitura) iguais. O erro relativo incidente, expresso em percentagem é, por consequência, significativamente superior.

Na nova série de resultados (caso 4), a solução encontrada para contornar o incumprimento do critério de aceitabilidade observado no caso 3), foi considerar como variável crítica, a dimensão (insuficiente) da amostra e aumentar a toma para análise para um valor nominal de 5±0,001g, no limite superior do intervalo de pesagem recomendado pela Norma. Ao aumentar a toma de 2 para 5g, aumenta-se a sua dimensão (quantidade) em 150% (1,5x)

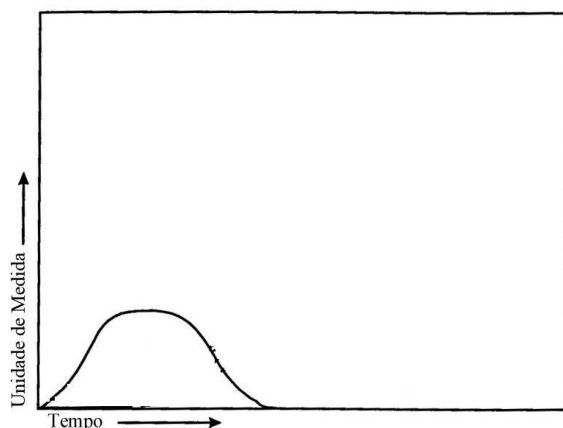
O tratamento de dados adicionais realizado, apresenta-se igualmente no **Quadro 15** e ainda no **Quadro 11**. Neste último quadro, considerando algumas das variáveis – como o volume de titulante - e tomando como referência o caso 1), fez-se uma análise de desvios relativos, apresentados em percentagem. Particularizando para o caso 3), o mais crítico, apesar do volume médio de titulante gasto ser 82% inferior, já o CVr (%) é 222% superior, o que mostra que a variabilidade de resultados (CVr) mais que duplica (2,22 ou 222%), quando a ordem de grandeza do volume diminui em 0,82 (-82%). Como se pode observar, o caso 4) apresenta valores mais favoráveis em condições de repetibilidade e cumpre os critérios de aceitação, o que constitui uma otimização da técnica, tal como se pretendia.

A questão de fundo que se coloca ao interpretar estes resultados, diz contudo respeito à real aplicabilidade do parâmetro IP, como indicador de degradação da qualidade dos óleos, em OAU's muito degradados, em final de vida.

**Quadro 15:** comparação de variáveis em condições de repetibilidade – análise de desvios

Desvio Relativo $\Delta$ (%)	<b>Caso 1</b> (Referência)	<b>Caso 2</b>	$\Delta(1,2)$ %	<b>Caso 3</b>	$\Delta(1,3)$ %	<b>Caso 4</b>	$\Delta(1,4)$ %
Volume médio (mL)	4,22	7,77	<b>84</b>	0,77	<b>-81</b>	1,86	<b>-55</b>
Desvio padrão, s	0,45	0,37	<b>-17</b>	0,26	<b>-41</b>	0,08	<b>-82</b>
<b>CVr(%)</b>	6,17	2,74	<b>-55</b>	19,90	<b>222</b>	6,32	<b>2</b>
Critérios de aceitação CVr (%) $\leq 5$ % ou entre 5 – 10%							

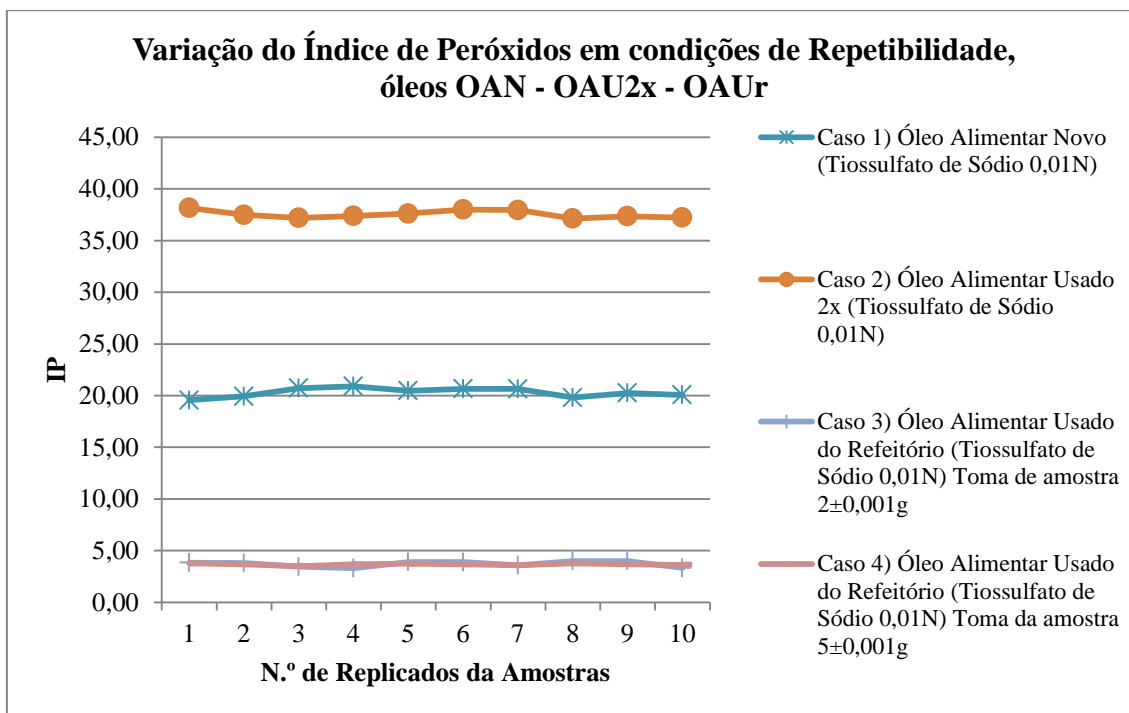
Como já foi descrito no ponto 4, à medida que um óleo sofre oxidação, há formação intermédia de hidroperóxidos (fase de peroxidação); instáveis, com um tempo de vida muito curto, estes decompõem-se rapidamente, em cadeia, noutros produtos finais mais estáveis. À medida que progride a degradação oxidativa, a velocidade de peroxidação, muito rápida na fase inicial do processo (rancificação incipiente) vai diminuindo progressivamente, vindo a ser suplantada pelas velocidades das reações terminais (rancificação severa), de que resulta a acumulação dos produtos finais da degradação e o decréscimo progressivo de hidroperóxidos. Dessa maneira a evolução do índice de peróxidos apresenta o comportamento gaussiano representado na **Figura 20**.



**Figura 20:** comportamento do IP ao longo do tempo (este define a degradação crescente do óleo) adaptado de CHOE e MIN, 2007.

A curva (IP) apresenta um máximo. Só na fase ascendente do gráfico (peroxidação) a velocidade de formação de hidroperóxidos supera a velocidade de decomposição deste produto intermediário e a correlação IP vs tempo é positiva. Nos estados de degradação severa a correlação entre IP e o tempo de vida do óleo, inverte o sentido, tornando-se inversamente proporcional.

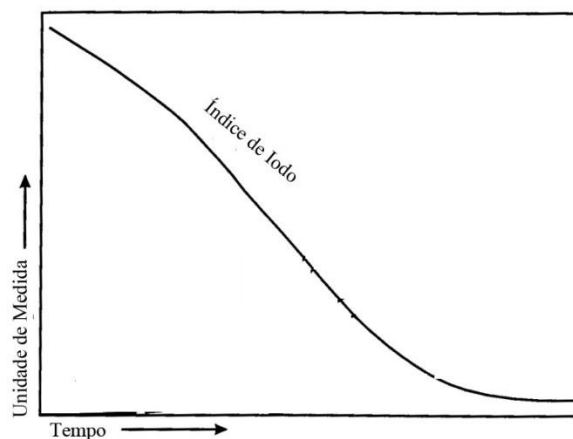
Na **Figura 21**, estão representados os valores obtidos para o índice de peróxidos neste estudo, onde se pretendeu destacar o comportamento do IP com o estado de degradação dos óleos analisados. Comparando com a **Figura 20**, os óleos OAN e OAU<sub>2x</sub> posicionam-se no ramo ascendente da curva; para OAU<sub>r</sub> a inversão da correlação IP vs estado de degradação, já é perfeitamente observável e significativa. Os OAU<sub>r</sub> (casos 3 e 4) apresentam valores muito inferiores de IP em comparação aos outros dois óleos estudados.



**Figura 20:** gráfico de variação do IP em condições de repetibilidade, em OAN – OAU<sub>2x</sub> – OAU<sub>r</sub>

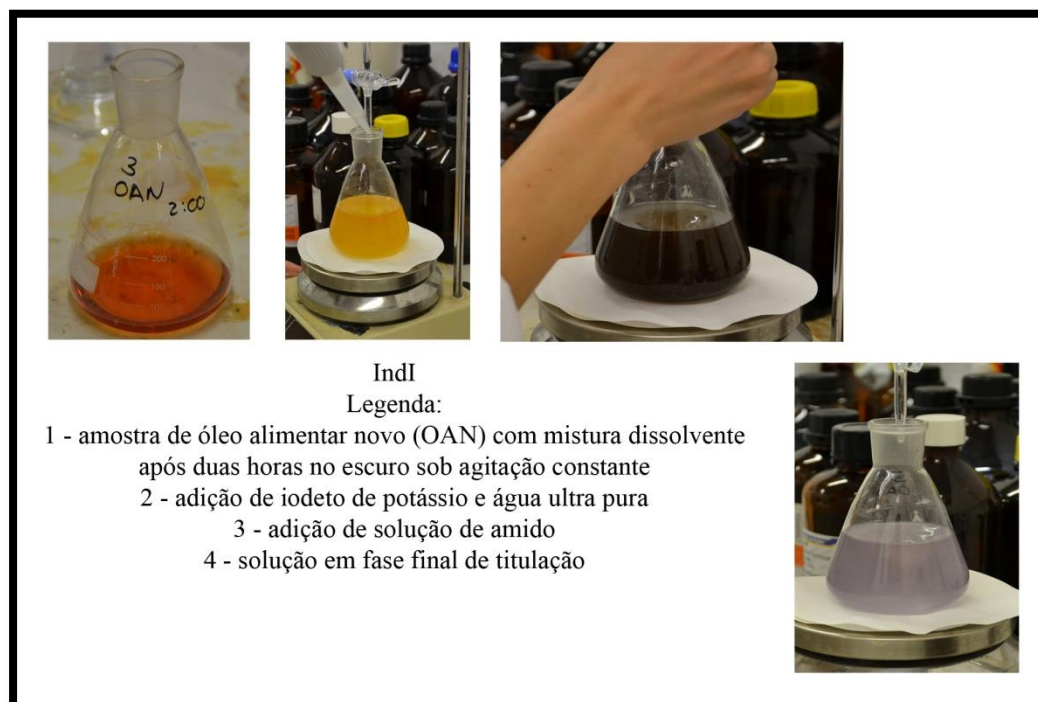
#### 1.4. Índice de Iodo (IndI)

O índice de iodo mede o grau de insaturação de um óleo. Está relacionado com a quantidade de ligações duplas presentes na amostra e a redução observada neste índice deve-se à quebra das ligações duplas resultantes de reações de polimerização, ciclização e oxidação, o que aumenta o grau de saturação da amostra, tornando-a por fim, imprópria para consumo humano. Sob determinadas condições, o iodo pode ser introduzido quantitativamente nas ligações duplas dos ácidos gordos insaturados dos triacilgliceróis e proporcionar uma medida do grau de insaturação da amostra. Quanto maior for o índice, maior será a insaturação da amostra, **Figura 22**.



**Figura 21:** comportamento do IndI ao longo do tempo (este define a degradação crescente do óleo) adaptado de CHOE e MIN, 2007.

A determinação deste parâmetro foi feita pelo método tradicional (Wijs), **Figura 23**, nas três amostras de óleo, óleo alimentar novo, não usado (OAN); óleo alimentar usado por duas vezes (AOU<sub>2x</sub>) e óleo alimentar rejeitado da cozinha do refeitório da base de Alcanena (OAU<sub>r</sub>).



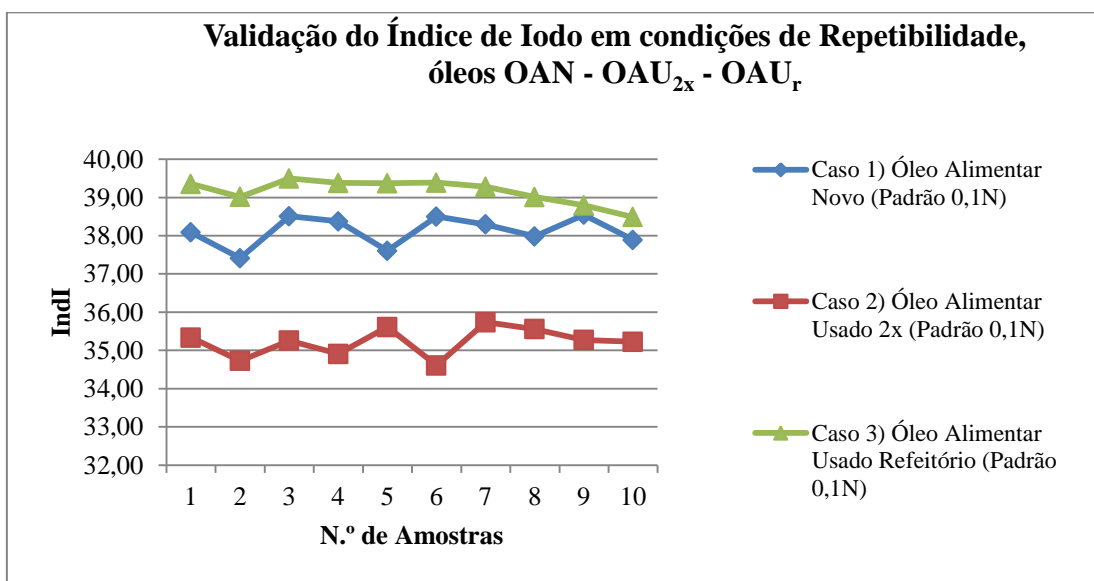
**Figura 22** sequência das diferentes fases da titulação do método tradicional (Wijs) de determinação do IndI segundo procedimento interno ESAS adaptado da Norma Portuguesa NP 941/1985

O parâmetro índice de iodo revelou-se um método sensível, do ponto de vista de execução experimental. Um dos pontos mais críticos deste procedimento, é o passo reaccional com o iodo, que corresponde à fase de agitação/repouso no escuro. Os problemas de miscibilidade da amostra com os reagentes aquosos é outra das limitações a apontar. A norma NP 941/1985 menciona diferentes tempos de reacção no escuro (em horas) conforme o índice de iodo espectável. Nesta fase do estudo já foi possível implementar internamente, no laboratório de química da ESAS, um conjunto de alterações à técnica base (condições de agitação, tempo de reacção e miscibilidade através de misturas dissolventes), método já alterado e descrito no ponto 5 do capítulo IV.

No **Quadro 16** e **Figura 23** é possível observar os valores do coeficiente de variação da repetibilidade CVr (%) para os três casos de estudo, que se encontram dentro dos critérios de aceitação. Não obstante, o valor de índice de iodo (IndI) para o OAU<sub>r</sub> apresentou valores anormalmente elevados, quando comparado com os Caso1) OAN e Caso2) OAU<sub>2x</sub>, e tendo em conta o seu estado de degradação visível. Previsivelmente seriam inferiores, dado que o IndI diminui com o estado de degradação. Contudo, da amostra OAU<sub>r</sub> (caso 3) não se lhe conhece a rastreabilidade. Desconhecendo-se o seu estado e perfil de composição inicial, antes de qualquer utilização e o número de reutilizações em fritura.

**Quadro 16:** resultados de validação do parâmetro IndI para as amostras OAN, OAU<sub>2x</sub> e OAU<sub>r</sub>

Amostra	Padrão	Dimensão nominal da amostra (g)	Média (% m/v)	Desvio Padrão (% m/v)	Limite de repetibilidade r (r=2,8.s) (% m/v)	Coefficiente variação de repetibilidade CVr (%)
Caso 1) OAN	0,1 N	1,5±0,001	38,12	0,40	1,11	2,91
Caso 2) OAU <sub>2x</sub>	0,1 N	1,5±0,001	35,22	0,38	1,05	2,98
Caso 3) OAU <sub>r</sub>	0,1 N	1,5±0,001	39,16	0,32	0,90	2,31
Critérios de aceitação CVr (%) ≤ 5 % ou entre 5 – 10%						



**Figura 23:** gráfico da variação do índice de iodo em condições de repetibilidade, em OAN – OAU<sub>2x</sub> – OAU<sub>r</sub>

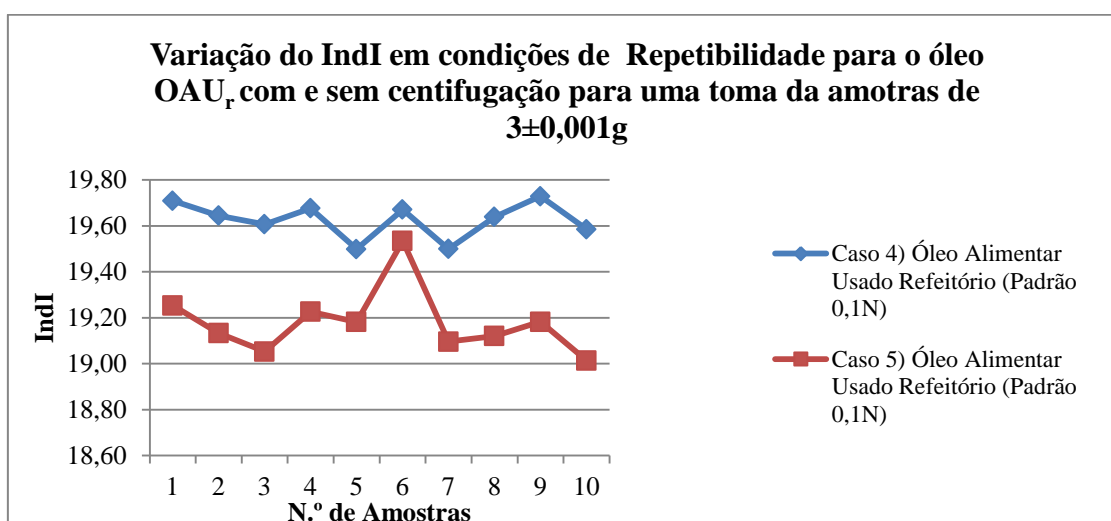
Na outra face da questão, o problema levantou uma nova questão metodológica. Segundo a Norma Portuguesa NP 941/1985 para índices de iodo reduzidos, a toma da amostra deve ser superior a  $1,5 \pm 0,001$  g. Foram assim introduzidas e testadas duas novas condições de ensaio, para o óleo OAU<sub>r</sub>: caso 4) amostra de maior dimensão ( $3 \pm 0,001$ g) e caso 5) amostra de maior dimensão ( $3 \pm 0,001$ g) com centrifugação prévia do óleo OAU<sub>r</sub>. Os cálculos auxiliares encontram-se no **Apêndice IV**.

Os resultados obtidos nos estudos de caso 4 e 5, representado no **Quadro 17** e **Figura 24** relativamente às amostras de óleo OAU<sub>r</sub> sem (caso 4) e com (caso 5) centrifugação, embora com magnitude comparável e boa repetibilidade, indiciam diferenças significativas, como se pode verificar através dos valores médios de IndI e respectivos desvios padrão. Os valores mais baixos obtêm-se com as amostras centrifugadas (Caso5), às quais se retiram os materiais suspensos incorporados na fritura. As partículas em suspensão são contaminantes e podem constituir uma causa plausível de erro (interferência de matriz) que convém eliminar/minimizar.

Nos próximos estudos de IndI com óleos OAU, com depósitos ou turvação visível, este parâmetro deverá ser sempre replicado, em análises com e sem centrifugação, para avaliar a real necessidade desta operação de centrifugação.

**Quadro 17:** resultado de validação do parâmetro IndI para as amostras de óleo OAU<sub>r</sub> sem (caso 4) e com (caso5) centrifugação

Amostra	Padrão	Dimensão nominal da amostra (g)	Média (% m/v)	Desvio Padrão (% m/v)	Limite de repetibilidade r (r=2,8.s) (% m/v)	Coefficiente variação de repetibilidade CV <sub>r</sub> (%)
Caso 4) OAU <sub>r</sub>	0,1 N	3±0,001	19,63	0,08	0,22	1,13
Caso 5) OAU <sub>r</sub>	0,1 N	3±0,001	19,18	0,15	0,41	2,12
Critérios de aceitação CV <sub>r</sub> (%) ≤ 5 % ou entre 5 – 10%						



**Figura 24:** variação da repetibilidade do IndI, em OAU<sub>r</sub> com a dimensão da amostra com e sem centrifugação

### 1.5. Cor CIE e CIELAB

A cor do óleo depende da qualidade de refinação que este sofreu e dos alimentos que se fritam. Os óleos muito insaturados quando aquecidos ocorrem isomerização das duplas ligações, o que leva à absorção de quantidades maiores de luz azul, provocando um aumento de cores laranjas e castanhas no óleo. Consequentemente, a cor do óleo irá depender do teor inicial de duplas ligações e dos alimentos que se fritam. Em óleos alimentares usados ocorre ainda a absorção ou passagem dos pigmentos escuros dos alimentos para o óleo e também o escurecimento do alimento devido às reacções de *Maillard* (ARCE *et al*, 2002).

### 1.5.1. Cor CIE

Foram feitas leituras absolutas de absorvência aos óleos sem e com centrifugação, para determinação da cor aparente e da cor verdadeira, respectivamente, após calibração do espectrofotômetro. Para a cor verdadeira, foram realizados dois estudos. Uma primeira série de ensaios para as três amostras de óleos (OAN, OAU<sub>2x</sub> e OAU<sub>r</sub>) utilizando uma centrifugação a 3000 r.p.m durante 30 minutos e na segunda série de ensaios sobreveio a decantação e nova centrifugação à mesma velocidade durante 10 minutos. Na segunda série de ensaios foi realizada a fim de otimizar as condições de repetibilidade, que inicialmente não cumpriam os critérios de aceitação.

Para o cálculo da repetibilidade foram estabelecidos os parâmetros média ( $X_m$ ) e desvio padrão ( $\sigma$ ), limite de repetibilidade,  $r$ , e o coeficiente de variação da repetibilidade (CVR%), para cada estudo de caso.

Nos **Quadros 18, 19 e 20** estão representados os resultados da validação (repetibilidade) do parâmetro cor CIE para o estudo da cor aparente, ou seja, sem centrifugação com base nas leituras realizadas apresentadas no **Apêndice V**.

**Quadro 18:** Coeficiente de variação repetibilidade para OAN, parâmetro da cor CIE

CASO 1) Óleo Alimentar Novo (OAN)					
	445 nm	495 nm	560 nm	595 nm	625 nm
Média (% m/v)	0,090	0,060	0,047	0,042	0,042
Desvio Padrão, s (% m/v)	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)	0,002	0,003	0,003	0,002	0,003
Coeficiente variação repetibilidade, CVr(%)	2,635	5,441	5,688	5,482	6,370

**Quadro 19:** Coeficiente de variação repetibilidade para OAU<sub>2x</sub>, parâmetro da cor CIE

CASO 1) Óleo Usado 2 vezes (OAU <sub>2x</sub> )					
	445 nm	495 nm	560 nm	595 nm	625 nm
Média (% m/v)	0,069	0,036	0,024	0,024	0,024
Desvio Padrão, s (% m/v)	0,012	0,013	0,012	0,012	0,012
Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)	0,033	0,035	0,033	0,033	0,032
Coeficiente variação repetibilidade, CVr(%)	48,493	98,711	136,721	138,610	134,378

**Quadro 20:** Coeficiente de variação repetibilidade para  $OAU_r$ , parâmetro da cor CIE

<b>CASO 1) Óleo Alimentar Usado do Refeitório (<math>OAU_r</math>)</b>					
	<b>445 nm</b>	<b>495 nm</b>	<b>560 nm</b>	<b>595 nm</b>	<b>625 nm</b>
<b>Média (% m/v)</b>	0,566	0,217	0,059	0,032	0,021
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>	0,005	0,006	0,005	0,004	0,003
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>	0,013	0,017	0,014	0,011	0,009
<b>Coeficiente variação repetibilidade, CVr(%)</b>	<b>2,356</b>	<b>7,661</b>	<b>23,464</b>	<b>34,429</b>	<b>45,398</b>

Para o OAN o coeficiente de variação repetibilidade CVr (%) é admissível. Os valores representados no **Quadro 19 e 20** apresentam valores de CVr (%) > 5 (RECLACRE, 2000), no entanto são aceitáveis, caso o critério de aceitação seja CVr (%) <10. Trata-se de amostras que não sofreram centrifugação ou decantação, por conseguinte com menor limpidez, para as quais é espectável uma maior dispersão de resultados, em condições de repetibilidade.

A significativa dispersão de resultados observada nos óleos usados  $OAU_{2x}$  e  $OAU_r$  deve-se ao facto das amostras *tal e qual* (sem centrifugação), apresentarem partículas em suspensão que interferem nas medições de absorvência.

Nos quadros seguintes é comparado o estudo dos casos 2 e 3. Nestes dois casos as amostras de óleos foram centrifugadas para o estudo da cor verdadeira. No caso 2) houve uma centrifugação de 30 minutos a 3000 r.p.m e no caso 3) foi acrescida uma decantação seguida de uma nova centrifugação por 10 minutos. Os resultados das leituras são apresentados no **Apêndice V**.

**Quadro 21:** Quadro comparativo do caso 2 e 3 para a amostra de OAN

<b>CASO 2) Óleo Alimentar Novo (OAN)</b>					
	<b>445 nm</b>	<b>495 nm</b>	<b>560 nm</b>	<b>595 nm</b>	<b>625 nm</b>
<b>Média (% m/v)</b>	0,069	0,037	0,027	0,023	0,023
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>	0,002	0,002	0,003	0,003	0,003
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>	0,006	0,004	0,007	0,009	0,008
<b>Coefficiente variação repetibilidade, CVr(%)</b>	<b>8,386</b>	<b>11,661</b>	<b>27,773</b>	<b>41,709</b>	<b>35,140</b>
<b>CASO 3) Óleo Alimentar Novo (OAN)</b>					
	<b>445 nm</b>	<b>495 nm</b>	<b>560 nm</b>	<b>595 nm</b>	<b>625 nm</b>
<b>Média (% m/v)</b>	0,078	0,038	0,022	0,019	0,019
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>	0,000	0,001	0,001	0,001	0,001
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>	0,001	0,002	0,001	0,001	0,002
<b>Coefficiente variação repetibilidade, CVr(%)</b>	<b>1,727</b>	<b>5,423</b>	<b>6,455</b>	<b>7,453</b>	<b>10,092</b>

**Quadro 22:** Quadro comparativo do caso 2 e 3 para a amostra de OAU<sub>2x</sub>

<b>CASO 2) Óleo Usado 2 vezes (OAU<sub>2x</sub>)</b>					
	<b>445 nm</b>	<b>495 nm</b>	<b>560 nm</b>	<b>595 nm</b>	<b>625 nm</b>
<b>Média (% m/v)</b>	0,098	0,064	0,048	0,043	0,037
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>	0,004	0,004	0,004	0,005	0,003
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>	0,011	0,010	0,012	0,015	0,010
<b>Coefficiente variação repetibilidade, CVr(%)</b>	<b>11,728</b>	<b>15,501</b>	<b>24,917</b>	<b>34,301</b>	<b>25,530</b>
<b>CASO 3) Óleo Usado 2 vezes (OAU<sub>2x</sub>)</b>					
	<b>445 nm</b>	<b>495 nm</b>	<b>560 nm</b>	<b>595 nm</b>	<b>625 nm</b>
<b>Média (% m/v)</b>	0,123	0,086	0,072	0,069	0,067
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>	0,003	0,002	0,001	0,002	0,002
<b>Coefficiente variação repetibilidade, CVr(%)</b>	<b>2,803</b>	<b>2,658</b>	<b>2,211</b>	<b>2,990</b>	<b>2,833</b>

**Quadro 23:** Quadro comparativo do caso 2 e 3 para a amostra de OAU<sub>r</sub>

<b>CASO 2) Óleo Alimentar Usado do Refeitório (OAU<sub>r</sub>)</b>					
	<b>445 nm</b>	<b>495 nm</b>	<b>560 nm</b>	<b>595 nm</b>	<b>625 nm</b>
<b>Média (% m/v)</b>	0,639	0,291	0,131	0,102	0,087
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>	0,023	0,022	0,022	0,022	0,022
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>	0,064	0,063	0,062	0,062	0,061
<b>Coefficiente variação repetibilidade, CV<sub>r</sub>(%)</b>	<b>10,078</b>	<b>21,644</b>	<b>47,319</b>	<b>60,380</b>	<b>69,883</b>
<b>CASO 3) Óleo Alimentar Usado do Refeitório (OAU<sub>r</sub>)</b>					
	<b>445 nm</b>	<b>495 nm</b>	<b>560 nm</b>	<b>595 nm</b>	<b>625 nm</b>
<b>Média (% m/v)</b>	0,599	0,257	0,103	0,075	0,060
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>	0,003	0,002	0,002	0,002	0,002
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>	0,008	0,004	0,005	0,005	0,005
<b>Coefficiente variação repetibilidade, CV<sub>r</sub>(%)</b>	<b>1,354</b>	<b>1,737</b>	<b>4,789</b>	<b>6,218</b>	<b>8,345</b>

Ao comparar o coeficiente de variação repetibilidade nos casos 2) e 3) nas três amostras de óleos é possível observar uma menor dispersão de valores no caso 3), em todos os óleo, sendo que apenas neste caso se cumpre o critério de aceitabilidade de  $CVr(\%) < 10$ .

Para a determinação dos parâmetros de cor CIE, foi necessário efectuar a calibração do espectrofotómetro molecular de UV-Visível (marca HITACHI, modelo U – 2001). Como já foi descrito anteriormente, este processo passa por várias etapas: teste ao líquido de referência (tetracloreto de carbono); aferição do espectrofotómetro e correlação do percurso óptico das células. Os valores experimentais são apresentados no **Apêndice V**, assim como todos os cálculos desta análise.

### **1.5.2. Cor CIE Lab**

Para a cor CIELab, as leituras foram feitas por método direto, utilizando um colorímetro de reflectância *KONICA MINOLTA* modelo CR-400, controlado pelo programa *SpectraMagic NX*.

Realizaram-se as leituras apenas em amostras centrifugadas (segundo o processo descrito em 1.5.1., caso 3).

Nos **Quadros 24, 25 e 26** são apresentados os resultados obtidos para os parâmetros da cor:  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  e  $H^\circ$  das três amostras de óleos ( $OAN$ ,  $OAU_{2x}$ ,  $OAU_r$ ) relativamente à aplicação de tratamento da amostra por centrifugação, que permite determinar parâmetros da cor verdadeira. No **Apêndice V** são apresentados os cálculos auxiliares para o cálculo de  $C^*$  e  $H^\circ$ .

Verifica-se que quanto mais degradado é o óleo, menor é o valor de  $L^*$ , sendo mais escuro, uma vez que este parâmetro mede a variação da luminosidade entre o preto (0) e o branco (100).

Os valores de croma ou quantidade de cor ( $C^*$ ) quanto mais fortes e brilhantes são, mais afastados se encontram da origem das coordenadas, no diagrama de cor CIELab. Para  $OAN$  e  $OAU_{2x}$  os valores apresentados são semelhantes mas para  $OAU_r$  o croma é muito superior ao padrão, o que significa que a sua cor é mais forte e definida, que a dos óleos com menos uso. A coordenada cromática  $a^*$ , negativa (verde) e a coordenada cromática  $b^*$ , positiva (amarelo), posicionam as amostras no segundo quadrante, no diagrama de cor

CIELab, a que correspondem tonalidades amarelo-esverdeadas. A tonalidade ( $H^0$ ) do óleo usado OAU<sub>r</sub> é a mais amarela, como se conclui a partir dos resultados.

Quanto à repetibilidade dos ensaios, apesar dos CVr (%) excederem o critério *standard* (5%) para métodos instrumentais de análise (RELACRE, 2000), é referido que para alguns procedimentos, os critérios de aceitabilidade para o coeficiente de variação da repetibilidade vão até aos 15-20% (SGS, comunicação oral). Considerando os resultados obtidos em todos os parâmetros de cor e para todos os óleos analisados, para esta técnica admitiu-se, assim, como critério de aceitação da repetibilidade Cvr (%) < 10-15 (exceptuam-se os parâmetros b\* e c\*, para o óleo OAN, com o qual se obteve maior dispersão nos resultados).

**Quadro 24:** Leituras e resultados do parâmetro da Cor CIELab para os OAN com centrifugação

Óleo Alimentar Novo com centrifugação							
Amostra	Data Name	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	C*	H°	COR
<b>Padrão</b>	-----	95,12	-2,46	3,07	3,93	128,71	
<b>1</b>	<b>OAN c/c</b>	94,99	-2,91	4,32	5,21	123,96	-
<b>2</b>	<b>OAN c/c</b>	94,96	-3,12	5,00	5,89	121,96	-
<b>3</b>	<b>OAN c/c</b>	95,18	-3,12	5,02	5,91	121,86	-
<b>4</b>	<b>OAN c/c</b>	95,02	-3,12	5,11	5,99	121,41	-
<b>5</b>	<b>OAN c/c</b>	94,94	-2,52	2,73	3,72	132,71	-
<b>6</b>	<b>OAN c/c</b>	94,35	-2,49	2,74	3,70	132,26	-
<b>7</b>	<b>OAN c/c</b>	94,52	-3,12	4,81	5,73	122,97	-
<b>8</b>	<b>OAN c/c</b>	95,12	-2,47	2,67	3,64	132,77	-
<b>9</b>	<b>OAN c/c</b>	95,09	-2,49	2,87	3,80	130,94	-
<b>10</b>	<b>OAN c/c</b>	95,13	-2,47	2,81	3,74	131,32	-
<b>Média (% m/v)</b>		94,93	-2,783	3,808	4,73	127,22	
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>		0,2752	0,31749	1,12174	1,0897	5,1189	
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>		0,7704	0,88898	3,14088	3,0511	14,3330	
<b>Coefficiente variação repetibilidade, CVr(%)</b>		<b>0,29</b>	<b>11,41</b>	<b>29,46</b>	<b>23,04</b>	<b>4,023</b>	

**Quadro 25:** Leituras e resultados do parâmetro da Cor CIELab para os OAU<sub>2x</sub> com centrifugação

Óleo Alimentar Usado 2x com centrifugação							
	Data Name	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	C*	H°	COR
<b>Target</b>	<b>Padrão1</b>	96,14	-2,42	2,03	3,16	140,01	
<b>1</b>	<b>OAU<sub>2x</sub> c/c</b>	96,08	-2,98	3,25	4,41	132,52	-
<b>2</b>	<b>OAU<sub>2x</sub> c/c</b>	96,14	-3,24	3,92	5,09	129,57	-
<b>3</b>	<b>OAU<sub>2x</sub> c/c</b>	94,45	-3,12	3,95	5,03	128,30	-
<b>4</b>	<b>OAU<sub>2x</sub> c/c</b>	94,76	-2,85	3,34	4,39	130,47	-
<b>5</b>	<b>OAU<sub>2x</sub> c/c</b>	94,06	-2,64	2,86	3,89	132,71	-
<b>6</b>	<b>OAU<sub>2x</sub> c/c</b>	94,51	-2,87	3,35	4,41	130,59	-
<b>7</b>	<b>OAU<sub>2x</sub> c/c</b>	94,51	-2,88	3,4	4,46	130,27	-
<b>8</b>	<b>OAU<sub>2x</sub> c/c</b>	94,87	-2,89	3,37	4,44	130,62	-
<b>9</b>	<b>OAU<sub>2x</sub> c/c</b>	94,09	-2,69	2,88	3,94	133,05	-
<b>10</b>	<b>OAU<sub>2x</sub> c/c</b>	94,55	-2,92	3,30	4,41	131,50	-
<b>Média (% m/v)</b>		94,802	-2,908	3,362	4,45	130,96	
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>		0,7337	0,17819	0,359	0,3835	1,4939	
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>		2,0545	0,49893	1,00521	1,0738	4,1828	
<b>Coefficiente variação repetibilidade, CV<sub>r</sub>(%)</b>		<b>0,77</b>	<b>6,12</b>	<b>10,68</b>	<b>8,62</b>	<b>1,14</b>	

**Quadro 26:** Leituras e resultados do parâmetro da Cor CIELab para os OAU<sub>r</sub> com centrifugação

<b>Óleo Alimentar Usado do refeitório com centrifugação</b>							
	<b>Data Name</b>	<b>L*(D65)</b>	<b>a*(D65)</b>	<b>b*(D65)</b>	<b>C*</b>	<b>H°</b>	<b>COR</b>
<b>Target</b>	<b>Padrão</b>	95,37	-2,31	2,25	3,22	135,75	
<b>1</b>	OAU <sub>r</sub> c/c	87,76	-4,97	42,68	42,97	96,64	-
<b>2</b>	OAU <sub>r</sub> c/c	88,26	-4,66	47,58	47,81	95,59	-
<b>3</b>	OAU <sub>r</sub> c/c	87,02	-4,62	46,66	46,89	95,65	-
<b>4</b>	OAU <sub>r</sub> c/c	87,15	-4,66	46,23	46,46	95,76	-
<b>5</b>	OAU <sub>r</sub> c/c	87,57	-4,64	47,57	47,80	95,57	-
<b>6</b>	OAU <sub>r</sub> c/c	88,07	-4,63	47,41	47,64	95,58	-
<b>7</b>	OAU <sub>r</sub> c/c	84,64	-4,46	46,16	46,37	95,52	-
<b>8</b>	OAU <sub>r</sub> c/c	85,09	-4,43	46,94	47,15	95,39	-
<b>9</b>	OAU <sub>r</sub> c/c	86,68	-5,03	42,15	42,45	96,81	-
<b>10</b>	OAU <sub>r</sub> c/c	87,67	-4,98	44,93	45,21	96,32	-
<b>Média (% m/v)</b>		86,991	-4,708	45,831	46,07	95,88	
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>		1,2214	0,21296	1,97347	1,9439	0,5098	
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>		3,4199	0,59628	5,52572	5,4429	1,4273	
<b>Coefficiente variação repetibilidade, CVr(%)</b>		<b>1,40</b>	<b>4,52</b>	<b>4,31</b>	<b>4,23</b>	<b>0,53</b>	

## 1.6. Absorvências no UV

A espectroscopia de absorvências no UV é útil para se observar a presença de insaturações em compostos orgânicos.

### 1º Ensaio Prévio

O primeiro ensaio prévio foi realizado para avaliar a diluição necessária das amostras de óleo alimentar, para os seguintes comprimentos de onda: 232, 268, 269, 270, 271 e 272 nm. O critério de diluição/concentração foi definido pelo intervalo de valores de absorvência de 0,1 – 2,00, que minimiza o erro fotométrico.

#### Critérios de diluição/concentração das soluções

1. Com duas amostras aleatórias fez-se um teste prévio para avaliar a necessidade de diluir/concentrar as amostras, a fim de diminuir o erro instrumental (erro fotométrico). Os resultados apresentam-se no quadro seguinte:

**Quadro 27:** Resultados do 1º teste prévio do critério de diluição/concentração

Amostra		Comprimento de onda					
		$\lambda = 232$ (Abs)	$\lambda = 268$ (Abs)	$\lambda = 269$ (Abs)	$\lambda = 270$ (Abs)	$\lambda = 271$ (Abs)	$\lambda = 272$ (Abs)
OAN	1	3.813	1.287	1.293	1.267	1.219	1.150
	2	3.813	1.294	1.302	1.275	1.225	1.157
OAU <sub>2x</sub>	1	3.813	3.816	3.814	3.814	3.528	2.779
	2	3.813	3.817	3.816	3.816	3.817	3.310
OAU <sub>r</sub>	1	3.813	3.817	3.817	3.817	3.818	3.511
	2	3.813	3.817	3.816	3816	3.817	3.264

A realização do primeiro ensaio prévio demonstrou que a absorvência é superior a 2,00, ou seja, é necessário diluir as soluções-amostra. A 232 nm os valores são sempre superior a 2,00 para as três amostras de óleo, OAN, OAU<sub>2x</sub> e OAU<sub>r</sub>. A resposta em absorvência deixa de ser linear com a concentração e não imediato determinar a melhor diluição.

Para comprimentos de onda, 268 a 272nm os valores apresentados para as amostras OAU<sub>2x</sub> e OAU<sub>r</sub> estão fora de escala, este facto pode ter a ver com a humidade que os óleos incorporam durante a fritura.

Optou-se por fazer novo ensaio prévio com pré-secagem dos óleos e três diluições de gordura a partir da solução mãe antes de determinar as Absorvências UV.

## 2º Ensaio Prévio

### Processo de Pré-secagem

1. Homogeneização das amostras, recolha da toma com auxílio de uma pipeta;
2. Pipetar 50 ml de amostra;
3. Adicionar 3g de carbonato de cálcio anidro (agente excicante);
4. Agitar para dissolver;
5. Deixar repousar no excicador durante 24 horas (um dia e uma noite);
6. Filtra para um balão de Erlenmeyer com auxílio de um funil e papel de filtro whatman n.º 2.



**Figura 25:** Amostra dos três óleos, OAN – OAU<sub>2x</sub> – OAU<sub>r</sub> após o processo de secagem

### **Procedimento**

1. Pesar  $0,25 \pm 0,001$  g de óleo pré-seco e filtrado para um balão volumétrico de 25 ml;
2. Dissolver em solvente iso-octano;
3. Perfazer o volume ao traço com o mesmo solvente;
4. Agitar para homogeneizar amostra;
5. Preparar **três soluções** de gordura:
  - diluição 1/5 da solução mãe
  - diluição 1/10 da solução mãe
  - diluição 1/25 da solução mãe
6. Na célula testemunha, utiliza-se iso-octano como padrão;
7. Encher uma tina de quartzo com amostra;

8. Determina-se o comprimento de onda da gama de 232 a 272.

**Quadro 28:** Resultado do 2º teste prévio do critério de diluição/concentração

Amostra	Diluição	Comprimento de Onda					
		$\lambda = 232$ (Abs)	$\lambda = 268$ (Abs)	$\lambda = 269$ (Abs)	$\lambda = 270$ (Abs)	$\lambda = 271$ (Abs)	$\lambda = 272$ (Abs)
OAN	Solução Mãe	3.789	1.408	1.420	1.388	1.329	1.254
	1/5	3.785	0.287	0.287	0.281	0.271	0.257
	1/10	3.785	0.234	0.235	0.230	0.222	0.211
	1/25	1.295	0.100	0.100	0.098	0.094	0.091
OAU <sub>2x</sub>	Solução Mãe	3.785	3.792	3.792	3.792	3.793	3.793
	1/5	3.784	0.529	0.526	0.516	0.499	0.477
	1/10	3.785	0.269	0.268	0.262	0.254	0.242
	1/25	1.502	0.100	0.100	0.098	0.094	0.090
OAU <sub>r</sub>	Solução Mãe	3.785	3.792	3.792	3.793	3.793	3.793
	1/5	3.785	0.538	0.535	0.525	0.507	0.484
	1/10	1.478	0.277	0.276	0.271	0.261	0.250
	1/25	0.535	0.098	0.097	0.095	0.092	0.087

A realização do segundo ensaio prévio demonstrou a necessidade de diluir as soluções-amostra, sendo que a diluição de 1/25 da solução mãe é a única que apresenta valores aceitáveis para os três tipos de óleos nos comprimentos de onda desejados, ou seja, valores inferiores a 2,00.

#### Aferição do espectrofotômetro e correção do percurso ótico da célula

Com base no **Quadro 71** do **Apêndice VI** obteve-se, como resultado analítico, referente à calibração com solução de dicromato de potássio usando hidróxido de potássio 0,05N, como padrão:

$$A_{exp.} = 0,193 \pm 0,0004$$

Este resultado foi calculado com base em vinte leituras de absorvência consideradas concordantes. Na *Boa Prática Laboratorial*, o valor determinado deveria corresponder a uma leitura de absorvência de 0,200.

Como se verificou existir um desvio sistemático na leitura das absorvências (0,200 → 0,193) que - tal como se observou - se acentua quando se reduz o número de ensaios, optou-se por corrigir esse desvio, anulando o seu efeito, através da correção do percurso ótico da célula ( $l=0,967$  cm).

Assim, foi deduzida a expressão de cálculo para a correção do percurso ótico da célula com base na Lei de Lambert-Beer.

$$A = a \cdot l \cdot c$$

Sendo:

$a$  – a absorvidade molar

$l$  – o percurso ótico corrigido

$c$  – a concentração, em g/L

$l$  – percurso nominal da célula com 1 cm de espessura

$$\frac{0,200 = a \cdot l \cdot c}{A_{exp} = a \cdot l \cdot c} \rightarrow \frac{0,200 = l}{A_{exp} = l} \rightarrow l = \frac{A_{exp}}{0,200}$$

Logo,

$$l = \frac{0,193}{0,200}$$

$$l = 0,967 \text{ cm}$$

#### Correção do percurso ótico da célula

Para a correção do percurso ótico da célula para a calibração do espectrofotómetro fizeram-se leituras de tetracloreto de carbono contra água como testemunha (referência). Fez-se a linha de base e o AUTOZERO com água ultra pura (qualidade Milli-Q), as leituras foram feitas em triplicados independentes. O quadro seguinte apresenta os resultados:

**Quadro 29:** resultados do teste ao líquido de referência

Nº ensaio	Comprimento de Onda				
	445 nm	495 nm	560 nm	595 nm	625 nm
1	-0,004	-0,004	-0,003	-0,003	-0,005
2	-0,003	-0,003	-0,004	-0,003	-0,004
3	-0,004	-0,004	-0,004	-0,004	-0,005
<b>MÉDIA</b>	<b>-0,004</b>	<b>-0,004</b>	<b>-0,004</b>	<b>-0,003</b>	<b>-0,005</b>

O líquido de referência cumpre a especificação, absorvendo menos do que a água (absorvência negativa) em toda a gama espectral de trabalho.

### **Resultados da Validação do Método**

Neste método, o (maior) fator de diluição não revelou, em si, ser a variável crítica. O erro fotométrico (instrumental) nesta gama de absorvências também é uma variável crítica. Analisando os resultados quando articulados com o processo de preparação e leitura das amostras, a variável crítica da técnica analítica parece ser de natureza preparativa e identifica-se com o tipo de pipeta utilizada, **Quadro 30**. O uso de micropipeta é claramente favorável. Independentemente do comprimento de onda e da (diferença de) magnitude das absorvências, os CV<sub>r</sub> (%) dos ensaios de repetibilidade (n=10) das diluições 1/25 são muito semelhantes e traduzem um grau de incerteza que é cerca de metade do obtido para as diluições 1/5, preparadas com macropipetas, **Quadro 31 e 32**.

**Quadro 30:** leitura de absorvência para amostra de OAU<sub>r</sub> em diluição 1:5 e 1:25

Amostra			Comprimento de Onda (λ)			
			232	264	268	272
10AU <sub>r</sub>	2ml/10ml (1:5)	1	3,816	0,518	0,545	0,493
		2	2,900	0,397	0,419	0,379
		3	3,816	0,506	0,532	0,481
		4	3,186	0,467	0,491	0,444
		5	3,816	0,522	0,550	0,498
20AU <sub>r</sub>	2ml/10ml (1:5)	1	3,816	0,512	0,538	0,486
		2	3,816	0,500	0,526	0,475
		3	3,816	0,523	0,551	0,498
		4	3,816	0,526	0,554	0,500

		5	3,816	0,567	0,597	0,539
10AU <sub>r</sub>	400µL/10ml (1:25)	1	0,562	0,100	0,105	0,095
		2	0,541	0,095	0,100	0,091
		3	0,532	0,095	0,102	0,091
		4	0,545	0,097	0,102	0,092
		5	0,593	0,108	0,114	0,103
20AU <sub>r</sub>	400µL/10ml (1:25)	1	0,599	0,106	0,112	0,101
		2	0,591	0,105	0,110	0,099
		3	0,591	0,106	0,111	0,101
		4	0,581	0,103	0,108	0,097
		5	0,561	0,100	0,105	0,095

Como já foi referido para a cor CIELab, apesar dos CV<sub>r</sub> (%) excederem o critério *standard* (5%) (RELACRE, 2000), é aceitável para alguns procedimentos, um coeficiente de variação da repetibilidade até aos 15-20% (SGS, comunicação oral). Dada a sua complexidade, o presente procedimento pode constituir um desses casos. Admite-se, pois, que os valores obtidos com as diluições 1:25, correspondam, no presente estudo, à melhor prática laboratorial disponível.

**Quadro 31:** Variação da repetibilidade para a diluição 1:5

	Comprimento de Onda (nm)			
	λ = 232	λ = 264	λ = 268	λ = 272
Média (% m/v)	0,570	0,504	0,530	0,479
Desvio Padrão, s (% m/v)	0,025	0,045	0,047	0,042
Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)	0,069	0,126	0,132	0,119
Coefficiente variação repetibilidade, CV <sub>r</sub> (%)	12,07	25,02	24,93	24,82

**Quadro 32:** Variação da repetibilidade para a diluição 1:25

	Comprimento de Onda (nm)			
	λ = 232	λ = 264	λ = 268	λ = 272
Média (% m/v)	-----	0,102	0,107	0,097
Desvio Padrão, s (% m/v)	-----	0,005	0,005	0,004
Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)	-----	0,013	0,013	0,012
Coefficiente variação repetibilidade, CV <sub>r</sub> (%)	-----	13,21	12,56	12,78

Nos quadros seguintes são apresentados os cálculos da variação da repetibilidade com base nas leituras da absorvência nas três amostras de óleo (os valores experimentais e os cálculos respectivos encontram-se no **Apêndice VI**).

**Quadro 33:** Coeficiente de variação repetibilidade para OAN - Absorvência no UV

<b>Óleo Alimentar Novo (OAN)</b>				
	<b>232 nm</b>	<b>264 nm</b>	<b>268 nm</b>	<b>272 nm</b>
<b>Média (% m/v)</b>	0,863	0,043	0,047	0,042
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>	0,013	0,001	0,002	0,002
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>	0,036	0,004	0,005	0,005
<b>Coeficiente variação repetibilidade, CVr(%)</b>	<b>4,133</b>	<b>8,314</b>	<b>11,274</b>	<b>11,331</b>

**Quadro 34:** Coeficiente de variação repetibilidade para OAU<sub>2x</sub> - Absorvência no UV

<b>Óleo Alimentar Usado 2 vezes (OAU<sub>2x</sub>)</b>				
	<b>232 nm</b>	<b>264 nm</b>	<b>268 nm</b>	<b>272 nm</b>
<b>Média (% m/v)</b>	1,464	0,093	0,095	0,085
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>	0,020	0,002	0,002	0,002
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>	0,056	0,006	0,007	0,006
<b>Coeficiente variação repetibilidade, CVr(%)</b>	<b>3,836</b>	<b>6,612</b>	<b>7,142</b>	<b>7,515</b>

**Quadro 35:** Coeficiente de variação repetibilidade para OAU<sub>r</sub> - Absorvência no UV

<b>Óleo Alimentar Usado Refeitório (OAU<sub>r</sub>)</b>				
	<b>232 nm</b>	<b>264 nm</b>	<b>268 nm</b>	<b>272 nm</b>
<b>Média (% m/v)</b>	0,635	0,100	0,105	0,094
<b>Desvio Padrão, s (% m/v)</b>	0,010	0,002	0,002	0,002
<b>Limite da repetibilidade, r (r = 2,8.s) (% m/v)</b>	0,027	0,007	0,006	0,006
<b>Coeficiente variação repetibilidade, CVr(%)</b>	<b>4,299</b>	<b>6,730</b>	<b>6,182</b>	<b>6,038</b>

Para esta técnica admitiu-se, assim, como critério de aceitação da repetibilidade Cvr (%) < 10-15, atendendo à complexidade do método e calibração analítica.

## 2. ANÁLISE ESTATÍSTICA DE RESULTADOS

No tratamento de resultados pretende-se determinar valores médios e desvios padrão para cada um dos parâmetros estudados e além disso comparar as diferentes amostras de óleo em cada um dos parâmetros analisados. Em fase do exposto, utilizou-se o software Estatística versão 7.0 da statsoft para a obtenção de um tratamento de dados mais completo que permite conclusões mais objetivas e rigorosas.

Realizou-se o teste paramétrico de análise de variâncias de factores (ANOVA/MANOVA) - *Teste Post Hoc LSD Fisher* para as coordenadas da cor e o *Teste Post Hoc LSD Tukey* para os restantes parâmetros (com exceção dos parâmetros microbiológicos). O nível de significância considerada foi de 5%, ( $p < 0,05$ ), de modo a verificar-se a existência ou não, de diferenças significativas, entre amostras. Assim as diferentes letras representadas nas linhas dos **Quadros 36, 37, 38 e 39** indicam a existência de diferenças significativas para um  $p < 0,05$ . Os valores médios que possuam letras iguais indicam que não existiram diferenças significativas, e  $p > 0,05$ .

### 2.1. Métodos Clássicos, Volumétricos e $a_w$

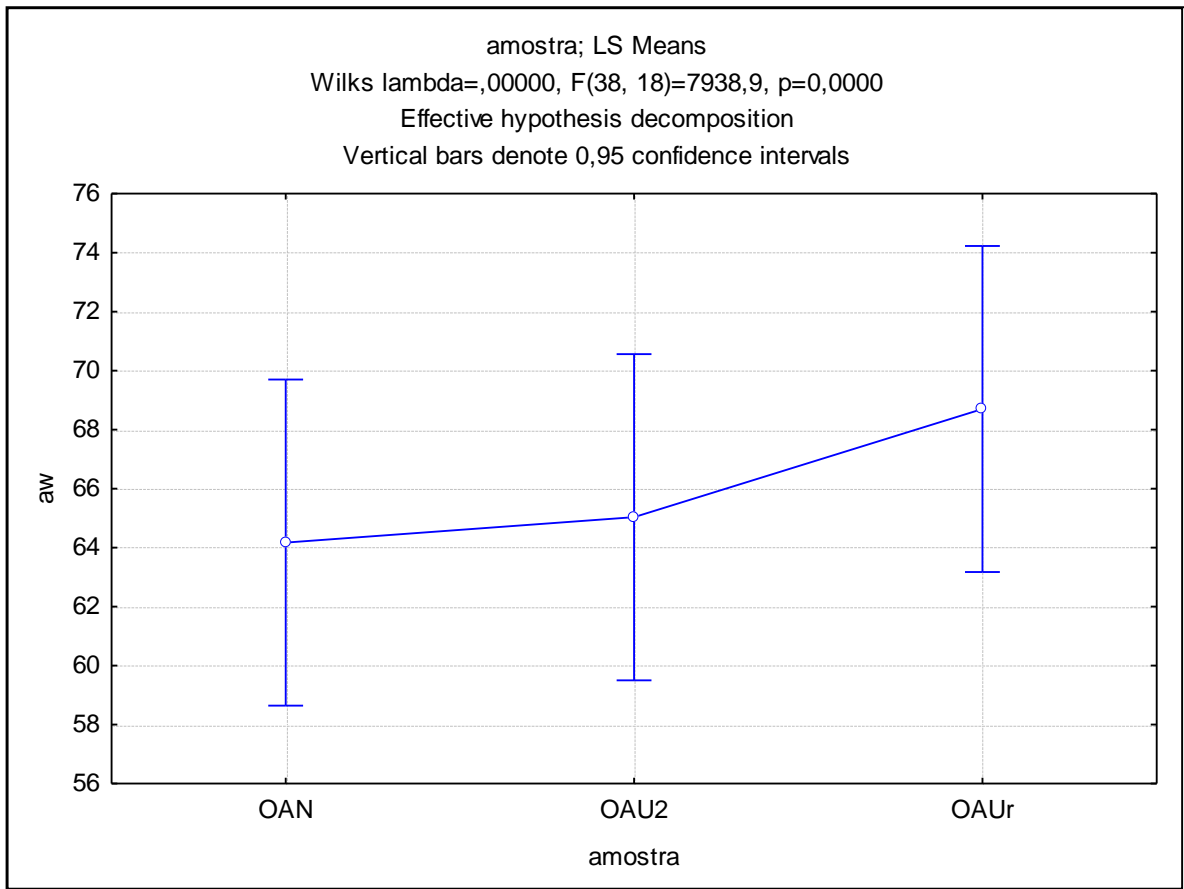
No **Quadro 36** são apresentados os valores médios dos parâmetros  $a_w$ , **IA**, **AT**, **IP**, **IInd** das três amostras de óleos (OAN, OAU<sub>2x</sub>, OAU<sub>r</sub>). Os resultados fornecidos pelo teste de comparação de médias indicaram que as amostras diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) entre si, **Apêndice VII**. A representação gráfica apresenta-se nas **Figura 27, 28, 29 e 30**.

Relativamente aos valores médios de  $a_w$  verificou-se que não houve diferenças significativas entre os valores médios das três amostras. Como foi salientado anteriormente a técnica é de execução simples mas morosa – à razão de duas medições de  $a_w$  por dia – não sendo, pois, possível fazer as 10 leituras no mesmo dia para cada amostra de óleo, como seria desejável - principalmente tendo em conta que o equipamento se encontra em laboratório não climatizado, o que torna o parâmetro pouco preciso nestas condições de ensaio (elevada dispersão, na replicação a dez leituras).

**Quadro 36:** Valores médios, desvio padrão e valores máximos e mínimos dos parâmetros  $a_w$ , IA, AT, IndI e IP

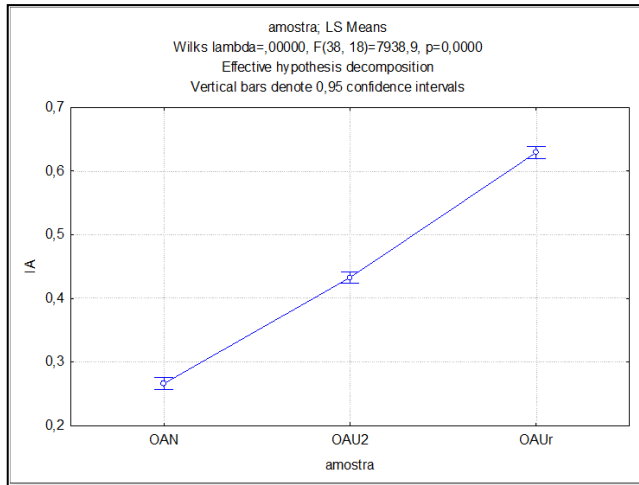
		$a_w$				IA				AT				IndI				IP			
		$\bar{x}$	$\pm \sigma$	Mín.	Max.	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	Mín.	Max.	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	Mín.	Max.	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	Mín.	Max.	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	Mín.	Max.
Amostras $n=10$	OAN	64,170 <sup>a</sup>	3,023	62,001	66,339	0,266 <sup>a</sup>	0,003	0,264	0,268	0,134 <sup>a</sup>	0,002	0,132	0,135	38,120 <sup>a</sup>	0,396	37,837	38,404	20,302 <sup>a</sup>	0,448	19,982	20,623
	OAU <sub>2x</sub>	65,030 <sup>a</sup>	11,396	56,877	73,183	0,433 <sup>b</sup>	0,010	0,426	0,440	0,217 <sup>b</sup>	0,005	0,214	0,221	35,224 <sup>b</sup>	0,375	34,955	35,492	37,547 <sup>b</sup>	0,368	37,284	37,811
	OAU <sub>r</sub>	68,700 <sup>a</sup>	8,869	62,355	75,045	0,630 <sup>c</sup>	0,023	0,613	0,646	0,317 <sup>c</sup>	0,012	0,308	0,325	19,180 <sup>c</sup>	0,145	19,076	19,283	3,668 <sup>c</sup>	0,083	3,609	3,728

Analisando o gráfico, verifica-se que os valores de  $a_w$  para as três amostras de óleo não diferem entre si.

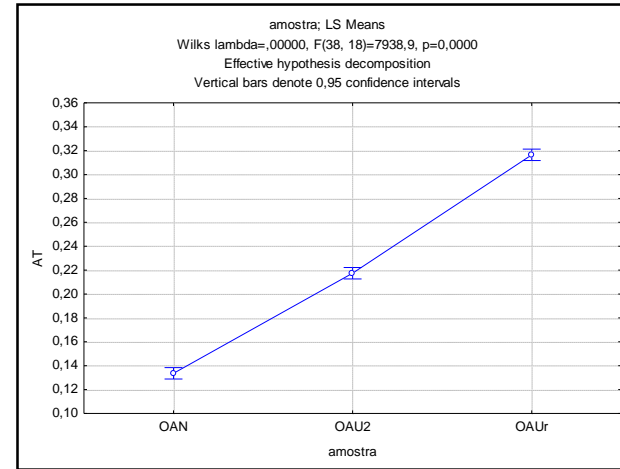


**Figura 26:** Representação gráfica do parâmetro  $a_w$  para as três amostras de óleo

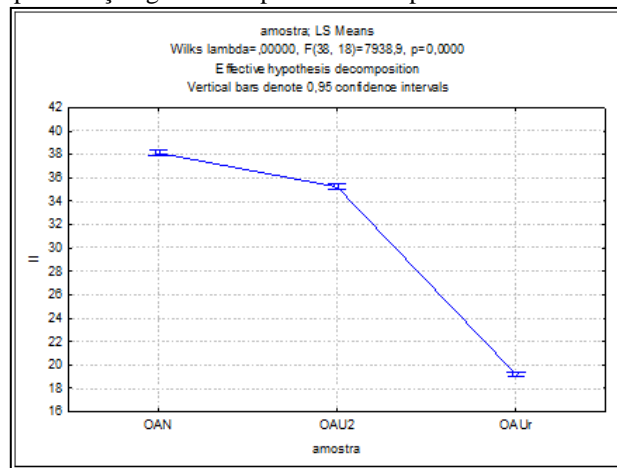
Quanto aos parâmetros **IA**, **AT**, **IndI** e **IP** relativamente aos valores médios verificou-se a existência de diferenças significativas para as três amostras de óleos. Na apresentação gráfica das **Figuras 27, 28 29 e 30**, verifica-se que existe divergência (ausência de sobreposição) em todos os parâmetros para todas as amostras. A evolução paramétrica é também a expectável, face ao grau de utilização em fritura: IA e AT aumentam com o grau de reutilização; IndI diminui e IP apresenta um máximo (compatível com uma evolução gaussiana, para um maior número de pontos).



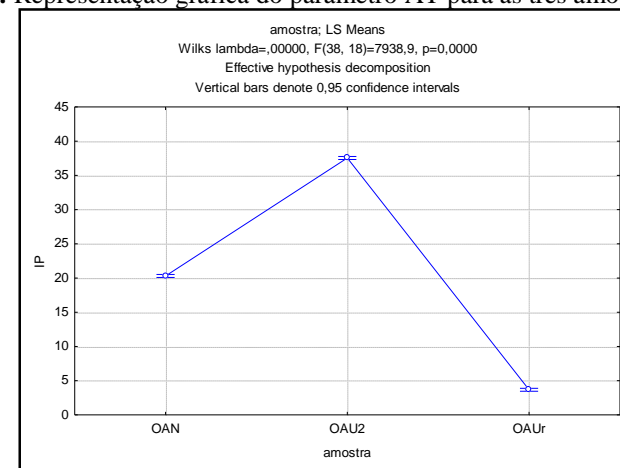
**Figura 27:** Representação gráfica do parâmetro IA para as três amostras de óleo



**Figura 28:** Representação gráfica do parâmetro AT para as três amostras de óleo



**Figura 29:** Representação gráfica do parâmetro IInd para as três amostras de óleo



**Figura 30:** Representação gráfica do parâmetro IP para as três amostras de óleo

### 3.2. Cor CIE e CIELab

No **Quadro 37**, são apresentados os resultados obtidos para o parâmetro da **cor CIE**: das três amostras de óleos (OAN, OAU<sub>2x</sub>, OAU<sub>r</sub>) foram analisados os resultados relativamente à aplicação ou não de tratamento por centrifugação, que permitem determinar dos parâmetros distintos: a cor real e cor aparente. Efectuou-se o teste *Post Hoc* LSD Fisher de comparação de médias, o qual permite apurar a existência ou não de diferenças significativas, entre tratamentos. A representação gráfica apresenta-se nas **Figuras 31, 32, 33 e 34**.

Para os OAN e OAU<sub>2x</sub>, nos valores médios do comprimento de onda ( $\lambda$ ) dominante verificou-se existirem diferenças significativas quer para cor aparente (*tal e qual*) quer para a cor verdadeira (com centrifugação). Relativamente aos OAU<sub>r</sub> com tratamento ou sem tratamento (*tal e qual* ou centrifugado) verificou-se o oposto, ou seja, não existiram diferenças significativas.

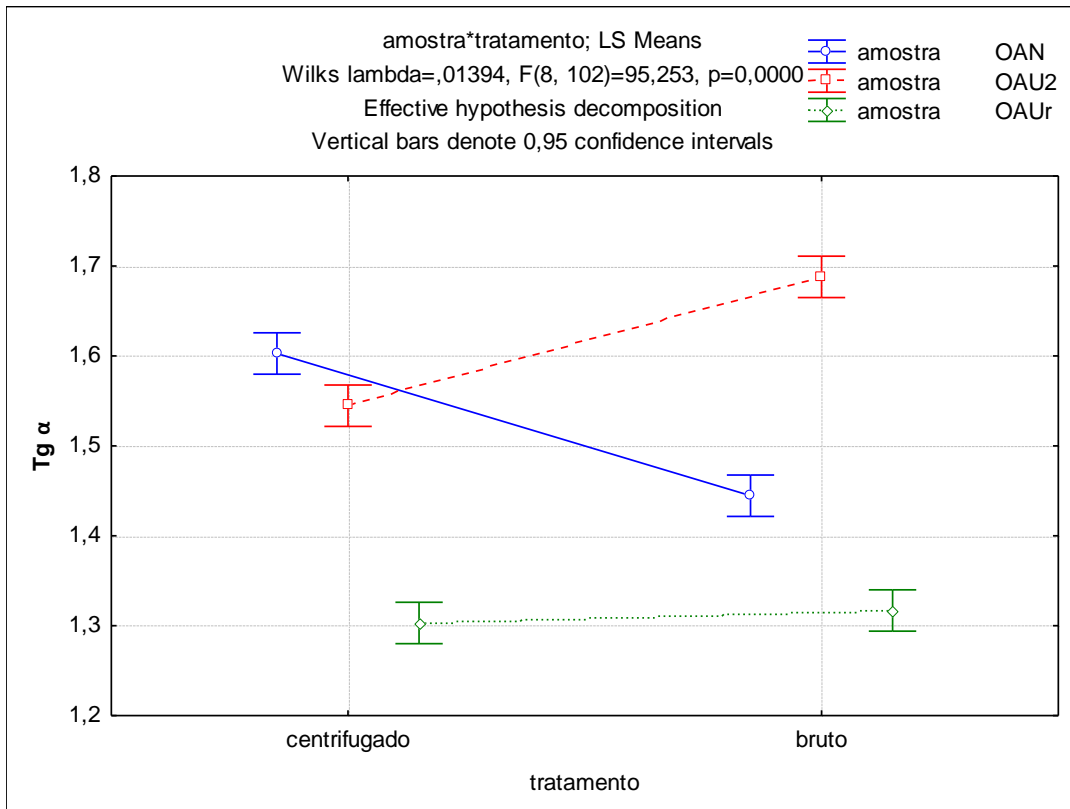
Para o parâmetro pureza ( $\sigma$ ) os valores médios apresentam diferenças significativas dentro de cada amostra, ou seja, quer nos OAN, OAU<sub>2x</sub> e OAU<sub>r</sub> existem diferenças significativas nos tratamentos (*tal e qual* ou centrifugado). Contudo, o estudo estatístico mostrou que não existem diferenças significativas para as amostras OAN *tal e qual* ( $\bar{x} = 4,615$ ) e OAU<sub>2x</sub> *tal e qual* ( $\bar{x} = 4,520$ ).

Verifica-se que os valores da pureza ( $\sigma$ ) aumentam bruscamente para os OAU<sub>r</sub>. Tendo em conta que este parâmetro ( $\sigma$ ) traduz a percentagem da luz com o comprimento de onda dominante, no feixe de luz transmitido pelo óleo, o aumento de  $\sigma$  significa que os óleos, não só escurecem, como a radiação espectral por eles refletida vai-se tornando mais pura, mais monocromática, com o estado de degradação (número elevado de utilizações) (adaptado de Garizo, 2010).

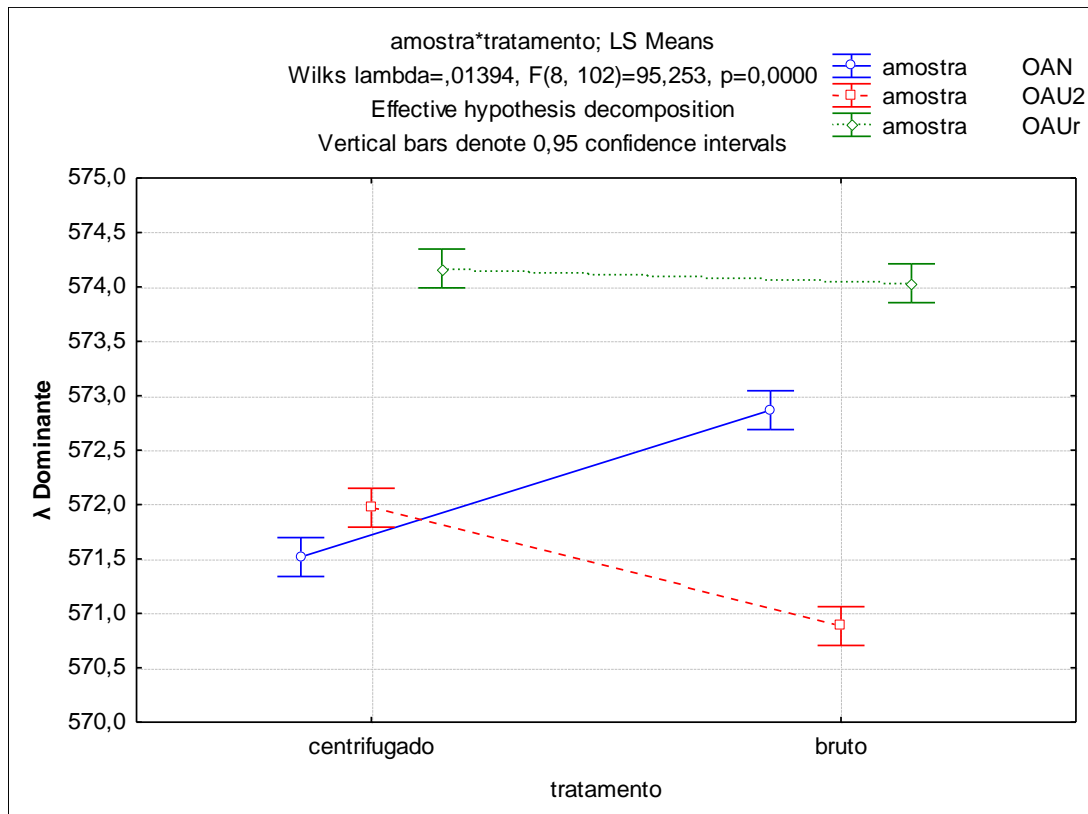
No parâmetro transparência (Y) existem diferenças significativas entre tratamentos, como seria expectável. A transparência é sempre maior nas amostras centrifugadas, quando comparada com a das respectivas amostras *tal e qual*. Tal observação explica-se pelo facto de nas amostras *tal e qual*, as partículas em suspensão dispersarem a luz, interferindo (diminuindo) a absorvência aparente da amostra. Observa-se também que a transparência é ainda significativamente menor no óleo usado OAU<sub>r</sub> (*tal e qual* e centrifugado), quando comparado com os óleos OAN e OAU<sub>2x</sub>.

**Quadro 37:** Valores médios, desvio padrão e valores máximo e mínimo do parâmetro Cor CIE

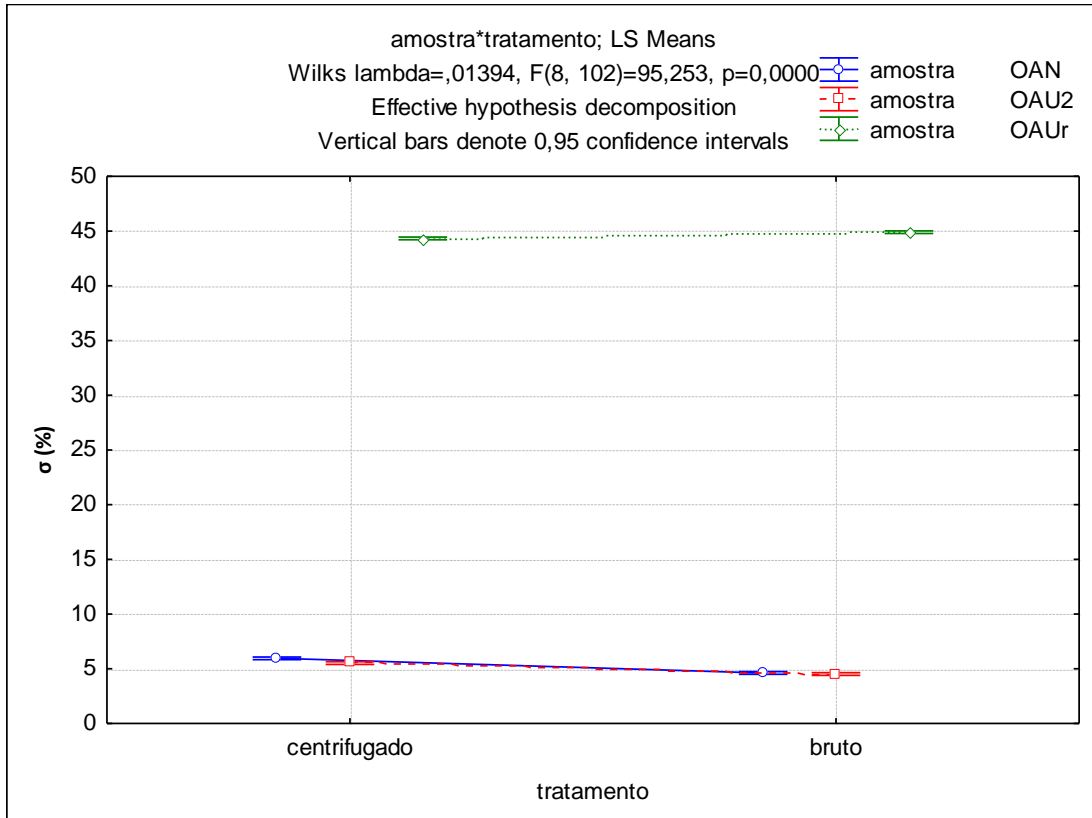
Level of Factor		$\lambda$ Dominante								Pureza				Transparência			
		Tga				$\lambda$ Dominante				$\sigma$ (%)				Y(%)			
<i>n</i> =10		$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.	$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.	$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.	$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.
OAN	centrifugado	1,603 <sup>d</sup>	0,022	1,587	1,618	571,518 <sup>c</sup>	0,167	571,399	571,637	5,957 <sup>c</sup>	0,035	5,932	5,983	94,377 <sup>b</sup>	0,094	94,309	94,444
	<i>Tal e qual</i>	1,445 <sup>b</sup>	0,036	1,419	1,471	572,867 <sup>e</sup>	0,331	572,631	573,104	4,615 <sup>a</sup>	0,060	4,572	4,658	89,972 <sup>d</sup>	0,176	89,846	90,098
OAU <sub>2x</sub>	centrifugado	1,545 <sup>c</sup>	0,019	1,531	1,558	571,971 <sup>d</sup>	0,150	571,864	572,078	5,524 <sup>b</sup>	0,095	5,456	5,591	84,347 <sup>a</sup>	0,110	84,269	84,426
	<i>Tal e qual</i>	1,688 <sup>e</sup>	0,075	1,635	1,741	570,884 <sup>b</sup>	0,547	570,492	571,275	4,520 <sup>a</sup>	0,375	4,251	4,788	94,443 <sup>b</sup>	2,413	92,717	96,169
OAU <sub>r</sub>	centrifugado	1,303 <sup>a</sup>	0,003	1,301	1,305	574,170 <sup>a</sup>	0,027	574,150	574,189	44,330 <sup>d</sup>	0,212	44,179	44,482	76,445 <sup>c</sup>	0,274	76,249	76,641
	<i>Tal e qual</i>	1,317 <sup>a</sup>	0,013	1,308	1,326	574,034 <sup>a</sup>	0,126	573,943	574,124	44,900 <sup>e</sup>	0,145	44,796	45,004	83,817 <sup>a</sup>	0,850	83,208	84,425



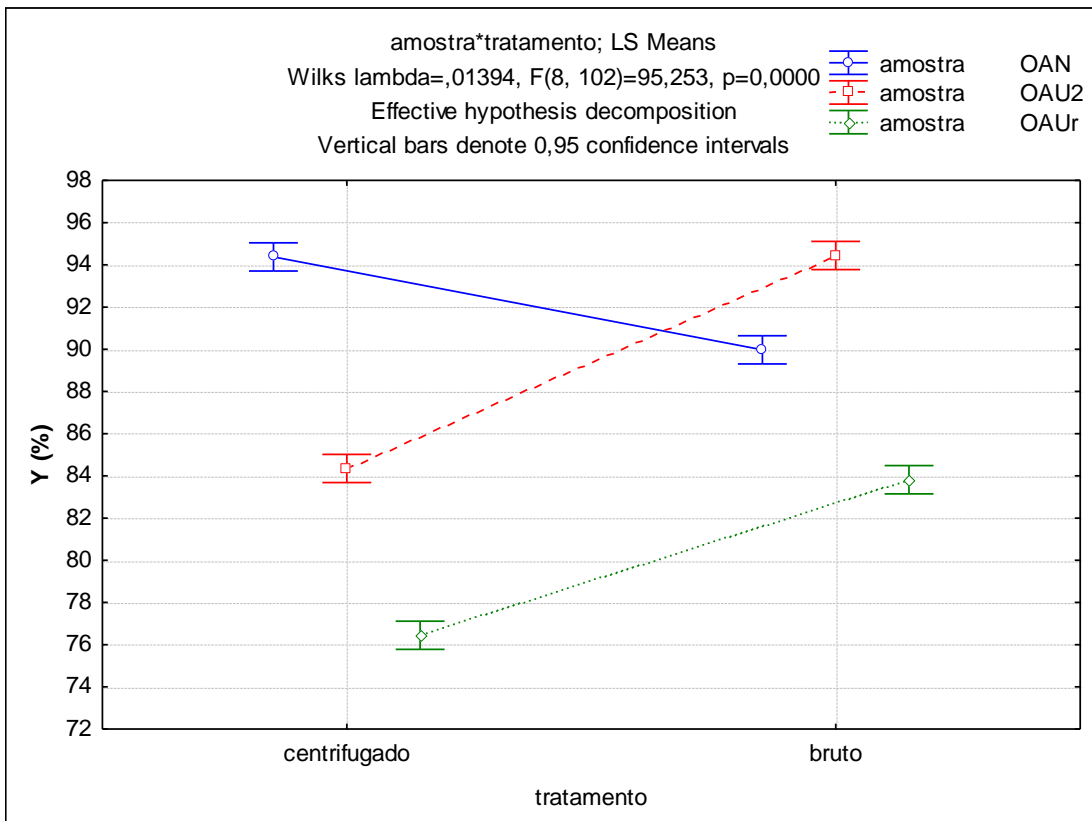
**Figura 31:** Representação gráfica do parâmetro  $Tg \alpha$  para as três amostras de óleo



**Figura 32:** Representação gráfica do parâmetro  $\lambda$  dominante para as três amostras de óleo



**Figura 33:** Representação gráfica do parâmetro  $\sigma$  para as três amostras de óleo



**Figura 34:** Representação gráfica do parâmetro  $Y$  para as três amostras de óleo

Neste estudo, o interesse em determinar parâmetros de cor aparente pelo método CIE, residiu no facto de, na prática industrial, as amostras não serem centrifugadas entre frituras, permitindo-se uma observação do estado real do óleo, particularmente no que diz respeito ao parâmetro transparência. Contudo, só um maior número de ensaios permitirá avaliar o real interesse em determinar os parâmetros da cor aparente de óleos usados, tendo em conta que na prática laboratorial, a cor é regra geral apenas determinada em amostras centrifugadas (cor verdadeira).

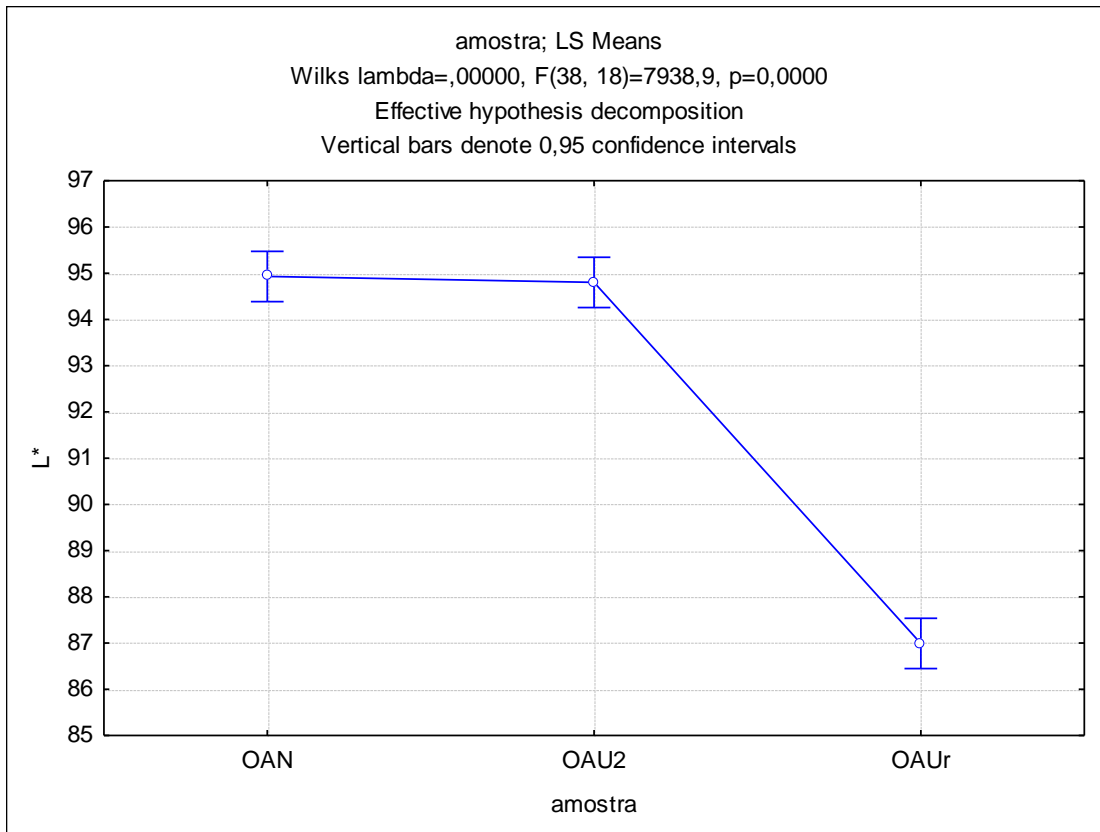
No **Quadro 38**, estão representados os valores médios, desvio padrão e valores máximo e mínimo para os parâmetros da Cor CILab. A representação gráfica apresenta-se nas **Figuras 35, 36 e 37**, para os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , respectivamente.

Em termos de luminosidade ( $L^*$ ), verifica-se que entre os OAN e OAU<sub>2x</sub> não existem diferenças significativas. Existem diferenças significativas entre os óleos menos degradados (OAN e OAU<sub>2x</sub>) e o OAU<sub>r</sub> este porque se apresenta mais escuro, devido ao facto de ocorrerem reacções químicas, como oxidação e polimerização, durante a fritura. Para a coordenada cromática  $a^*$  (verde), verifica-se também não existirem diferenças significativas para os óleos com menor degradação e existirem diferenças significativas entre os OAN/OAU<sub>2x</sub> relativamente ao OAU<sub>r</sub>.

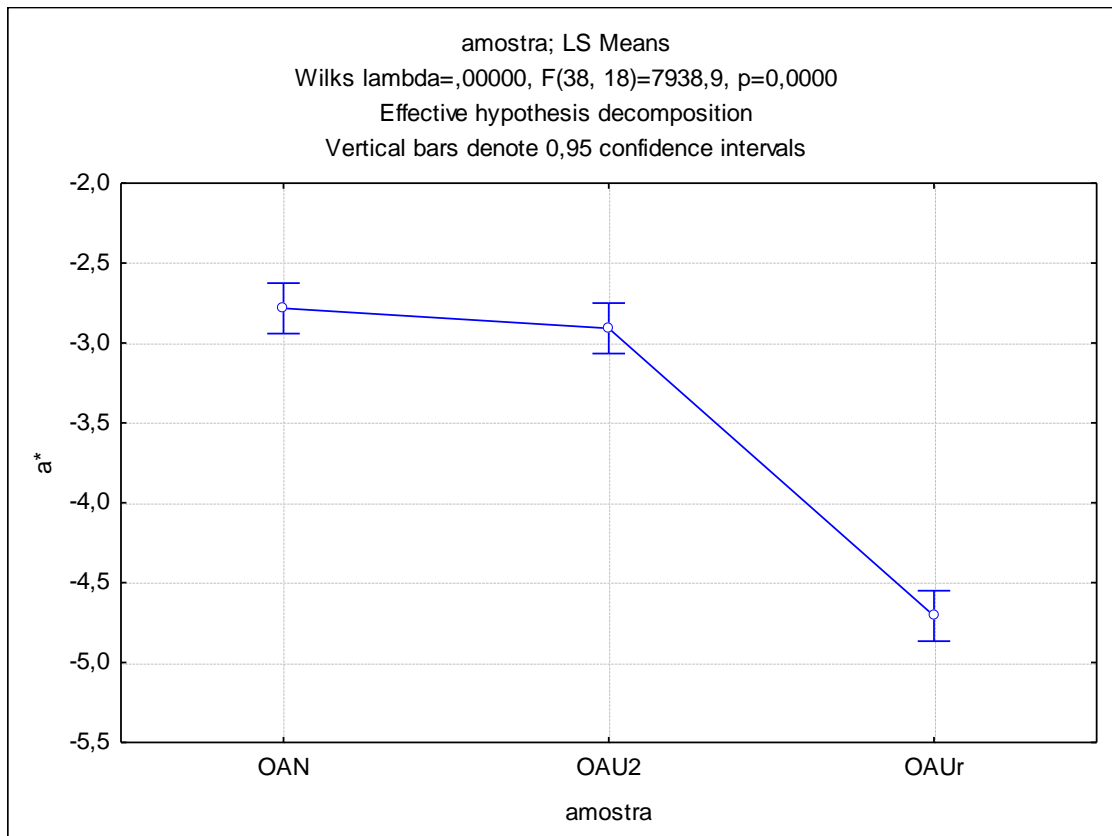
Para o parâmetro  $b^*$ , as amostras OAN e OAU<sub>2x</sub> não apresentam diferenças significativas entre si, mas OAU<sub>r</sub> apresenta diferenças significativas relativamente aos anteriores. Verifica-se um aumento do valor de  $b^*$  (amarelo) à medida que o óleo é mais degradado, por ocorrência de foto oxidação ou oxidação. A foto-oxidação é responsável pelo aumento da tonalidade amarelada nos óleos (Kiritsakis, 1992).

**Quadro 38:** Valores médios e desvio padrão do parâmetro Cor CIELab

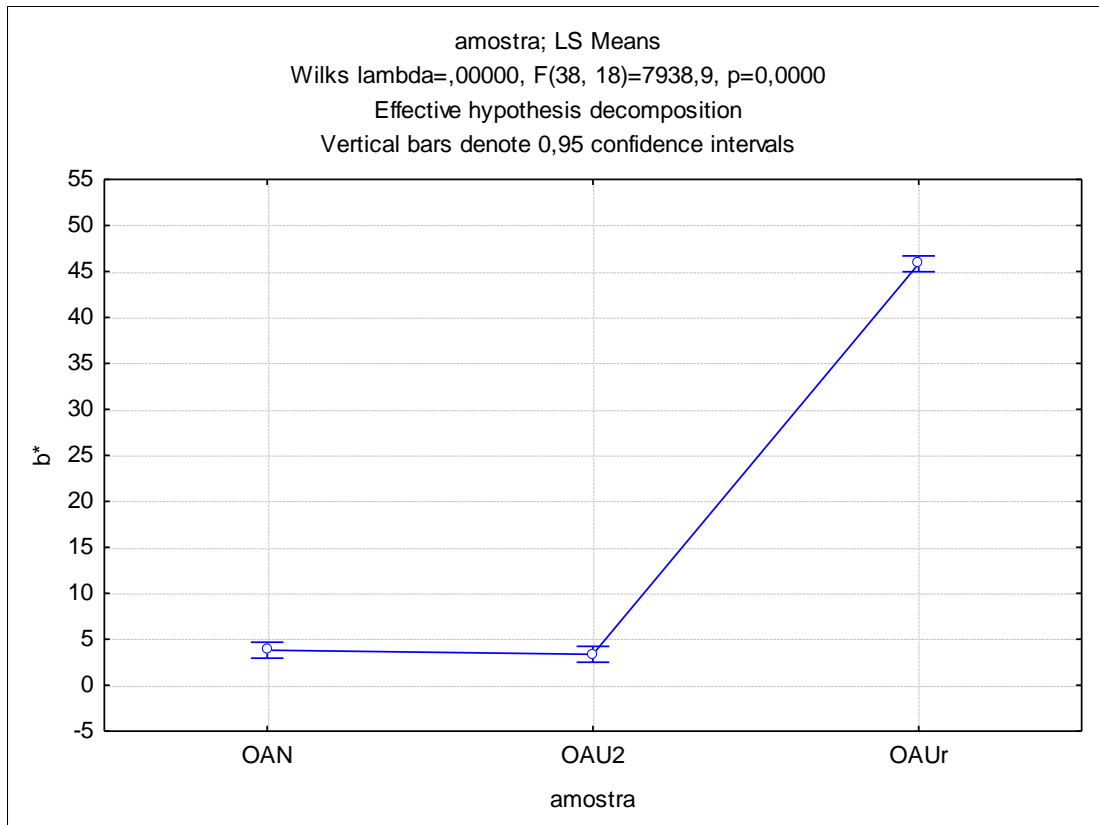
Level of Factor	L*				a*				b*			
	$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.	$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.	$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.
<b>n=10</b>	$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.	$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.	$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.
<b>OAN</b>	94,930 <sup>a</sup>	0,275	94,733	95,127	-2,783 <sup>a</sup>	0,317	-3,010	-2,556	3,808 <sup>a</sup>	1,122	3,006	4,610
<b>OAU<sub>2x</sub></b>	94,802 <sup>a</sup>	0,734	94,277	95,327	-2,908 <sup>a</sup>	0,178	-3,035	-2,781	3,362 <sup>a</sup>	0,359	3,105	3,619
<b>OAU<sub>r</sub></b>	86,991 <sup>b</sup>	1,221	86,117	87,865	-4,708 <sup>b</sup>	0,213	-4,860	-4,556	45,831 <sup>b</sup>	1,973	44,419	47,243



**Figura 35:** Representação gráfica do parâmetro L\* para as três amostras de óleo



**Figura 36:** Representação gráfica do parâmetro a\* para as três amostras de óleo



**Figura 37:** Representação gráfica do parâmetro  $b^*$  para as três amostras de óleo

### 3.3. Absorvência no UV

No **Quadro 39** estão representados os valores médios para  $K_{232}$  e  $K_{268}$ , bem como os respectivos desvios-padrão e valores máximos e mínimos.

- $K_{232}$  indicam a idade do óleo e o nível de oxidação durante o processo de produção e armazenamento. Mede a formação de produtos primários de oxidação (peróxidos).
- $K_{268}$  detecta o nível de adulteração do óleo, a mistura de óleos refinados e conteúdo de ceras. É um dos marcadores utilizados para acompanhar a oxidação secundária, de que resultam compostos carbonilo (aldeídos e cetonas)

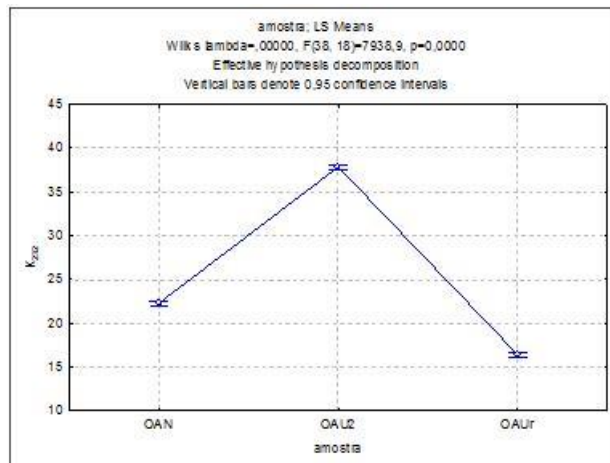
(Aparicio, 2003; Aued-Pimentel *et al.*, 1994)

Existem diferenças significativas para os valores médios apresentados para as leituras de  $K_{232}$  dos três óleos. O esperado é o aumento do valor de  $K_{232}$  e isto verifica-se entre os OAN e os OAU<sub>2x</sub>. Contudo o valor obtido para os OAU<sub>r</sub> é menor que os outros dois valores apresentados para as outras amostras de óleos, **Figura 38**. Este resultado pode ser indicação de formação de peróxidos. Facto este que corrobora com os resultados obtidos na análise de IP e que também estão relacionados com a fase descendente da curva de propagação de oxidação - capítulo V na validação de métodos de ensaio ponto 1.3.

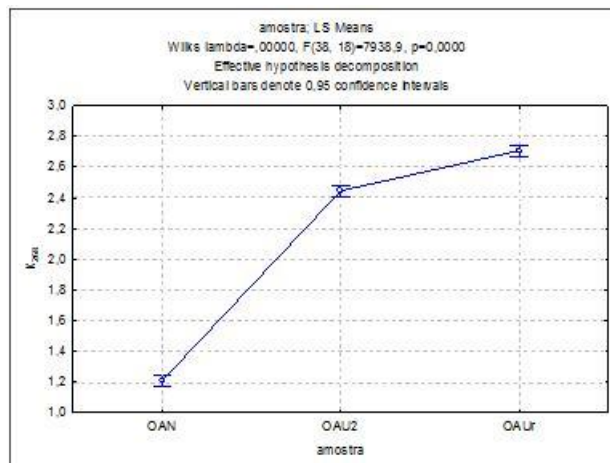
Existem diferenças significativas para os valores médios apresentados para as leituras de  $K_{268}$  dos três óleos. A variação do valor de  $K_{268}$  indica valores superiores à medida que o grau de degradação óleo aumenta (**Figura 39**), dando informação de perda de qualidade ao longo do tempo com formação de compostos secundários de oxidação (como cetonas e aldeídos).

**Quadro 39:** Valores médios e desvio padrão do parâmetro Absorvência no UV para  $K_{232}$  e  $K_{268}$

Level of Factor	$K_{232}$				$K_{268}$			
	$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.	$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.
$n=10$								
OAN	22,298 <sup>b</sup>	0,329	22,063	22,534	1,211 <sup>a</sup>	0,049	1,176	1,246
OAU <sub>2x</sub>	37,857 <sup>c</sup>	0,519	37,486	38,228	2,446 <sup>b</sup>	0,062	2,401	2,490
OAU <sub>r</sub>	16,427 <sup>a</sup>	0,252	16,247	16,608	2,707 <sup>c</sup>	0,060	2,664	2,750



**Figura 38:** Representação gráfica do parâmetro absorvência no UV para K<sub>232</sub>



**Figura 39:** Representação gráfica do parâmetro absorvência no UV para K<sub>268</sub>

Existem diferenças significativas para os valores médios para  $\Delta_{268}$  (**Quadro 40**). Para ambos os parâmetros em estudo ( $K_{268}$ , e  $\Delta_{268}$ ), verifica-se que os óleos seguem sempre a mesma tendência: o aumento dos seus valores à medida que o óleo é mais degradado.

**Quadro 40:** Valores médios e desvio padrão do parâmetro Absorvência no UV para  $\Delta_{268}$


Level of Factor	$\Delta_{268}$			
	$\bar{x}$	$\pm\sigma$	Mín.	Max.
$n=10$				
OAN	1,094 <sup>a</sup>	0,037	1,067	1,120
OAU <sub>2x</sub>	2,298 <sup>b</sup>	0,055	2,259	2,338
OAU <sub>r</sub>	2,506 <sup>c</sup>	0,056	2,466	2,547

### 3. CONTROLO MICROBIOLÓGICO

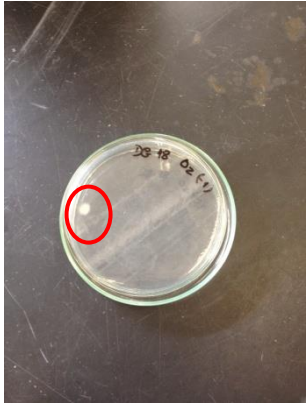
Pode-se verificar que os resultados das análises microbiológicas apresentados nos **Quadros 41, 42 e 43** comprovam o que era esperado para este tipo de produto alimentar. As amostras O<sub>1</sub> de óleo novo, não apresentam qualquer tipo de contaminação, uma vez que foram amostras fornecidas em embalagem seladas, iguais às que se encontram há venda ao público.

Contudo as amostras de óleo que apresentaram algum nível de contaminação são as amostras de óleos usados, esta contaminação poderá ter origem no engarrafamento destes durante a recolha das amostras. Mas, segundo Jianxin, a presença de microrganismos lipolíticos em óleos usados e armazenados é um factor importante para a deterioração destes, fazendo aumentar o índice de acidez e índice de peróxidos, sendo o grau de degradação proporcional ao número de microrganismos presentes. O número de microrganismos, quantidade de humidade no óleo e a temperatura de armazenamento são factores que influenciam o processo de lipólises dos microrganismos e estes determinam o grau de deterioração do óleo. As medidas para controlar o crescimento de microrganismos em óleos alimentares usados e prevenir a deterioração destes passa por ter boas práticas de higiene e boas práticas de fabrico durante a confecção de alimentos, controlo de temperatura de armazenamento e humidade.

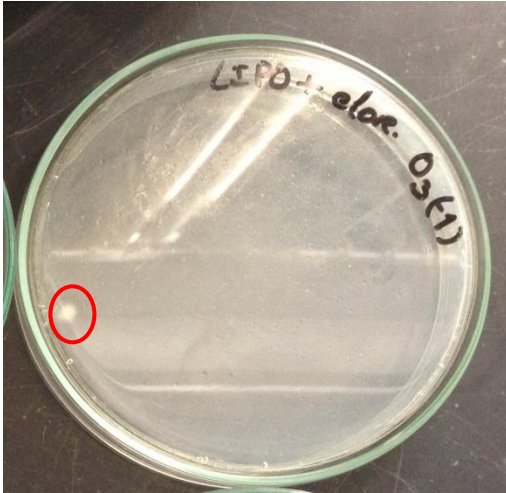
**Quadro 41:** Resultado da contagem de microrganismos lipolíticos

Análise Microbiológica	Diluição da amostra	Amostra de Óleo	u.f.c./ml	Imagem
Contagem de microrganismos lipolíticos a 30°C (LIPO)	-1	O <sub>1</sub>	<1	
		O <sub>2</sub>	<1	
		O <sub>3</sub>	<b>0,2x10</b>	
	-2	O <sub>1</sub>	<1	
		O <sub>2</sub>	<1	
		O <sub>3</sub>	<1	

**Quadro 42:** Resultado da contagem de fungos xerófilos

Análise Microbiológica	Diluição da amostra	Amostra de Óleo	u.f.c./ml	Imagem
Contagem de fungos xerófilos a 25°C (DG18)	-1	O <sub>1</sub>	<1	
		O <sub>2</sub>	<b>0,1x10</b>	
		O <sub>3</sub>	<1	
	-2	O <sub>1</sub>	<1	
		O <sub>2</sub>	<1	
		O <sub>3</sub>	<1	

**Quadro 43:** resultado da contagem de fungos lipolíticos

Análise Microbiológica	Diluição da amostra	Amostra de Óleo	u.f.c./ml	Imagem
Contagem de fungos Lipolíticos 25°C (LIPO+cloran.)	-1	O <sub>1</sub>	<1	
		O <sub>2</sub>	<1	
		O <sub>3</sub>	<b>0,1x10</b>	
	-2	O <sub>1</sub>	<1	
		O <sub>2</sub>	<1	
		O <sub>3</sub>	<1	

## VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos dias que correm cada vez se fala mais em reciclar/reutilizar e o destino final dos OAU's, em Portugal, está a cargo dos produtores. Embora se implemente a recolha obrigatória, que incorre na mistura dos óleos com perda de rastreabilidade, o principal é ainda o envio/descarga dos OAU's para a rede de esgotos: um problema ambiental e um desperdício de matéria-prima, que pode ser requalificada e valorizada, inclusive por novas abordagens. A valorização destes óleos alimentares em fim de vida passa necessariamente pela sua prévia caracterização físico-química, objecto de estudo neste trabalho.

Os resultados e conclusões obtidas no primeiro ano do projeto Bienal no âmbito da Química Analítica e Ambiental: Óleos Alimentares: Indicadores de Degradação da Qualidade são resultado de ensaios prévios. Tratou-se de um ano exploratório, de otimização de técnicas, assim como de equipamentos utilizados nos métodos analíticas. Foram selecionadas técnicas executáveis num pequeno laboratório de Química Alimentar. Foram ainda analisados apenas três lotes de óleo alimentar, com número diferenciado de utilizações em fritura e que cobrem o ciclo de vida do óleo, embora se tenha consciência que só com um universo maior de amostras se podem tirar conclusões bem fundamentadas, quanto ao grau de significância das alterações nestes parâmetros com a degradação e a sua real importância no contexto dos OAU's, como *Indicadores de Degradação da Qualidade*, rápidos, fáceis de implementar e de baixo custo e/ou como *Parâmetros de Referência*.

O estudo dos indicadores rápidos de degradação da qualidade de óleos alimentares usados é um processo complexo; para além dos métodos analíticos propostos neste trabalho, existem outros métodos que podem ser estudados. Vários autores referem a determinação dos *Compostos Polares Totais* (por *kit* ou por cromatografia em coluna) como um dos melhores métodos da determinação do estado de alteração dos óleos alimentares usados, a incluir numa futura prossecução dos trabalhos.

Os métodos clássicos de análise, como sejam o índice de iodo, entre outros, têm caído grandemente em desuso, nos últimos 30 anos. Isto deve-se ao advento das modernas técnicas de separação e caracterização de compostos orgânicos, particularmente das cromatografias em camada fina e em fase gasosa. Pelo uso destas técnicas é hoje

relativamente fácil separar e caracterizar os variados constituintes do complexo grupo dos lípidos (RICARDO e TEIXEIRA, 1983). Contudo, como o objectivo deste projecto é analisar óleos em fim de vida, foram excluídas deste estudo as técnicas cromatográficas, por serem excessivamente onerosas.

Por outro lado, será necessário realizar futuramente uma análise financeira, nomeadamente que contemple diversas variáveis, a fim de imputar custos por análise: material; equipamentos; mão-de-obra; espaço do edifício; consumíveis. Esta análise financeira a cada método analítico será fundamental para a decisão de nomear um técnica analítica como *Indicadores de Degradação da Qualidade*.

Os ensaios prévios neste trabalho, vieram mostrar que os procedimentos descritos em Normas ou Regulamentos Comunitário nem sempre permitem obter resultados com a precisão e rigor que satisfaçam critérios de aceitabilidade recomendados (RECLACRE, 2000). Neste primeiro ano de projeto, de todos os parâmetros executados, houve quase sempre a necessidade de otimizar as técnicas analíticas por procedimentos internos da ESAS, ajustando-as às características dos OAU's.

Das técnicas relacionadas com o conteúdo de água nos óleos, a secagem em estufa apresentou um desempenho decepcionante para OAU's, mas é possível concluir que o parâmetro  $a_w$ , sendo de execução simples, revelou limitações que poderão vir a ser minimizadas nos próximos estudos a realizar com menor número de réplicas (repetibilidade a 3 ensaios) e com um universo mais alargado de amostras. O método mantém-se promissor.

Para o índice de acidez (IA) e acidez total (AT), bem como para os índices de peróxidos (IP) e de iodo (IndI), criaram-se procedimentos internos ESAS com boa repetibilidade, adaptados dos normativos NP 903/1987, NP 904/1987 e NP 941/1985, respectivamente. Considerando os resultados dos três lotes de óleo, verificaram-se diferenças significativas para todos os parâmetros e óleos.

O índice de peróxidos (IP), como foi referido na revisão bibliográfica e se pode observar a partir dos resultados, é um parâmetro cuja evolução gaussiana com o aumento da degradação, limita a sua interpretação, quando não correlacionado com outros métodos analíticos: o seu comportamento em gorduras oxidadas pode apresentar tanto valores altos como baixos. Por esta razão este parâmetro é geralmente recomendado em óleos com

poucas utilizações. Para amostras de óleo que tenham sido armazenadas por longos períodos de tempo e/ou com um elevado estado de degradação, revela-se inconclusivo. Contudo, este parâmetro combinado com outros indicadores pode revelar-se interessante para OAU's (MEAT RESEARCH CORPORATION, 1997).

A cor CIELab revela-se promissora, pela facilidade de execução técnica e por dispensar reagentes químicos; os métodos de absorvência em UV e cor CIE têm, como óbice, uma execução complexa e onerosa; ao IndI, aponta-se a morosidade de execução e relativa inespecificidade. A análise microbiológica assume um papel coadjuvante. Dos parâmetros físico-químicos apresentados neste estudo, aw, IA, AT, IP e Cor CIELab, perfilam-se como *Indicadores de Degradação da Qualidade*. Cor CIE, Absorvência no UV e IndI perfilam-se mais como métodos de comparação ou referência.

## VII. BIBLIOGRAFIA

Abidi S. L. (2001) – Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils. *Journal of Chromatography*; 935: 173-201.

Adnan, A.; Raza, S. A.; Quereshi, A. F.; Asim, M. F.; Najaf, S.; William, J. (2009) – *Analytical investigation of oxidative deterioration of sunflower oil stored under different conditions*. Pakistan: Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 1043-1051.

Aparicio, R. (2003) – *Manual del aceite de oliva*, Harwood, J., eds.; Madri Vicente, Ediciones y Mundi-prensa: Madri, 2003, cap. 14.

Aparicio R.; Aparicio-Ruíz, R. (2000) – Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques. *Journal of Chromatography A*; 881: 93-104.

Araujo V.K.W.S., Hamacher S., Scavarda L.F. (2010) – *Economic assessment of biodiesel production from waste frying oils*. *Bioresouce Technology* 101:4415-4422. DOI: DOI 10.1016/

Aued-Pimentel, S.; Mancini-Filho, J.; Badolato, E. G. S.; Carvalho, J. B. (1994) – *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54, 69.

Bejan, A. (1994) – *Transferência de calor*. Editora Edgard Blücher LTDA. São Paulo. 540 pp.

Campos, L. S. (2005) – Lípidos. Interações metabólicas. *In: Entender a Bioquímica*. Ed. by Escolar Editora – Lisboa: 351-422.

Cert, A.; Moreda W.; Pérez-Camino M. C. (2000) – Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. *Journal of Chromatography*; 881: 131-148.

Chistian, W. E.; Vaclavik A. V. (2008) – Fat and Oil Products. *In: Essentials of Food Science*. Ed. by Springer – Texas: USA: 271- 309.

Choe, E.; Min, D. B. (2007) – Chemistry of Deep-Fat Frying Oils. *In: Journal of Food Science*. Vol. 7, Nr. 5: 77-86.

Chung, J., Lee, J. e Choe, E. (2004) – Oxidative Stability of Soybean and Sesame Oil Mixture During Frying of Flour Dough. *In: Journal of Food Science*, 69.

Coll I. L. J.; Fernández J. M. C.; Torres, M. M. R.; Sainz J. A. F. (1999) – Control e Higiene de los alimentos. McGraw-Hill/Intereamericana de Espana, S.A.U.: Esmeralda Mora, pp 432.

Cooper, D.; Orthoefer, F. (1996) – Initial Quality of Frying Oil. *In: Deep Frying – Chemistry, Nutrition, and Practical Applications*. Ed. by AOCS Press – Champaign: Illinois: 29 - 30

Coultate, T. P. (1999) – Lipids *In: Food – The Chemistry of It's Components*; Third Edition. R. S. C. Paperbacks; London: 97-158.

Decreto-Lei n.º 106/2005 de 29 de Junho – *Estabelece as características das gorduras e dos óleos vegetais destinados à alimentação humana, as condições a observar na sua obtenção ou tratamento, bem como as regras da sua comercialização*. Diário da República – I Série-A N.º 123 de Junho de 2005, 4034 – 4042.

Decreto-Lei n.º 267/2009 de 29 de Setembro – *Estabelece o regime jurídico da gestão de óleos alimentares usados*. Diário da República, 1ª série – N.º 189 – 29 de Setembro de 2009, 6991 – 6997.

Diogo, M. J. (2010) – *Determinação do Índice de Iodo de óleos e gorduras*. Bioquímica, Protocolo de apoio às aulas práticas, 5º trabalho prático. Escola Superior Agrária de Santarém.

Dobarganes, C. M. (2009) – Frying Oils - Chemistry. *In: Formation of New Compounds during Frying – General Observations*. Disponível em: <http://lipidlibrary.aocs.org>. Consulta efectuada a 22 de Junho de 2012.

Dubois, V.; Breton, S.; Linder, M.; Fanni, J. and Parmentier, M. (2007) – Fatty Acid Profiles of 80 Vegetables Oils with Regard to Their Nutricional Potencial, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 109, 710-732.

Enig M. G. (2000) – Know your fats: the complete primer for understanding the nutrition of fats, oil, and cholesterol. Bethesda Press, pp 334.

Erickson, M. D. (1995) – Interesterification. *In: Practical handbook of soybean processing and utilization*. Ed. by D. R. Erickson. AOCS Press and United Soybean Board, pp. 277-296.

Faria, E. A.; Leles, M. I. G.; Ionashiro, M.; Zuppa, T. O. & Antoniosi Filho, N. R. (2002) – Estudo da Estabilidade Térmica de Óleos e Gorduras Vegetais por TG/DTG e DTA. *Ecl. Química*, | 27, 111-119.

Faur, L. (1996). Interesterification Technology. *In: Oils and fats Manual*. Ed. by A. Karleskind and J. P. Wolff, Association Française pour l'Étude des Corps Gras, London, Paris & New York, pp 923-995.

Felisberto, R.; Lamas, L.; Lopes, M.; Sousa, P.; Rodrigues, L. A. (2011) – Lipoperoxidação dos óleos alimentares. Lisboa: Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária, 4: 12-17.

Fellows, J. P. (1996) – Water activity. *In: FOOD PROCESSING TECHNOLOGY – Principles and Practice*. Ed. by Woodhead Publishing Limited. Abington, England. pp 65-67.

Ferreira, N. F. T. (2011) – Impactos Ambientais na Valorização de óleos Alimentares Usados – Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre na área de Engenharia do Ambiente – Universidade de Aveiro, 126 pp.

Firestone, D.; Reina, R. J. (1996) – Authenticity of vegetable oils. *In: Food Authentication*. Ed. by Arshurst P. R., Dennis M. J.; Academic & Professional, Chapman & Hall; pp 198-246.

Frankel, N. E. (1980) – Lipid Oxidation. *Northern Regional Research Center, Agricultural Research*. Great Britain: Pergamon Press. Vol. 19, pp. 1-22.

Francis, F. J. (1998) – Physical Properties of Foods. *In: Food Analysis*

Freire, B. D. (2002) – Controlo de Qualidade de Óleos Vegetais Comercializados na Região do Grande Porto – Tese de Mestrado – Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto, 91 pp.

Frintsch, C. W., (1981) – Measurements of frying fat deterioration. A brief review. *J. Am. Oil.Chem.Soci*, Março 1981: 272-274.

Fula – Centro de Nutrição Fula. Disponível em: <http://fula.hypnoticinteractive.net/> Consulta efetuada a 23 de Abril de 2012.

Gariso, S. (2011) – *Estudo do Efeito de Reutilizações Sucessivas de Óleos de Fritura sobre Parâmetros de Qualidade* – Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre na área de Sistemas de Prevenção e Controlo Alimentar – Escola Superior Agrária de Santarém, 103 pp.

Gava, A.; Silva, C.; Frias, J. (2008) – Fatores que Afetam a Multiplicação dos microrganismos. *In: Tecnologia de alimentos: Princípios e Aplicações*. Ed. by Nobel Franquias S.A. – Brasil: 93-105.

Gertz, C. (2001) – Determination of Polymerized Triglycerides Content in Deep-Frying fats and Oils. *In: European Journal of Lipid Science and technology*, 103: 114-116.

Guia RECLAGRE 13 (2000) – *Validação de Métodos de Ensaio em Análise Química, Relacre*.

Gunstone, F. D. (2002) – Production and trade of vegetable oils. *In: VEGETABLE OILS IN FOOD TECHNOLOGY: Composition, Properties and Uses*. Ed. by Blackwell Publishin: 1-18

Gunstone, D. F. (2008) – *Oils and Fats In the Food Industry*. Wiley-Blackwell. 160 pp.

Halliwell, B.; Murcia, M. A.; Chirico, S.; Aruama, O. I. (1995) – *Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work*. A critical review *In: Food Science and Nutrition*. 7:35.

Hardy, R. (1979) – Fish lipids part 2 *In: Advances in Fish Science and Technology*. Ed. by J.J. Connel, Staff of Torry Research Station, Aberdeen-Scotland, pp 103-110.

Halpern, M. J. (1997) – *Bioquímica*. Lidel, edições técnicas. Lisboa – Porto – Coimbra. 622 pp.

HunterLab – CIE L\*a\*b\* Color Scale: Insight on Color. Vol.8, No. 7. Disponível em: [www.hunterlab.com](http://www.hunterlab.com) Consulta efetuada a 31 de Maio de 2012.

IGAOT – Inspeção-Geral do Ambiente e do Ordenamento do Território (2005) – RELATÓRIOS TEMÁTICOS – Temática dos Óleos Alimentares Usados.

INETI – Instituto Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial (2001) – GUIA TÉCNICO – Sector dos Óleos Vegetais Derivados e Equiparados. PNAPRI – Plano Nacional de Prevenção dos Resíduos Industriais.

INTERNATIONAL STANDARD ISO 3727-1 (2001) - *Butter – Determination of moisture, non-fat solids and fat contents; Part 1: Determination of moisture content*. 1<sup>st</sup> ed. IDF 80-1:2001. 12 pp.

IPA – Inovação e Projectos em Ambiente, Lda (2004) – Estudos de Impacto Ambiental: Linhas de Definição Estratégica do Sistema de Gestão dos Óleos Alimentares Usados. Lisboa.

Kamm, W.; Dionisi F.; Hischenhuber C., Engel K. H. (2001) – Authenticity assessment of fats and oils. *Food Reviews International*; 17(3): 249-290.

Kalua, C. M.; Allen, M. S.; Bedgood Jr, D. R.; Bishop, A. G.; Prenzler, P. D., Robards, K. (2007) – Olive oil volatile compounds, flavor development and quality: A critical review. *Food Chemistry*. Amsterdam: Elsevier, **100**: 273-286.

Kiritsakis, A. K. (1992) – El Aceite de Oliva. A. Madrid Vicente, Ediciones, Madrid, 45-76; 77-82; 83-102; 131-156, 157-162; 163-180, ISBN: 84-87440-28-2.

Kolakowska, A.; Sikorski Z. E. (2003) – The Role of Lipids in Food Quality. *In: Chemical and Functional Properties of Food Lipids*. Ed. by CRC Press LLC, New York.

Lacasse, D. (1999) – *Introdução à microbiologia alimentar*. Lisboa: Instituto Piaget, Ciência e Técnica, **4**: 577 pp.

Laranjeira, C.M.; Ribeiro, M.F.; Henriques, M.; Bermejo, S.M. (2012) – *Caracterização físico-química de óleos alimentares novos e usados para identificação de indicadores de degradação da qualidade*. UIIPS Congresso: Investigação e desenvolvimento no IPS. Livro de Resumos. p.42. 8 e 9 de Fevereiro de 2012. Santarém, ESAS. Comunicação por poster.

Laranjeira, C. M.; Ribeiro, M.F. (2011) – *Caracterização físico-química de óleos alimentares novos e usados para identificação de indicadores de degradação da qualidade*. Projecto co-promoção UIIPS/Grupo Os Mosqueteiros; protocolo aprovado em Outubro de 2011.

Lima, G.; Laranjeiro, C. (2011) – *Determinação da Cor dos óleos (Cor CIE)*. Texto de apoio às sessões presenciais. Santarém: ESAS.

Lima, M. G. (2007) – *Análise Física e Química dos Alimentos (Cor)*. Texto de apoio às sessões presenciais. Santarém: ESAS (ciclostilado), 146pp.

List, G. R.; Emken, E. A.; Kwolek, W. F.; Simpson, T. D.; Dutton, H. J. (1977) – “Zero Trans” margarines: preparation, structure, and properties of interesterified soybean oil – soy trisaturate blends, *JAOCS*, **54**: 408-413.

Malcata, F. X.; Reyes, H. R.; Garcia, H. S.; Hill, C. G.; Amundson, C. H. (1990) – Immobilized lipase reactors for modification of fats and oils – Review. *JAOCS*, **67** (12): 890-910.

Matias, A. A. (2008) – *Desenvolvimento de óleos alimentares funcionais da Ciência à Aplicação* – Dissertação para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia Química – Instituto de Tecnologia Química e Biológica da Universidade Nova de Lisboa. 288 pp.

Meat Research Corporation (1997) – *Peroxide value* – AMT: Australian Meat Technology.

NP 903 (1987) – Informação e Documentação. *Gorduras e Óleos Comestíveis. Determinação da Acidez Total e do Índice de Acidez*. Monte da Caparica: Instituto Português da Qualidade. 5 pp.

NP 937 (1987) – Informação e Documentação. *Gorduras e Óleos Comestíveis. Determinação da cor dos óleos e suas características cromáticas*. Monte da Caparica: Instituto Português da Qualidade. 11 pp.

NP 941 (1985) – Informação e Documento. *Gorduras e Óleo Comestíveis Determinação do índice de iodo*. Monte da Caparica: Instituto Português da Qualidade.

NP 970 (1986) – Informação e Documentação. *Gorduras e Óleos Comestíveis. Absorvências no ultravioleta*. Monte da Caparica: Instituto Português da Qualidade. 13 pp.

O'Brien, R. D. (2000) – Fats and Oils: An Overview. *In: Introduction to Fats and Oils Technology*. AOCS PRESS. Pag. 1-20.

Oliveira, R. L., Silva, F. S., Silva, M. J. M., Carvalho, M. F. L., Gomes, S. M. (2007) – Caracterização físico-química do óleo bruto de coco babuçu (*Orbignya phalerata* Mart.)

comercializado na zona rural de José de Freitas-PI. II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Nordeste de Educação Tecnológica João Pessoa.

Osorio, C., Franco, M. S., Castano, M. P., González-Miret, M. L., Heredia, F. J.; Morales, A. L. – Colour and flavour changes during osmotic dehydration of fruits. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. Amsterdam: Elsevier, **8**: 353-359.

Pedreschi, F., Moyano, P., Kaack, K. e Granby, K. (2005) – Color Changes and Acrylamide Formation in Fried Potato Slices. *In: Food Res Intl*, 38: 1-9.

Perrin, J. L. (1996) – Determination of Alteration. *In: Oils and Fats Manual*. Ed. by A. Karleskind and J. P. Wolff. Association Française pour l'Étude des Corps Gras. London, Paris & New York, pp 1205-1213.

Petrauskaite, V.; Grayt, W.; Kellens M.; Huyghebaert A. (1998) – Physical and chemical interesterification of vegetable oil blends. *JAOCS*, 75(4): 489-493.

Pitts, M.; Dorling, D.; Pattie, C. (2007) – Oil for Food: The Global Story of Edible Lipids, *Journal of World-Systems Research*, XIII, 12-32.

Plusquellec, A. (1991) – *Chapitre 2 Laites et produits laitiers, Partie IV Le Contrôle Microbiologique des Matières Premières et des Produits*. *In: TECHNIQUES D'ANALYSE ET DE CONTRÔLE DANS LES INDUSTRIES AGRO ALIMENTAIRES, volume 3 Le contrôle microbiologique*. Ed. by Bourgeois, C. M. & Leveau, J. Y. – Collection Sciences & Techniques Agro-Alimentaires: 335- 353.

Popovici, C.; Sturza, R.; Deseatnicov, O. (2006) – Study of the Incorporation of Iodine in Vegetal Oils. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 41, 4: 449-456.

Portal do Consumidor – *Gorduras e óleos vegetais*. Disponível em: [www.consumidor.pt](http://www.consumidor.pt). Consulta efetuada a 6 de Dezembro de 2011

Reda, Y. S., Carneiro, B. I. P. (2007) – Óleos e Gorduras: Aplicações e Implicações. *Revista Analytica*: nº27: 60-67.

Regitano-D'Arce, A. B.; Cella, R. C.; Spoto, M. H. (2002) – Comportamento do Óleo de Soja Refinado Utilizado em Fritura por Imersão com Alimentos de Origem Vegetal. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 22(2): 111-116.

Ricardo, C. P.; Teixeira, A. N. (1983) – *Moléculas Biológicas: estrutura e propriedades*. Didáctica Editora. Lisboa. 277 pp

Ventura, C.; Bermejo, S.; Ribeiro, M.; Henriques, M; Laranjeira, C. (2013) – *Óleos alimentares usados: caracterização físico-química para selecção de indicadores de degradação de qualidade e de melhores práticas laboratoriais disponíveis*. Revista da UIIPS. **Vol.2**. Junho de 2013. pp. 256-286. ISSN 2182-9608. [suporte: digital]. <http://www.ipsantarem.pt/arquivo/5004>. Revista da UIIPS\_Vol2\_2013\_Agrária\_ISSN 2182-9608.

Sovena Group – *Processo Produtivo de Óleos*. Disponível em: [www.sovenagroup.com](http://www.sovenagroup.com)  
Consulta efetuada a 15 de Março de 2012.

Wan, J. P. (2000) – Properties of Fats and Oils. *In: Introduction to Fats and Oils Technology*. Ed. by Richard D. O'Brien, Walter E. Farr & Peter J. Wan. AOCS Press. Champaign, Illinois. pp 20-49.

White, J. P. (2006) – Fatty Acids in Oilseeds (Vegetable Oils). *In: Fatty Acids in Foods and their Health Implications*. Ching Kuang Chow. Pag. 227-252.

Universidade Federel de Santa Catarina: *Departamento de Engenharia Química Disciplina de Engenharia Bioquímica*. Disponível em: <http://www.enq.ufsc.br>. Consulta efectuada a 4 de Janeiro de 2012.

TABELA DA COMPOSICAO DE ALIMENTOS - Tabela da composição de alimentos / ed. Andreia Porto, Luísa Oliveira. - Lisboa : Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Centro de Segurança Alimentar e Nutrição, 2006. - 355 p.,

Zhang, H.; Xu, X. B.; Mu, H. L.; Nilsson, J.; Alder-Nissen, J.; Hoy, C. E. (2000) – Lipozyme IM – catalyzed interesterification for the production of margarine fats in a 1 Kg scale stirred tank reactor. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **102**: 411-418.

## **VIII. Apêndices**

## **Apêndice I – Ensaio de Secagem**

O teor de humidade é determinado gravimetricamente, mediante adaptação da **Norma ISO 3727-1/2001**, por secagem em estufa, a  $102\pm 2^{\circ}\text{C}$  e pesagem a peso constante. Quanto aos ensaios realizados, as três amostras foram submetidas ao procedimento geral descrito na norma ISO 3727-2001, em condições de repetibilidade de ensaio ( $n=10$ ). Inicialmente submetidas a um período de secagem de 4h, testaram-se seguidamente, ainda nos mesmos ciclos de secagem, períodos suplementares sucessivos de 1 hora e de 16 horas em estufa (noite). O processo de secagem foi controlado por pesagem, monitorizado experimentalmente através das perdas de peso mas também por observação visual (aspecto e cor do óleo).

Face aos resultados do 1º Ensaio prévio, foram ajustados, nos 2º e 3º ensaios prévios, novos tempos de secagem (mais curtos), para cada amostra, a fim de obter a condição de secagem a peso constante.

**Quadro 44:** 1º ensaio prévio do tempo de secagem do OAN, tempo de secagem utilizado – 21 horas

Caso 1) Óleo Alimentar Novo – OAN									
				t = 4h	Teor de Humidade	t = 1h	Teor de Humidade	t = 16h	Teor de Humidade
	m <sub>0</sub>	m <sub>2</sub>	m <sub>0</sub> +m <sub>2</sub>	m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>	
1	31,6884	5,0149	36,7033	36,7066	-0,0658	36,7071	-0,0757	36,758	-1,0907
2	27,0871	5,0133	32,1004	32,1022	-0,0359	32,1028	-0,0478	32,152	-1,0292
3	26,5556	5,0227	31,5783	31,5801	-0,0358	31,5811	-0,0557	31,6288	-1,0054
4	27,0033	5,01498	32,1531	31,8739	5,42156	31,7804	7,2371	31,2923	16,7152
5	26,4539	5,0467	31,5006	31,5027	-0,0416	31,5027	-0,0416	31,5514	-1,0065
6	23,8436	5,2923	29,1359	29,1372	-0,0245	29,1379	-0,0377	29,1865	-0,9561
7	30,6410	5,0270	35,6680	35,6684	-0,0079	35,6692	-0,0238	35,7186	-1,0065
8	23,6755	5,0474	28,7229	28,7232	-0,0059	28,7264	-0,0693	28,7715	-0,9628
9	23,9512	5,0367	28,9879	28,9884	-0,0099	28,9897	-0,0357	29,0374	-0,9827
10	29,4742	5,0244	34,4986	34,4965	0,04179	34,4999	-0,0258	34,5503	-1,0289
	m <sub>1</sub>			m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>	
EB	15,5926			15,5923		15,5917		15,5916	

**Legenda:** EB – ensaio em branco; m<sub>0</sub> – massa, gramas, do pesa filtros vazio; m<sub>1</sub> – massa, gramas, do pesa filtros no ensaio em branco, antes da secagem; m<sub>2</sub> – massa, gramas, do pesa filtros com amostra antes da secagem; m<sub>3</sub> – massa, gramas, do pesa filtros do ensaio em branco depois da secagem; m<sub>4</sub> – massa, gramas, do pesa filtros com amostra depois da secagem; t – tempo em horas; Teor de Humidade =  $(m_0+m_2-m_4)/m_4 \times 100\%$

**Quadro 45:** 1º ensaio prévio do tempo de secagem do OAU<sub>r</sub> em número indeterminado de reutilizações, tempo de secagem utilizado – 21 horas

Caso 1) Óleo Alimentar Usado Rejeitado do Refeitório – OAU <sub>r</sub>									
				t = 4h	Teor de Humidade	t = 1h	Teor de Humidade	t = 16h	Teor de Humidade
	m <sub>0</sub>	m <sub>2</sub>	m <sub>0</sub> +m <sub>2</sub>	m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>	
1	32,0111	5,2169	37,228	37,2218	0,1188	37,2250	0,0575	37,2496	-0,4140
2	25,9636	5,2512	31,2148	31,2132	0,0304	31,2113	0,0666	31,2441	-0,5579
3	30,9601	5,2220	36,1821	36,1802	0,0363	36,1776	0,0861	36,2165	-0,6587
4	30,0024	5,2550	35,2574	35,2510	0,1217	35,2571	0,0057	35,2704	-0,2473
5	15,8639	5,2142	21,0781	21,0766	0,0287	21,0781	0	21,1039	-0,4948
6	33,6522	5,3921	39,0443	39,0419	0,0445	39,0444	-0,0018	39,0835	-0,7269
7	23,4194	5,2224	28,6418	28,6390	0,0536	28,6376	0,0804	28,5993	0,8138
8	27,1517	5,3316	32,4833	32,4808	0,0468	32,4812	-0,0057	32,1781	-0,5552
9	27,1517	5,3316	32,4833	32,4808	0,0468	32,4812	0,0393	32,5045	-0,3976
10	26,3818	5,1981	31,5799	31,5779	0,0384	31,5789	0,0192	31,6081	-0,5425
	m <sub>1</sub>			m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>	
EB	25,4123			25,4123		25,4109		25,4132	

**Legenda:** EB – ensaio em branco; m<sub>0</sub> – massa, gramas, do pesa filtros vazio; m<sub>1</sub> – massa, gramas, do pesa filtros no ensaio em branco, antes da secagem; m<sub>2</sub> – massa, gramas, do pesa filtros com amostra antes da secagem; m<sub>3</sub> – massa, gramas, do pesa filtros do ensaio em branco depois da secagem; m<sub>4</sub> – massa, gramas, do pesa filtros com amostra depois da secagem; t – tempo em horas; Teor de Humidade =  $(m_0+m_2-m_4)/m_4 \times 100\%$

**Quadro 46:** 2º Ensaio prévio do tempo de secagem do OAN, tempo de secagem utilizado – 2 horas.

Caso 2) Óleo Alimentar Novo – OAN									
				t = 1h	Teor de Humidade	t = 0,5 h (30 minutos)	Teor de Humidade	t = 0,5 h (30 minutos)	Teor de Humidade
	m <sub>0</sub>	m <sub>2</sub>	m <sub>0</sub> +m <sub>2</sub>	m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>	
1	25,3313	5,0637	30,3950	30,3916	0,0671	30,3931	0,0671	30,3951	-0,0020
2	33,8569	5,0675	38,9244	38,9205	0,0770	38,9218	0,0770	38,9246	-0,0039
3	26,6403	5,0809	31,7212	31,7185	0,0531	31,720	0,0531	31,7219	-0,0138
4	27,1032	5,0808	32,184	32,1803	0,0728	32,1821	0,0728	32,1839	0,0020
5	29,5659	5,0559	34,6218	34,6186	0,0633	34,6154	0,0633	34,6255	-0,0732
6	26,1243	5,0764	31,2007	31,1971	0,0709	31,1985	0,0709	31,2010	-0,0059
7	27,2087	5,0606	32,2693	32,2666	0,0534	32,2671	0,0535	32,2695	-0,0040
8	29,3419	5,0553	34,3972	34,3928	0,0870	34,3944	0,0870	34,3973	-0,0020
9	35,0305	5,0636	40,0941	40,0913	0,0553	40,0919	0,0553	40,0955	-0,0276
10	23,8227	5,0689	28,8916	28,8881	0,0690	28,8895	0,0690	28,8915	0,0020
	m <sub>1</sub>			m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>	
EB	29,1347			29,1346		29,1345		29,1342	

**Legenda:** EB – ensaio em branco; m<sub>0</sub> – massa, gramas, do pesa filtros vazio; m<sub>1</sub> – massa, gramas, do pesa filtros no ensaio em branco, antes da secagem; m<sub>2</sub> – massa, gramas, do pesa filtros com amostra antes da secagem; m<sub>3</sub> – massa, gramas, do pesa filtros do ensaio em branco depois da secagem; m<sub>4</sub> – massa, gramas, do pesa filtros com amostra depois da secagem; t – tempo em horas; Teor de Humidade =  $(m_0+m_2-m_4)/m_4 \times 100\%$

**Quadro 47:** 2º Ensaio prévio do tempo de secagem do OAU<sub>2x</sub>, tempo de secagem utilizado – 1 hora e 45 minutos

Caso 2) Óleo Alimentar Usado 2x – OAU <sub>2x</sub>											
				t = 1h	Teor de Humidade	t = 0,25 h	Teor de Humidade	t = 0,25 h	Teor de Humidade	t = 0,25 h	Teor de Humidade
	m <sub>0</sub>	m <sub>2</sub>	m <sub>0</sub> +m <sub>2</sub>	m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>	
1	33,8486	5,0317	38,8803	38,8800	0,0060	38,8800	0,060	38,8798	0,0099	38,8801	0,0040
2	25,9589	5,0262	30,9851	30,9848	0,0060	30,9837	0,0279	30,9822	0,0577	30,9844	0,0139
3	28,1240	5,0182	33,1422	33,1402	0,0399	33,1381	0,0817	33,1391	0,0618	33,1397	0,0498
4	28,5574	5,0331	33,5905	33,5876	0,0576	33,5873	0,0636	33,5861	0,0874	33,5875	0,0596
5	28,4984	5,0496	33,5480	33,5463	0,0337	33,5441	0,0772	33,5452	0,0554	33,5455	0,0495
6	33,7346	5,0773	38,8119	38,8101	0,0355	38,8088	0,0611	38,8091	0,0551	38,8098	0,0414
7	35,0288	5,1029	40,1317	40,1299	0,0353	40,1264	0,1039	40,1293	0,0470	40,1296	0,0412
8	32,9808	5,0930	38,0738	38,0722	0,0314	38,0700	0,0746	38,0694	0,0864	38,0712	0,0511
9	32,7228	5,0273	37,7501	37,7482	0,0378	37,7476	0,0497	37,7472	0,0577	37,7488	0,0259
10	23,1725	5,0468	28,2193	28,2152	0,0812	28,2150	0,0852	28,2140	0,1050	28,2146	0,0931
	m <sub>1</sub>			m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>	
EB	27,1770			27,1766		27,1764		27,1755		27,1763	

**Legenda:** EB – ensaio em branco; m<sub>0</sub> – massa, gramas, do pesa filtros vazio; m<sub>1</sub> – massa, gramas, do pesa filtros no ensaio em branco, antes da secagem; m<sub>2</sub> – massa, gramas, do pesa filtros com amostra antes da secagem; m<sub>3</sub> – massa, gramas, do pesa filtros do ensaio em branco depois da secagem; m<sub>4</sub> – massa, gramas, do pesa filtros com amostra depois da secagem; t – tempo em horas; Teor de Humidade =  $(m_0+m_2-m_4)/m_4 \times 100\%$

**Quadro 48:** 2º Ensaio prévio do tempo de secagem do OAU<sub>r</sub>, tempo de secagem utilizado – 5 hora e 30 minutos

Caso 2) Óleo Alimentar Usado Refeitório – OAU <sub>r</sub>											
				t = 4h	Teor de Humidade	t = 0,5 h	Teor de Humidade	t = 0,5 h	Teor de Humidade	t = 0,5 h	Teor de Humidade
	m <sub>0</sub>	m <sub>2</sub>	m <sub>0</sub> +m <sub>2</sub>	m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>	
1	28,4999	5,3165	33,8164	33,8156	0,0150	33,8152	0,0226	33,815	0,0263	33,8163	0,0019
2	25,675	5,3136	30,9886	30,9874	0,0226	30,9864	0,0414	30,9822	0,1204	30,983	0,1054
3	28,7148	5,3234	34,0382	34,0375	0,0131	34,037	0,0225	34,0367	0,0282	34,0381	0,0019
4	28,3947	5,3128	33,7075	33,7064	0,0207	33,7063	0,0226	33,7065	0,0188	33,7065	0,0188
5	25,4028	5,3299	30,7327	30,7306	0,0394	30,73	0,0507	30,7298	0,0544	30,7309	0,0338
6	32,9825	5,3549	38,3374	38,3351	0,0430	38,335	0,0448	38,335	0,0448	38,336	0,0261
7	28,9317	5,322	34,2537	34,2519	0,0338	34,2515	0,0413	34,2522	0,0282	34,2528	0,0169
8	25,8716	5,3213	31,1929	31,1913	0,0301	31,1906	0,0432	31,1911	0,0338	31,1914	0,0282
9	27,178	5,3279	32,5059	32,5039	0,0375	32,5039	0,0375	32,5031	0,0526	32,5041	0,0338
10	28,575	5,3279	33,9029	33,9026	0,0056	33,9012	0,0319	33,902	0,0169	33,9028	0,0019
	m <sub>1</sub>			m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>	
EB	23,1716			23,1713		23,1702		23,1701		23,1700	

**Legenda:** EB – ensaio em branco; m<sub>0</sub> – massa, gramas, do pesa filtros vazio; m<sub>1</sub> – massa, gramas, do pesa filtros no ensaio em branco, antes da secagem; m<sub>2</sub> – massa, gramas, do pesa filtros com amostra antes da secagem; m<sub>3</sub> – massa, gramas, do pesa filtros do ensaio em branco depois da secagem; m<sub>4</sub> – massa, gramas, do pesa filtros com amostra depois da secagem; t – tempo em horas; Teor de Humidade =  $(m_0+m_2-m_4)/m_4 \times 100\%$

**Quadro 49:** 3º Ensaio prévio do tempo de secagem do OAN, tempo de secagem utilizado – 1 hora e 30 minutos

Caso 3) Óleo Alimentar Novo – OAN									
				t = 1h	Teor de Humidade	t = 0,25 h	Teor de Humidade	t = 0,25 h	Teor de Humidade
	m <sub>0</sub>	m <sub>2</sub>	m <sub>0</sub> +m <sub>2</sub>	m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>		m <sub>4</sub>	
1	24,6788	5,0361	29,7149	29,7141	0,015885308	29,7134	0,01588531	29,7134	0,02978495
2	26,8282	5,0992	31,9274	31,9241	0,064716034	31,9208	0,06471603	31,9237	0,0725604
3	25,402	5,0454	30,4474	30,4453	0,041622072	30,4436	0,04162207	30,4453	0,04162207
4	28,9302	5,0671	33,9973	33,9968	0,009867577	33,9958	0,00986758	33,996	0,0256557
5	27,1503	5,0297	32,18	32,1767	0,065610275	32,1782	0,06561027	32,1787	0,02584647
6	28,7142	5,1021	33,8163	33,8147	0,031359636	33,8138	0,03135964	33,8147	0,03135964
7	29,5614	5,0536	34,615	34,6145	0,009893937	34,6161	0,00989394	34,6167	-0,0336394
8	25,8696	5,0447	30,9143	30,914	0,005946835	30,9129	0,00594684	30,913	0,02576962
9	25,6748	5,0708	30,7456	30,7368	0,173542636	30,7349	0,17354264	30,7363	0,18340301
10	28,3946	5,0521	33,4467	33,4456	0,021773124	33,4444	0,02177312	33,4447	0,0395875
	m <sub>1</sub>			m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>		m <sub>3</sub>	
EB	24,2691			24,2671		24,266		24,2658	

**Legenda:** EB – ensaio em branco; m<sub>0</sub> – massa, gramas, do pesa filtros vazio; m<sub>1</sub> – massa, gramas, do pesa filtros no ensaio em branco, antes da secagem; m<sub>2</sub> – massa, gramas, do pesa filtros com amostra antes da secagem; m<sub>3</sub> – massa, gramas, do pesa filtros do ensaio em branco depois da secagem; m<sub>4</sub> – massa, gramas, do pesa filtros com amostra depois da secagem; t – tempo em horas; Teor de Humidade =  $(m_0+m_2-m_4)/m_4 \times 100\%$

**Apêndice II** – Resultados e cálculos da validação do método analítico: Acidez Total (AT) e Índice de Acidez (IA)

Para o índice de acidez (IA) e acidez total (AT) o procedimento foi repetido sobre uma série de amostras, fazendo variar a concentração do padrão de NaOH (**0,1N** e **0,01N**) e a dimensão da amostra (**5g** e **20g**). Os quadros seguintes mostram os valores dos ensaios, em condições de repetibilidade (n=10), para os três óleos estudados.

**Quadro 50:** Ensaio para OAN com dimensão da amostra de 5g com o padrão 0,01 N NaOH

<b>OAN (Padrão: 0,01 N NaOH)</b>				
Amostra	Massa (g)	Volume (mL)	Acidez Total (%m/v)	Índice de Acidez
1	<b>5,0140</b>	2,40	0,049	0,098
2	<b>5,0333</b>	2,40	0,049	0,098
3	<b>5,0695</b>	2,45	0,051	0,102
4	<b>5,0539</b>	2,35	0,046	0,092
5	<b>5,0828</b>	2,40	0,049	0,097
6	<b>5,0260</b>	2,40	0,049	0,098
7	<b>5,0398</b>	2,40	0,049	0,097
8	<b>5,0662</b>	2,40	0,049	0,097
9	<b>5,0915</b>	2,40	0,048	0,096
10	<b>5,0464</b>	2,35	0,046	0,092

**Quadro 51:** Ensaio para OAN com dimensão da amostra de 20g com o padrão 0,1 N NaOH

<b>OAN (Padrão: 0,1 N NaOH)</b>				
Amostra	Massa (g)	Volume (mL)	Acidez Total (%m/v)	Índice de Acidez
1	<b>20,2700</b>	0,40	0,045	0,090
2	<b>20,5903</b>	0,35	0,038	0,075
3	<b>20,5089</b>	0,35	0,038	0,075
4	<b>20,0370</b>	0,35	0,039	0,077
5	<b>20,1325</b>	0,40	0,046	0,091
6	<b>20,1642</b>	0,35	0,038	0,077
7	<b>20,0677</b>	0,35	0,039	0,077
8	<b>20,0224</b>	0,35	0,039	0,077
9	<b>20,0681</b>	0,35	0,039	0,077
10	<b>20,2375</b>	0,40	0,045	0,090

**Quadro 52:** Ensaio para óleo OAU<sub>2x</sub> com dimensão da amostra de 5g com o padrão 0,01 N NaOH

<b>OAU<sub>2x</sub> (Padrão: 0,01 N NaOH)</b>				
Amostra	Massa (g)	Volume (mL)	Acidez Total (%m/v)	Índice de Acidez
1	<b>5,0763</b>	3,85	0,129	0,257
2	<b>5,0299</b>	3,90	0,133	0,265
3	<b>5,0285</b>	3,80	0,128	0,254
4	<b>5,1638</b>	3,90	0,130	0,258
5	<b>5,1583</b>	3,90	0,130	0,258
6	<b>5,1122</b>	3,95	0,134	0,266
7	<b>5,0216</b>	3,90	0,133	0,265
8	<b>5,0072</b>	3,80	0,128	0,255
9	<b>5,0044</b>	4,00	0,139	0,278
10	<b>5,1104</b>	4,10	0,142	0,283

**Quadro 53:** Ensaio para OAU<sub>2x</sub> com dimensão da amostra de 20g com o padrão 0,1 N NaOH

<b>OAU<sub>2x</sub> (Padrão: 0,1 N NaOH)</b>				
Amostra	Massa (g)	Volume (mL)	Acidez Total (%m/v)	Índice de Acidez
1	<b>20,1638</b>	0,40	0,045	0,090
2	<b>20,6915</b>	0,40	0,044	0,088
3	<b>20,3004</b>	0,50	0,059	0,117
4	<b>20,6269</b>	0,60	0,072	0,143
5	<b>20,2145</b>	0,50	0,059	0,118
6	<b>20,1231</b>	0,40	0,046	0,091
7	<b>20,5193</b>	0,40	0,045	0,089
8	<b>20,8288</b>	0,50	0,058	0,114
9	<b>20,6630</b>	0,50	0,058	0,115
10	<b>20,9561</b>	0,50	0,057	0,114

**Quadro 54:** Ensaio para OAU<sub>r</sub> com dimensão da amostra de 5g com o padrão 0,01 N NaOH

<b>OAU<sub>r</sub> (Padrão: 0,01 N NaOH)</b>				
Amostra	Massa (g)	Volume (mL)	Acidez Total (%m/v)	Índice de Acidez
1	<b>5,2962</b>	6,10	0,244	0,485
2	<b>5,1683</b>	6,10	0,250	0,497
3	<b>5,7588</b>	6,20	0,229	0,456
4	<b>5,2718</b>	5,90	0,234	0,466
5	<b>5,0522</b>	5,90	0,244	0,486
6	<b>5,1907</b>	5,90	0,238	0,473
7	<b>5,2547</b>	5,90	0,235	0,467
8	<b>5,4644</b>	5,90	0,226	0,449
9	<b>5,3954</b>	6,10	0,239	0,476
10	<b>5,6890</b>	6,00	0,222	0,441

**Quadro 55:** Ensaio para OAU<sub>r</sub> com dimensão da amostra de 20g com o padrão 0,1 N NaOH

<b>OAU<sub>r</sub> (Padrão: 0,1 N NaOH)</b>				
Amostra	Massa (g)	Volume (mL)	Acidez Total (%m/v)	Índice de Acidez
1	<b>20,0981</b>	1,40	0,186	0,370
2	<b>20,1515</b>	1,40	0,185	0,369
3	<b>20,0500</b>	1,40	0,186	0,371
4	<b>20,1475</b>	1,45	0,192	0,383
5	<b>20,3383</b>	1,50	0,198	0,393
6	<b>20,1445</b>	1,50	0,199	0,397
7	<b>20,2043</b>	1,50	0,199	0,396
8	<b>20,0722</b>	1,45	0,193	0,384
9	<b>20,0665</b>	1,50	0,200	0,398
10	<b>20,2917</b>	1,50	0,198	0,394

**Apêndice III** – Resultados e cálculos da validação do método analítico: Índice de Peróxidos (IP)

Para o índice de peróxidos (IP) o procedimento foi repetido sobre a dimensão da amostra (**2g e 5g**), para OAU. Os quadros seguintes mostram os valores dos ensaios, em condições de repetibilidade (n=10), para os três óleos estudados.

**Quadro 56:** Ensaio para OAN com dimensão da amostra de  $\pm 2g$  com o padrão 0,01 N de Tiosulfato de

OAN (Tiosulfato de Sódio 0,01 N)			
Amostra	Massa (g)	Volume (mL)	Índice de Peróxidos
1	2,0454	4,00	19,56
2	2,0567	4,10	19,93
3	2,1477	4,45	20,72
4	2,0811	4,35	20,90
5	2,0027	4,10	20,47
6	2,1052	4,35	20,66
7	2,0343	4,20	20,65
8	2,0696	4,10	19,81
9	2,1727	4,40	20,25
10	2,0432	4,10	20,07

Sódio

**Quadro 57:** Ensaio para OAU<sub>2x</sub> com dimensão da amostra de  $\pm 2g$  com o padrão 0,01 N de Tiosulfato de Sódio

OAU <sub>2x</sub> (Tiosulfato de Sódio 0,01 N)			
Amostra	Massa (g)	Volume (mL)	Índice de Peróxidos
1	2,0440	7,80	38,16
2	2,0808	7,80	37,49
3	2,178	8,10	37,19
4	2,0602	7,70	37,38
5	2,0342	7,65	37,61
6	2,1053	8,00	38,00
7	2,0292	7,70	37,95
8	2,0063	7,45	37,13
9	2,1148	7,90	37,36
10	2,0419	7,60	37,22

**Quadro 58:** Ensaio para OAU<sub>r</sub> com dimensão da amostra de ±2g com o padrão 0,01 N de Tiosulfato de Sódio

OAU <sub>r</sub> (Tiosulfato de Sódio 0,01 N)			
Amostra	Massa (g)	Volume (mL)	Acidez Total (%m/v)
1	2,0779	0,80	3,85
2	2,1030	0,80	3,80
3	2,0237	0,70	3,46
4	2,1071	0,70	3,32
5	2,0512	0,80	3,90
6	2,0554	0,80	3,89
7	2,0897	0,75	3,59
8	2,1273	0,85	4,00
9	2,0029	0,80	3,99
10	2,0977	0,70	3,34

**Quadro 59:** Ensaio para OAU<sub>r</sub> com dimensão da amostra de ±5g com o padrão 0,01 N de Tiosulfato de Sódio

OAU <sub>r</sub> (Tiosulfato de Sódio 0,01 N)			
Amostra	Massa (g)	Volume (mL)	Acidez Total (%m/v)
1	5,0441	1,90	3,77
2	5,0434	1,85	3,67
3	5,1422	1,80	3,50
4	5,0396	1,85	3,67
5	5,0849	1,90	3,74
6	5,0435	1,85	3,67
7	5,0115	1,80	3,59
8	5,0396	1,90	3,77
9	5,0118	1,85	3,69
10	5,1107	1,85	3,62

**Apêndice IV – Resultados e cálculos da validação do  
método analítico: Índice de Iodo (IndI)**

Para o índice de iodo (IndI) o procedimento foi repetido sobre a dimensão da amostra (**1,5g e 3g**), para OAU,. Os quadros seguintes mostram os valores dos ensaios, em condições de repetibilidade (n=10), para os três óleos estudados.

**Quadro 60:** Ensaio para OAN com dimensão da amostra de  $\pm 1,5$  g com o padrão 0,1 N de Tiosulfato de Sódio

<b>Caso 1) Óleo Alimentar Novo (Padrão 0,1N)</b>			
	m (g)	V (ml)	Índice de Iodo
1	1,5260	1,20	38,09
2	1,5519	1,25	37,41
3	1,5092	1,20	38,51
4	1,5145	1,20	38,38
5	1,5438	1,25	37,61
6	1,5113	1,15	38,50
7	1,5177	1,20	38,29
8	1,5319	1,15	37,98
9	1,5078	1,20	38,55
10	1,5339	1,20	37,89
EB		47,00	

**Quadro 61:** Ensaio para OAU<sub>2x</sub> com dimensão da amostra de  $\pm 1,5$  g com o padrão 0,1 N de Tiosulfato de Sódio

<b>Caso 2) Óleo Alimentar Usado 2x (Padrão 0,1N)</b>			
	m (g)	V (ml)	Índice de Iodo
1	1,5281	2,10	35,34
2	1,5585	2,00	34,73
3	1,5297	2,15	35,26
4	1,5504	2,00	34,91
5	1,5162	2,10	35,61
6	1,5548	2,25	34,61
7	1,5074	2,20	35,74
8	1,5186	2,10	35,56
9	1,5272	2,20	35,27
10	1,5365	2,00	35,22
EB		44,65	

**Quadro 62:** Ensaio para OAU<sub>2x</sub> com dimensão da amostra de  $\pm 1,5$  g com o padrão 0,1 N de Tiosulfato de Sódio

<b>Caso 3) Óleo Alimentar Usado Refeitório (Padrão 0,1N)</b>			
	m (g)	V (ml)	Índice de Iodo
1	1,5123	1,60	39,35
2	1,5124	2,00	39,02
3	1,5165	1,30	39,50
4	1,5243	1,20	39,38
5	1,5181	1,40	39,37
6	1,5271	1,10	39,39
7	1,5184	1,50	39,28
8	1,5289	1,50	39,01
9	1,5472	1,20	38,80
10	1,5595	1,20	38,49
EB		48,50	

**Quadro 63:** Ensaio para OAU<sub>r</sub> com dimensão da amostra de  $\pm 3$  g com o padrão 0,1 N de Tiosulfato de Sódio

<b>Caso 4) Óleo Alimentar Usado Refeitório (Padrão 0,1N)</b>			
	m (g)	V (ml)	Índice de Iodo
1	3,0101	1,75	19,71
2	3,0167	1,80	19,64
3	3,029	1,70	19,61
4	3,0215	1,65	19,68
5	3,0458	1,70	19,50
6	3,0191	1,70	19,67
7	3,0489	1,65	19,50
8	3,0241	1,70	19,64
9	3,0103	1,70	19,73
10	3,0259	1,80	19,59
EB		46,90	

**Quadro 64:** Ensaio para OAU<sub>r</sub> com dimensão da amostra de  $\pm 3$  g com o padrão 0,1 N de Tiosulfato de Sódio

<b>Caso 5) Óleo Alimentar Usado Refeitório (Padrão 0,1N)</b>			
	m (g)	V (ml)	Índice de Iodo
1	3,0648	2,00	19,25
2	3,0941	1,85	19,13
3	3,1104	1,80	19,05
4	3,0823	1,80	19,23
5	3,0763	2,00	19,18
6	3,0272	1,90	19,53
7	3,0901	2,00	19,10
8	3,0928	1,90	19,12
9	3,0828	1,90	19,18
10	3,1034	2,00	19,01
EB		46,90	

**Apêndice V** – Resultados e cálculos da validação do método analítico: Cor CIE e Cor CIELab

## COR CIE

### Leituras absolutas da absorvência dos óleos

**Quadro 65:** Estudo da cor aparente dos três óleos, OAN – OAU<sub>2x</sub>, OAU<sub>r</sub>

ABSORVÊNCIAS sem filtração						
Amostra		Comprimento de Onda				
		445	495	560	595	625
OAN	1	0,088	0,058	0,045	0,043	0,041
	2	0,09	0,061	0,048	0,045	0,043
	3	0,089	0,060	0,046	0,043	0,04
	4	0,09	0,061	0,047	0,044	0,042
	5	0,09	0,061	0,047	0,044	0,041
	6	0,09	0,062	0,048	0,045	0,042
	7	0,09	0,061	0,047	0,044	0,042
	8	0,091	0,061	0,047	0,045	0,042
	9	0,089	0,06	0,046	0,043	0,041
	10	0,089	0,059	0,046	0,044	0,043
OAU <sub>2x</sub>	1	0,069	0,039	0,028	0,028	0,029
	2	0,060	0,024	0,013	0,012	0,013
	3	0,063	0,033	0,021	0,021	0,022
	4	0,060	0,029	0,017	0,017	0,017
	5	0,061	0,031	0,022	0,022	0,024
	6	0,058	0,026	0,014	0,013	0,013
	7	0,061	0,02	0,009	0,009	0,009
	8	0,089	0,056	0,042	0,042	0,042
	9	0,077	0,045	0,032	0,031	0,03
	10	0,088	0,055	0,042	0,041	0,041
OAU <sub>r</sub>	1	0,567	0,218	0,062	0,036	0,024
	2	0,564	0,214	0,057	0,031	0,018
	3	0,571	0,224	0,063	0,036	0,024
	4	0,572	0,222	0,064	0,038	0,023
	5	0,573	0,226	0,067	0,031	0,025
	6	0,563	0,214	0,057	0,031	0,017
	7	0,562	0,212	0,054	0,028	0,016
	8	0,561	0,210	0,053	0,027	0,019
	9	0,561	0,211	0,053	0,027	0,018
	10	0,570	0,223	0,060	0,033	0,022

**Quadro 66:** Estudo da cor verdadeira, após centrifugação a 3000 r.p.m durante 30 minutos

<b>ABSORVÊNCIAS com centrifugação</b>						
<b>Amostra</b>		<b>Comprimento de Onda (nm)</b>				
		<b>445</b>	<b>495</b>	<b>560</b>	<b>595</b>	<b>625</b>
<b>OAN</b>	<b>1</b>	0,071	0,037	0,023	0,021	0,020
	<b>2</b>	0,068	0,035	0,025	0,020	0,019
	<b>3</b>	0,070	0,040	0,030	0,028	0,025
	<b>4</b>	0,066	0,036	0,027	0,021	0,020
	<b>5</b>	0,067	0,038	0,026	0,025	0,024
	<b>6</b>	0,068	0,036	0,025	0,023	0,022
	<b>7</b>	0,072	0,039	0,031	0,029	0,027
	<b>8</b>	0,066	0,038	0,025	0,024	0,023
	<b>9</b>	0,070	0,036	0,026	0,021	0,020
	<b>10</b>	0,069	0,037	0,030	0,028	0,026
<b>OAU<sub>2x</sub></b>	<b>1</b>	0,097	0,062	0,047	0,040	0,034
	<b>2</b>	0,093	0,063	0,040	0,039	0,038
	<b>3</b>	0,096	0,062	0,048	0,038	0,034
	<b>4</b>	0,094	0,060	0,046	0,037	0,033
	<b>5</b>	0,092	0,068	0,043	0,041	0,037
	<b>6</b>	0,101	0,067	0,052	0,049	0,038
	<b>7</b>	0,104	0,069	0,053	0,051	0,045
	<b>8</b>	0,098	0,060	0,049	0,040	0,039
	<b>9</b>	0,098	0,064	0,050	0,047	0,037
	<b>10</b>	0,103	0,069	0,053	0,049	0,038
<b>OAU<sub>r</sub></b>	<b>1</b>	0,640	0,299	0,142	0,115	0,099
	<b>2</b>	0,642	0,297	0,138	0,110	0,095
	<b>3</b>	0,639	0,292	0,134	0,105	0,090
	<b>4</b>	0,651	0,302	0,141	0,112	0,097
	<b>5</b>	0,660	0,306	0,145	0,117	0,102
	<b>6</b>	0,673	0,325	0,162	0,133	0,117
	<b>7</b>	0,605	0,258	0,099	0,070	0,054
	<b>8</b>	0,633	0,284	0,123	0,095	0,081
	<b>9</b>	0,597	0,249	0,088	0,060	0,046
	<b>10</b>	0,646	0,298	0,136	0,107	0,093

**Quadro 67:** Estudo da cor verdadeira, após centrifugação e decantação

<b>ABSORVÊNCIAS com centrifugação</b>						
<b>Amostra</b>		<b>Comprimento de Onda (nm)</b>				
		<b>445</b>	<b>495</b>	<b>560</b>	<b>595</b>	<b>625</b>
<b>OAN</b>	<b>1</b>	0,078	0,037	0,022	0,020	0,018
	<b>2</b>	0,078	0,038	0,022	0,021	0,019
	<b>3</b>	0,078	0,037	0,022	0,021	0,020
	<b>4</b>	0,078	0,039	0,023	0,020	0,020
	<b>5</b>	0,079	0,038	0,023	0,020	0,020
	<b>6</b>	0,079	0,038	0,023	0,020	0,019
	<b>7</b>	0,079	0,038	0,023	0,021	0,019
	<b>8</b>	0,078	0,038	0,022	0,021	0,019
	<b>9</b>	0,078	0,039	0,022	0,021	0,020
	<b>10</b>	0,078	0,039	0,022	0,021	0,020
<b>OAU<sub>2x</sub></b>	<b>1</b>	0,125	0,086	0,072	0,070	0,067
	<b>2</b>	0,125	0,088	0,073	0,070	0,068
	<b>3</b>	0,123	0,086	0,072	0,070	0,067
	<b>4</b>	0,122	0,086	0,072	0,069	0,067
	<b>5</b>	0,123	0,086	0,072	0,069	0,067
	<b>6</b>	0,122	0,086	0,072	0,069	0,067
	<b>7</b>	0,122	0,085	0,072	0,069	0,066
	<b>8</b>	0,122	0,085	0,072	0,069	0,066
	<b>9</b>	0,122	0,086	0,071	0,068	0,066
	<b>10</b>	0,122	0,086	0,071	0,068	0,066
<b>OAU<sub>r</sub></b>	<b>1</b>	0,592	0,255	0,104	0,076	0,061
	<b>2</b>	0,600	0,258	0,104	0,076	0,061
	<b>3</b>	0,600	0,259	0,105	0,076	0,061
	<b>4</b>	0,603	0,260	0,106	0,077	0,062
	<b>5</b>	0,601	0,258	0,105	0,077	0,061
	<b>6</b>	0,599	0,256	0,102	0,073	0,057
	<b>7</b>	0,601	0,257	0,103	0,074	0,058
	<b>8</b>	0,599	0,256	0,101	0,073	0,058
	<b>9</b>	0,598	0,256	0,102	0,074	0,059
	<b>10</b>	0,599	0,256	0,101	0,073	0,058

### Teste aos líquidos de referência (tetracloreto de carbono para espectrofotometria)

Segundo a Norma NP-937 de 1987, o líquido de referência, tetracloreto de carbono relativamente a água destilada, deve absorver menos, em toda a gama de luz. Como foi efetuada uma alteração a Norma NP-937 de 1987, assim o tetracloreto de carbono relativamente a água destilada, deve absorver menos, nos seguintes comprimentos de onda 445, 495, 560, 595 e 625 nm. O que se veio a verificar, (quadro seguinte):

**Quadro 68:** Resultado do teste ao líquido de referência

Célula de referência	Amostra	Comprimento de onda				
		445	495	560	595	625
Tetracloreto de carbono	Água	0.002	0.003	0.004	0.005	0.005
Água	Tetracloreto de carbono	-0,004	-0,004	-0,004	-0,003	-0,005

### Cálculo da correção do percurso ótico das células

As células, que nominalmente conferem a mesma espessura de  $t$ , devem dar as transmitâncias de sulfatos indicada no procedimento ( $51,4 \pm 0,3$ ;  $26,9 \pm 0,5$  e  $73,3 \pm 0,3$ , respectivamente a 439, 512 e 581). Caso tal não se verifique, como de facto veio a acontecer, a correlação ao percurso ótico é efetuada utilizando as seguintes expressões:

$$\text{Para } 439 \text{ nm: } t = \frac{A}{0,289}$$

$$\text{Para } 512 \text{ nm: } t = \frac{A}{0,5702}$$

$$\text{Para } 581 \text{ nm: } t = \frac{A}{0,1349}$$

### Cálculo das transmitâncias

Embora habitualmente sejam expressas em termos de percentagem, portanto com valores de 0 a 100, elas entram, nas expressões seguintes, como o seu valor real de 0 a 1, para simplificação do cálculo.

Sendo:

$T_1$  qualquer das transmitâncias lidas,  $l$  a espessura do líquido (correspondente à correcção do percurso óptico das células) da qual foi lida a transmitância  $T_1$ , expressa em centímetros, a transmitância, corresponde a 1 cm de espessura do líquido, é:

$$T = \sqrt[l]{T_1}$$

Facilmente calculada pela expressão logarítmica

$$\log. T = \frac{1}{l} \log. T_1$$

Convém referir que para a correcção das transmitâncias se assumiu ser possível que:

- o percurso óptico a 445 nm é comparável à correcção a 439 nm;
- o percurso óptico a 495 nm é comparável à correcção a 512 nm;
- o percurso óptico a 560, 595, 625 são comparáveis à correcção a 581nm.

#### Determinação dos estímulos

Sendo:  $T_{445}$ ,  $T_{495}$ ,  $T_{560}$ ,  $T_{595}$  e  $T_{625}$  as transmitâncias do óleo, na espessura de 1 cm respectivamente nos comprimentos de onda 445, 495, 560, 595 e 625 nm, determinam-se os estímulos X, Y, Z pelas expressões:

$$X = 19 T_{445} + 38 T_{560} + 13 T_{595} + 28 T_{625}$$

$$Y = 21 T_{495} + 62 T_{560} + 17 T_{625}$$

$$Z = 94 T_{445} + 24 T_{495}$$

#### Determinação das coordenadas cromáticas

Determinam-se as coordenadas cromáticas x e y pelas expressões:

$$x = \frac{X}{X + Y + Z}$$

$$y = \frac{Y}{X + Y + Z}$$

Os resultados das determinações das coordenadas cromáticas estão representados nos **Quadros 69 e 70**.

Determinação dos comprimentos de onda dominantes:

Segundo a Norma NP – 937 de 1987, o comprimento de onda dominante é a radiação espectral correspondente ao ponto da curva constituída pelo lugar geométrico de todas as radiações monocromáticas, no diagrama de cromaticidade, onde se cruza a recta que passa pelos pontos definidos pelas coordenadas cromáticas da cor do óleo e do iluminante C. Seja  $\alpha$  o ângulo formado por essa recta e o eixo das abcissas.

Nos **Quadros 71 e 72** são dados os comprimentos de onda dominantes, em função da tangente do ângulo  $\alpha$ , que se calcula pela expressão:

$$tg\alpha = \frac{y - 0.3163}{x - 0.3101}$$

Transparências:

A transparência é o valor de Y em termos de percentagem, sendo considerado as amostras de óleo com e sem centrifugação. Sendo mais transparente quanto maior é o valor absoluto de Y, **Quadros 73 e 74**.

**Quadro 69:** coordenadas cromáticas param as amostras de óleos sem centrifugação

Coordenadas Cromáticas			
Amostra		x	y
OAN	1	0,3169	0,3265
	2	0,3170	0,3263
	3	0,3173	0,3265
	4	0,3172	0,3265
	5	0,3173	0,3265
	6	0,3172	0,3263
	7	0,3172	0,3265
	8	0,3173	0,3268
	9	0,3172	0,3265
	10	0,3169	0,3265
OAU <sub>2x</sub>	1	0,3158	0,3261
	2	0,3165	0,3275
	3	0,3160	0,3262
	4	0,3162	0,3265
	5	0,3153	0,3256
	6	0,3164	0,3267
	7	0,3170	0,3287
	8	0,3170	0,3275
	9	0,3168	0,3270
	10	0,3169	0,3272
OAU <sub>r</sub>	1	0,3819	0,4114
	2	0,3823	0,4117
	3	0,3829	0,4117
	4	0,3827	0,4118
	5	0,3836	0,4109
	6	0,3823	0,4115
	7	0,3823	0,4118
	8	0,3818	0,4119
	9	0,3820	0,4118
	10	0,3832	0,4120

**Quadro 70:** coordenadas cromáticas para as amostras de óleos com centrifugação e decantação

Coordenadas Cromáticas			
Amostra		x	y
OAN	1	0,3187	0,3301
	2	0,3186	0,3300
	3	0,3184	0,3301
	4	0,3187	0,3297
	5	0,3187	0,3300
	6	0,3188	0,3300
	7	0,3187	0,3301
	8	0,3186	0,3300
	9	0,3186	0,3300
	10	0,3186	0,3300
OAU <sub>2x</sub>	1	0,3184	0,3294
	2	0,3184	0,3291
	3	0,3181	0,3289
	4	0,3181	0,3286
	5	0,3182	0,3288
	6	0,3181	0,3286
	7	0,3181	0,3287
	8	0,3181	0,3287
	9	0,3183	0,3288
	10	0,3183	0,3288
OAU <sub>r</sub>	1	0,3810	0,4089
	2	0,3819	0,4101
	3	0,3821	0,4098
	4	0,3822	0,4101
	5	0,3819	0,4101
	6	0,3823	0,4101
	7	0,3824	0,4103
	8	0,3822	0,4103
	9	0,3819	0,4100
	10	0,3822	0,4103

**Quadro 71:** comprimento de onda dominante para as amostras de óleo sem centrifugação

<b><math>\lambda</math> Dominante</b>			
<b>Amostra</b>		<b>Tg <math>\alpha</math></b>	<b><math>\lambda</math> Dominante</b>
OAN	1	1,496	572,396
	2	1,446	572,852
	3	1,415	573,134
	4	1,432	572,984
	5	1,415	573,140
	6	1,402	573,255
	7	1,432	572,984
	8	1,460	572,725
	9	1,432	572,978
	10	1,515	572,228
OAU <sub>2x</sub>	1	1,710	570,714
	2	1,731	570,565
	3	1,690	570,859
	4	1,679	570,937
	5	1,810	570,003
	6	1,646	571,183
	7	1,792	570,126
	8	1,627	571,329
	9	1,586	571,643
	10	1,608	571,475
OAU <sub>r</sub>	1	1,324	573,961
	2	1,321	573,988
	3	1,310	574,100
	4	1,315	574,053
	5	1,287	574,327
	6	1,318	574,016
	7	1,322	573,982
	8	1,333	573,879
	9	1,329	573,921
	10	1,309	574,110

**Quadro 72:** comprimento de onda dominante para as amostras de óleo centrifugadas e decantadas

<b><math>\lambda</math> Dominante</b>			
<b>Amostra</b>		<b>Tg <math>\alpha</math></b>	<b><math>\lambda</math> Dominante</b>
OAN	1	1,600	571,540
	2	1,609	571,469
	3	1,653	571,129
	4	1,568	571,785
	5	1,601	571,531
	6	1,583	571,666
	7	1,600	571,540
	8	1,609	571,469
	9	1,602	571,525
	10	1,602	571,525
OAU <sub>2x</sub>	1	1,583	571,671
	2	1,532	572,073
	3	1,565	571,805
	4	1,539	572,009
	5	1,548	571,936
	6	1,539	572,009
	7	1,547	571,947
	8	1,547	571,947
	9	1,523	572,156
	10	1,523	572,156
OAU <sub>r</sub>	1	1,307	574,132
	2	1,305	574,150
	3	1,300	574,201
	4	1,301	574,189
	5	1,305	574,149
	6	1,299	574,208
	7	1,300	574,202
	8	1,304	574,159
	9	1,305	574,149
	10	1,304	574,159

**Quadro 73:** Pureza e transparências para as amostras de óleo sem centrifugação

Amostra		Pureza $\sigma$ (%)	Transparência Y (%)
OAN	1	4,5734	90,2991
	2	4,5258	89,7473
	3	4,6609	90,1296
	4	4,6326	89,9011
	5	4,6632	89,9346
	6	4,5715	89,7399
	7	4,6326	89,9011
	8	4,7178	89,9011
	9	4,6302	90,0961
	10	4,5452	90,0703
OAU <sub>2x</sub>	1	4,1450	93,6002
	2	4,7124	96,7281
	3	4,2376	94,9873
	4	4,3527	95,8494
	5	3,8821	94,8775
	6	4,4788	96,5101
	7	5,1620	97,5702
	8	4,8178	90,7124
	9	4,6608	92,8102
	10	4,7479	90,7872
OAU <sub>r</sub>	1	44,6822	83,3252
	2	44,8415	84,2374
	3	45,0261	83,0371
	4	44,9916	83,0124
	5	45,0028	82,4818
	6	44,8077	84,2726
	7	44,8957	84,7212
	8	44,7670	84,7929
	9	44,8186	84,7988
	10	45,1655	83,4857

**Quadro 74:** Pureza e transparências para as amostras de óleo com centrifugação e decantadas

Amostra		Pureza $\sigma$ (%)	Transparência Y (%)
OAN	1	5,9904	94,5323
	2	5,9646	94,4504
	3	5,9158	94,4574
	4	5,8856	94,2332
	5	5,9672	94,2774
	6	5,9998	94,3149
	7	5,9904	94,3149
	8	5,9646	94,4504
	9	5,9481	94,3687
	10	5,9481	94,3687
OAU <sub>2x</sub>	1	5,7136	84,3251
	2	5,6412	84,0917
	3	5,5178	84,3251
	4	5,4292	84,3251
	5	5,5272	84,3251
	6	5,4292	84,3251
	7	5,4459	84,3984
	8	5,4459	84,3984
	9	5,5432	84,4798
	10	5,5432	84,4798
OAU <sub>r</sub>	1	43,7637	76,3802
	2	44,3224	76,3010
	3	44,2973	76,1681
	4	44,4187	76,0036
	5	44,3235	76,1944
	6	44,4358	76,6963
	7	44,4973	76,5306
	8	44,4618	76,7712
	9	44,3183	76,6318
	10	44,4618	76,7712

## COR CIELab

**Quadro 75:** Leituras e cálculos realizados para o parâmetro de cor dos OAN

Óleo Alimentar Novo com centrifugação															
Amostra	Data Name	Target No.	Judgement	L* (D65)	a* (D65)	b* (D65)	dL* (D65)	da* (D65)	db* (D65)	dE*ab (D65)	C*	b*/a*	Tg (b*/a*)	arcTg (b*/a*)	H°
Padrão	-----	-----	-----	95,12	-2,46	3,07	-----	-----	-----	-----	3,93	-1,25	-2,99	-51,29	128,71
1	OAN c/c	3	-----	94,99	-2,91	4,32	-0,14	-0,45	1,24	1,33	5,21	-1,48	-11,56	-56,04	123,96
2	OAN c/c	3	-----	94,96	-3,12	5	-0,16	-0,66	1,92	2,04	5,89	-1,60	31,47	-58,04	121,96
3	OAN c/c	3	-----	95,18	-3,12	5,02	0,06	-0,65	1,94	2,05	5,91	-1,61	26,18	-58,14	121,86
4	OAN 4 c/c	3	-----	95,02	-3,12	5,11	-0,1	-0,66	2,04	2,14	5,99	-1,64	14,90	-58,59	121,41
5	OAN 5 c/c	3	-----	94,94	-2,52	2,73	-0,19	-0,06	-0,35	0,4	3,72	-1,08	-1,89	-47,29	132,71
6	OAN 6 c/c	3	-----	94,35	-2,49	2,74	-0,77	-0,02	-0,33	0,84	3,70	-1,10	-1,97	-47,74	132,26
7	OAN 7 c/c	3	-----	94,52	-3,12	4,81	-0,61	-0,66	1,74	1,96	5,73	-1,54	-34,32	-57,03	122,97
8	OAN 8 c/c	3	-----	95,12	-2,47	2,67	0	0	-0,4	0,4	3,64	-1,08	-1,88	-47,23	132,77
9	OAN c/c	3	-----	95,09	-2,49	2,87	-0,03	-0,03	-0,2	0,21	3,80	-1,15	-2,25	-49,06	130,94
10	OAN 10 c/c	3	-----	95,13	-2,47	2,81	0,01	0	-0,27	0,27	3,74	-1,14	-2,16	-48,68	131,32

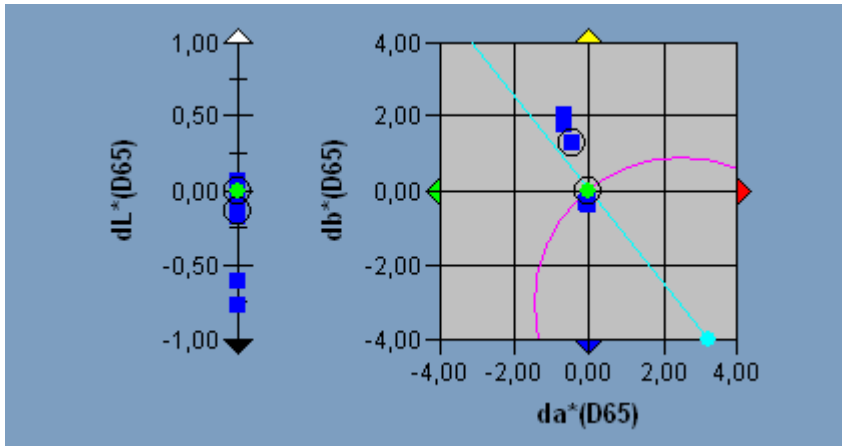


Figura 40: Gráfico  $dL^*(D65)$  obtido no colorímetro para o OAN

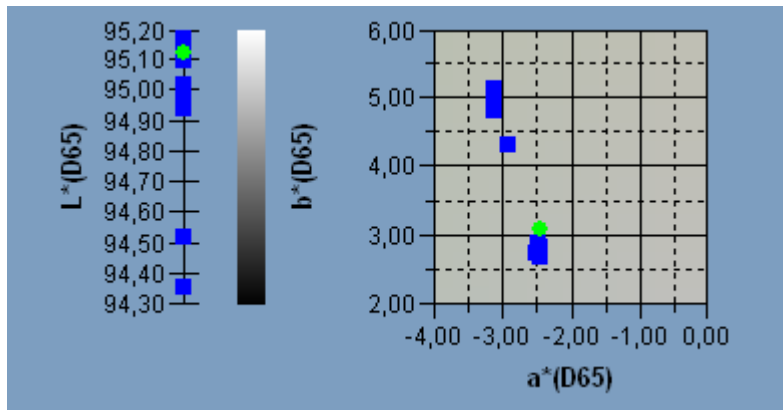
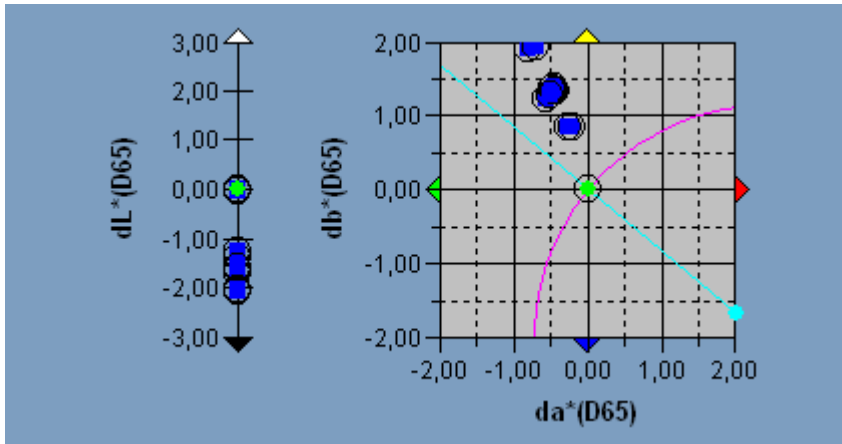


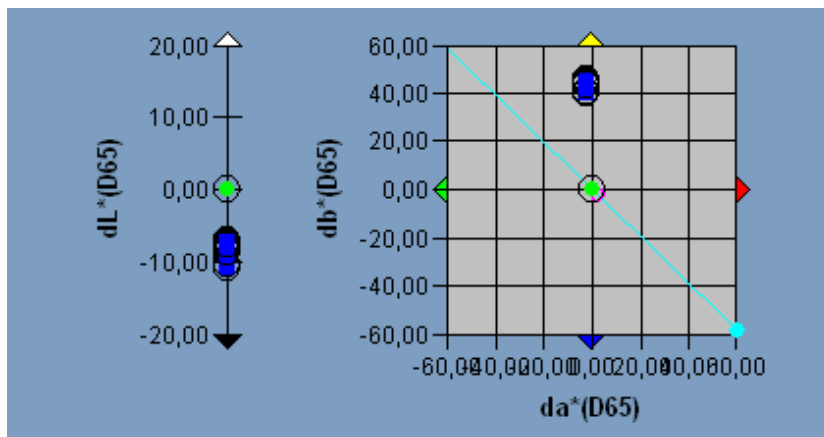
Figura 41: Gráfico  $L^*(D65)$  obtido no colorímetro para o OAN

**Quadro 76:** Leituras e cálculos realizados para o parâmetro de cor dos OAU<sub>2x</sub>

Óleo Alimentar Usado 2x com centrifugação															
Amostra	Data Name	Target No.	Judgement	L* (D65)	a* (D65)	b* (D65)	dL* (D65)	da* (D65)	db* (D65)	dE*ab (D65)	C*	b*/a*	Tg (b*/a*)	arcTg (b*/a*)	H°
Padrão	-----	-----	-----	96,14	-2,42	2,03	-----	-----	-----	-----	3,16	-0,84	-1,11	-39,99	140,01
1	OAU2x c/c	1	-----	96,08	-2,98	3,25	-0,06	-0,56	1,22	1,34	4,41	-1,09	-1,92	-47,48	132,52
2	OAU2x c/c	1	-----	96,14	-3,24	3,92	0	-0,82	1,89	2,06	5,09	-1,21	-2,65	-50,43	129,57
3	OAU2x c/c	1	-----	94,45	-3,12	3,95	-1,69	-0,7	1,92	2,65	5,03	-1,27	-3,18	-51,70	128,30
4	OAU2x c/c	1	-----	94,76	-2,85	3,34	-1,38	-0,43	1,31	1,95	4,39	-1,17	-2,37	-49,53	130,47
5	OAU2x c/c	1	-----	94,06	-2,64	2,86	-2,08	-0,22	0,83	2,25	3,89	-1,08	-1,89	-47,29	132,71
6	OAU2x c/c	1	-----	94,51	-2,87	3,35	-1,63	-0,45	1,32	2,14	4,41	-1,17	-2,34	-49,41	130,59
7	OAU2x c/c	1	-----	94,51	-2,88	3,4	-1,63	-0,46	1,37	2,18	4,46	-1,18	-2,43	-49,73	130,27
8	OAU2x c/c	1	-----	94,87	-2,89	3,37	-1,26	-0,47	1,34	1,9	4,44	-1,17	-2,33	-49,38	130,62
9	OAU2x c/c	1	-----	94,09	-2,69	2,88	-2,05	-0,27	0,85	2,23	3,94	-1,07	-1,83	-46,95	133,05
10	OAU2x c/c	1	-----	94,55	-2,92	3,3	-1,59	-0,5	1,27	2,1	4,41	-1,13	-2,12	-48,50	131,50



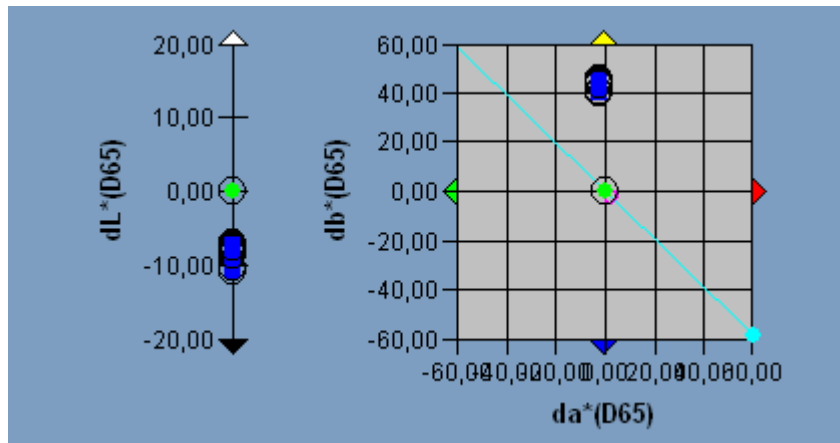
**Figura 42:** Gráfico dL\*(D65) obtido no colorímetro para o OAU<sub>2x</sub>



**Figura 43:** Gráfico L\*(D65) obtido no colorímetro para o OAU<sub>2x</sub>

**Quadro 77:** Leituras e cálculos realizados para o parâmetro de cor dos OAU,

Óleo Alimentar Usado do refeitório com centrifugação															
Amostra	Data Name	Target No.	Judgement	L* (D65)	a* (D65)	b* (D65)	dL* (D65)	da* (D65)	db* (D65)	dE*ab (D65)	C*	b*/a*	Tg (b*/a*)	arcTg (b*/a*)	H°
Padrão	-----	-----	-----	95,37	-2,31	2,25	-----	-----	-----	-----	3,22	-0,97	-1,47	-44,25	135,75
1	OAUr c/c	1	-----	87,76	-4,97	42,68	-7,61	-2,66	40,43	41,22	42,97	-8,59	1,11	-83,36	96,64
2	OAUr c/c	1	-----	88,26	-4,66	47,58	-7,11	-2,35	45,33	45,94	47,81	-10,21	-1,00	-84,41	95,59
3	OAUr c/c	1	-----	87,02	-4,62	46,66	-8,35	-2,31	44,41	45,24	46,89	-10,10	-0,80	-84,35	95,65
4	OAUr c/c	1	-----	87,15	-4,66	46,23	-8,22	-2,35	43,98	44,8	46,46	-9,92	-0,54	-84,24	95,76
5	OAUr c/c	1	-----	87,57	-4,64	47,57	-7,8	-2,33	45,31	46,04	47,80	-10,25	-1,09	-84,43	95,57
6	OAUr c/c	1	-----	88,07	-4,63	47,41	-7,3	-2,32	45,15	45,8	47,64	-10,24	-1,06	-84,42	95,58
7	OAUr c/c	1	-----	84,64	-4,46	46,16	-10,73	-2,15	43,91	45,26	46,37	-10,35	-1,33	-84,48	95,52
8	OAUr c/c	1	-----	85,09	-4,43	46,94	-10,28	-2,13	44,69	45,91	47,15	-10,60	-2,37	-84,61	95,39
9	OAUr c/c	1	-----	86,68	-5,03	42,15	-8,69	-2,72	39,9	40,93	42,45	-8,38	1,72	-83,19	96,81
10	OAUr c/c	1	-----	87,67	-4,98	44,93	-7,7	-2,67	42,67	43,45	45,21	-9,02	0,43	-83,68	96,32



**Figura 44:** Gráfico  $dL^*(D65)$  obtido no colorímetro para o  $OAU_r$

**Apêndice VI – Resultados e cálculos da validação do método analítico: Absorvência no ultravioleta (Abs UV)**

## Aferição do espectrofotómetro

Resultados e cálculos referentes às leituras de absorvência da solução dicromato de potássio *versus* hidróxido de potássio 0,05N, apresentados no quadro seguinte:

**Quadro 78:** resultados e cálculos referentes às leituras de absorvência da solução de dicromato de potássio *versus* hidróxido de potássio 0,05N

N.º de Leituras	Absorvência	Média	Desvia da Média	Desvio Padrão (s)	Erro Padrão $\varepsilon$ (+ou-)	A Exp	
Auto Zero		0,193		0,00088258	0,0004	0,193±0,0004	
1	0,194		0,0006		$n=20$ $t(n-1;95\%)$ $\varepsilon = \frac{t \times s}{\sqrt{n}}$		
2	0,194		0,0006				
3	0,194		0,0006				
4	0,195		0,0016				
5	0,194		0,0006				
Auto Zero							
6	0,191		-0,0024				
7	0,192		-0,0014				
8	0,193		-0,0004				
9	0,193		-0,0004				
10	0,193		-0,0004				
Auto Zero							
11	0,194		0,0006				
12	0,194		0,0006				
13	0,194		0,0006				
14	0,194		0,0006				
15	0,193		-0,0004				
Auto Zero							
16	0,193		-0,0004				
17	0,193		-0,0004				
18	0,194	-0,0004					
19	0,193	0,0006					
20	0,193	-0,0004					

Valores obtidos nas leituras da absorvência no UV das três amostras de óleo – OAN;  
OAU<sub>2x</sub>; OAU<sub>r</sub>

**Quadro 79:** Leituras de absorvência

Amostra			Comprimento de Onda ( $\lambda$ )			
			232	264	268	272
1OAN	400 $\mu$ l/10ml (1:25)	1	0,864	0,042	0,047	0,042
		2	0,868	0,043	0,048	0,043
		3	0,852	0,043	0,048	0,042
		4	0,849	0,042	0,046	0,040
		5	0,856	0,044	0,044	0,045
2OAN	400 $\mu$ l/10ml (1:25)	1	0,866	0,044	0,049	0,043
		2	0,870	0,042	0,047	0,041
		3	0,888	0,042	0,047	0,042
		4	0,844	0,040	0,044	0,039
		5	0,868	0,044	0,049	0,043
Amostra			Comprimento de Onda ( $\lambda$ )			
1OAU <sub>2x</sub>	400 $\mu$ L/10ml (1:25)	1	1,462	0,094	0,096	0,086
		2	1,465	0,093	0,095	0,086
		3	1,478	0,090	0,092	0,082
		4	1,487	0,092	0,094	0,084
		5	1,464	0,090	0,091	0,082
2OAU <sub>2x</sub>	400 $\mu$ L/10ml (1:25)	1	1,466	0,095	0,097	0,086
		2	1,449	0,096	0,098	0,087
		3	1,450	0,096	0,097	0,088
		4	1,496	0,094	0,092	0,082
		5	1,426	0,092	0,094	0,083
Amostra			Comprimento de Onda ( $\lambda$ )			
1OAU <sub>r</sub>	400 $\mu$ L/10ml (1:25)	1	0,627	0,099	0,104	0,094
		2	0,642	0,101	0,106	0,095
		3	0,641	0,100	0,104	0,093
		4	0,646	0,102	0,105	0,094
		5	0,648	0,102	0,107	0,096
2OAU <sub>r</sub>	400 $\mu$ L/10ml (1:25)	1	0,639	0,101	0,106	0,095
		2	0,623	0,099	0,104	0,093
		3	0,638	0,102	0,107	0,096
		4	0,630	0,094	0,099	0,089
		5	0,620	0,100	0,105	0,094

**Quadro 80:** Cálculos auxiliares para absorvência, coeficiente de extinção e extinção específica

Amostra			Absorvência/Coefficiente de Extinção/Extinção Específica								
			$\lambda_{232}$	$K_{232}$	$\lambda_{264}$	$K_{264}$	$\lambda_{268}$	$K_{268}$	$\Delta_{268}$	$\lambda_{272}$	$K_{272}$
10AN	400 $\mu$ l/10ml (1:25)	1	0,864	22,337	0,042	1,086	0,047	1,215	<b>1,086</b>	0,042	1,086
		2	0,868	22,441	0,043	1,112	0,048	1,241	<b>1,112</b>	0,043	1,112
		3	0,852	22,027	0,043	1,112	0,048	1,241	<b>1,099</b>	0,042	1,086
		4	0,849	21,949	0,042	1,086	0,046	1,189	<b>1,060</b>	0,040	1,034
		5	0,856	22,130	0,044	1,138	0,044	1,125	<b>1,150</b>	0,045	1,163
20AN	400 $\mu$ l/10ml (1:25)	1	0,866	22,389	0,044	1,138	0,049	1,267	<b>1,125</b>	0,043	1,112
		2	0,870	22,492	0,042	1,086	0,047	1,215	<b>1,073</b>	0,041	1,060
		3	0,888	22,958	0,042	1,086	0,047	1,215	<b>1,086</b>	0,042	1,086
		4	0,844	21,820	0,040	1,034	0,044	1,138	<b>1,021</b>	0,039	1,008
		5	0,868	22,441	0,044	1,138	0,049	1,267	<b>1,125</b>	0,043	1,112
10AU <sub>2x</sub>	400 $\mu$ L/10ml (1:25)	1	1,462	37,797	0,094	2,430	0,096	2,482	<b>2,327</b>	0,086	2,223
		2	1,465	37,875	0,093	2,404	0,095	2,456	<b>2,314</b>	0,086	2,223
		3	1,478	38,211	0,090	2,327	0,092	2,378	<b>2,223</b>	0,082	2,120
		4	1,487	38,444	0,092	2,378	0,094	2,430	<b>2,275</b>	0,084	2,172
		5	1,464	37,849	0,090	2,327	0,091	2,353	<b>2,223</b>	0,082	2,120
20AU <sub>2X</sub>	400 $\mu$ L/10ml (1:25)	1	1,466	37,901	0,095	2,456	0,097	2,508	<b>2,340</b>	0,086	2,223
		2	1,449	37,461	0,096	2,482	0,098	2,534	<b>2,366</b>	0,087	2,249
		3	1,450	37,487	0,096	2,482	0,097	2,508	<b>2,378</b>	0,088	2,275
		4	1,496	38,676	0,094	2,430	0,092	2,378	<b>2,275</b>	0,082	2,120
		5	1,426	36,867	0,092	2,378	0,094	2,430	<b>2,262</b>	0,083	2,146
10AU <sub>r</sub>	400 $\mu$ L/10ml (1:25)	1	0,627	16,210	0,099	2,559	0,104	2,689	<b>2,495</b>	0,094	2,430
		2	0,642	16,598	0,101	2,611	0,106	2,740	<b>2,534</b>	0,095	2,456
		3	0,641	16,572	0,100	2,585	0,104	2,689	<b>2,495</b>	0,093	2,404
		4	0,646	16,701	0,102	2,637	0,105	2,715	<b>2,534</b>	0,094	2,430
		5	0,648	16,753	0,102	2,637	0,107	2,766	<b>2,559</b>	0,096	2,482
20AU <sub>r</sub>	400 $\mu$ L/10ml (1:25)	1	0,639	16,520	0,101	2,611	0,106	2,740	<b>2,534</b>	0,095	2,456
		2	0,623	16,107	0,099	2,559	0,104	2,689	<b>2,482</b>	0,093	2,404
		3	0,638	16,494	0,102	2,637	0,107	2,766	<b>2,559</b>	0,096	2,482
		4	0,630	16,287	0,094	2,430	0,099	2,559	<b>2,366</b>	0,089	2,301
		5	0,620	16,029	0,100	2,585	0,105	2,715	<b>2,508</b>	0,094	2,430

## **Apêndice VII – Análise Estatística**

## Análise de Variância

### **a<sub>w</sub>, IA, AT, IP e IndI**

**Quadro 81:** Efeito da amostra e variedade nos parâmetros físico-químicos (*Test de Wilks , Multivariate*)

	Test	Value	F	Effect df	Error df	p
Intercept	Wilks	0,000000	1,350616E+10	19	9	0,00
amostra	Wilks	0,000000	7,938856E+03	38	18	0,00

**Quadro 82:** Grupos homogêneos para o parâmetro a<sub>w</sub> (*LSD Fisher Post Hoc*) das três amostras de óleos alimentares estudadas

	amostra	a <sub>w</sub> Mean	1
1	OAN	64,170	****
2	OAU <sub>2x</sub>	65,030	****
3	OAU <sub>r</sub>	68,700	****

**Quadro 83:** Grupos homogêneos para o parâmetro IA (*LSD Fisher Post Hoc*) das três amostras de óleos alimentares estudadas

	amostra	IA Mean	1	2	3
1	OAN	0,266	****		
2	OAU <sub>2x</sub>	0,433		****	
3	OAU <sub>r</sub>	0,630			****

**Quadro 84:** Grupos homogêneos para o parâmetro AT (*LSD Fisher Post Hoc*) das três amostras de óleos alimentares estudadas

	amostra	AT Mean	1	2	3
1	OAN	0,134	****		
2	OAU <sub>2x</sub>	0,217		****	
3	OAU <sub>r</sub>	0,317			****

**Quadro 85:** Grupos homogêneos para o parâmetro IndI (LSD Fisher Post Hoc) das três amostras de óleos alimentares estudadas.

	amostra	II Mean	1	2	3
3	OAU <sub>r</sub>	19,17952	****		
2	OAU <sub>2x</sub>	35,22382		****	
1	OAN	38,12018			****

**Quadro 86:** Grupos homogêneos para o parâmetro IP (LSD Fisher Post Hoc) das três amostras de óleos alimentares estudadas.

	amostra	IP Mean	1	2	3
3	OAU <sub>r</sub>	3,66840	****		
1	OAN	20,30230		****	
2	OAU <sub>2x</sub>	37,54724			****

## COR

### Cor CIE

**Quadro 87:** Efeito da amostra e variedade nos parâmetros físico-químicos (*Test de Wilks , Multivariate*)

	Test	Value	F	Effect df	Error df	p
Intercept	Wilks	0,000000	6,919607E+09	4	51	0,00
amostra	Wilks	0,000013	3,505222E+03	8	102	0,00
tratamento	Wilks	0,085020	1,372148E+02	4	51	0,00
amostra*tratamento	Wilks	0,013936	9,525285E+01	8	102	0,00

**Quadro 88:** Grupos homogêneos para o parâmetro tg  $\alpha$  da Cor CIE (LSD Fisher Post Hoc) das três amostras de óleos alimentares estudadas.

	amostra	tratamento	Tg á Mean	1	2	3	4	5
5	OAU <sub>r</sub>	centrifugado	1,303	****				
6	OAU <sub>r</sub>	tal e qual	1,317	****				
2	OAN	tal e qual	1,445		****			
3	OAU <sub>2x</sub>	centrifugado	1,545			****		
1	OAN	centrifugado	1,603				****	
4	OAU <sub>2x</sub>	tal e qual	1,688					****

**Quadro 89:** Grupos homogêneos para o parâmetro  $\lambda$  dominante da Cor CIE (LSD Fisher Post Hoc) das três amostras de óleos alimentares estudadas.

	amostra	tratamento	$\lambda$ Dominante Mean	1	2	3	4	5
4	OAU <sub>2x</sub>	<i>tal e qual</i>	570,8835		****			
1	OAN	centrifugado	571,5180			****		
3	OAU <sub>2x</sub>	centrifugado	571,9708				****	
2	OAN	<i>tal e qual</i>	572,8674					****
6	OAU <sub>r</sub>	<i>tal e qual</i>	574,0336	****				
5	OAU <sub>r</sub>	centrifugado	574,1697	****				

**Quadro 90:** Grupos homogêneos para o parâmetro  $\sigma$  (pureza) da Cor CIE (LSD Fisher Post Hoc) das três amostras de óleos alimentares estudadas.

	amostra	tratamento	$\sigma$ (%) Mean	1	2	3	4	5
4	OAU <sub>2x</sub>	<i>tal e qual</i>	4,51971	****				
2	OAN	<i>tal e qual</i>	4,61532	****				
3	OAU <sub>2x</sub>	centrifugado	5,52363		****			
1	OAN	centrifugado	5,95744			****		
5	OAU <sub>r</sub>	centrifugado	44,33005				****	
6	OAU <sub>r</sub>	<i>tal e qual</i>	44,89987					****

**Quadro 91:** Grupos homogêneos para o parâmetro Y (transparência) da Cor CIE (LSD Fisher Post Hoc) das três amostras de óleos alimentares estudadas.

	amostra	tratamento	Y (%) Mean	1	2	3	4
5	OAU <sub>r</sub>	centrifugado	76,44485			****	
6	OAU <sub>r</sub>	<i>tal e qual</i>	83,81654	****			
3	OAU <sub>2x</sub>	centrifugado	84,34737	****			
2	OAN	<i>tal e qual</i>	89,97201				****
1	OAN	centrifugado	94,37684		****		
4	OAU <sub>2x</sub>	<i>tal e qual</i>	94,44327		****		

## Cor CIELab

**Quadro 92:** Grupos homogêneos para o parâmetro Cor CIELab - L\*(LSD Fisher Post Hoc) das três amostras de óleos alimentares estudadas

	amostra	L* Mean	1	2
3	OAU <sub>r</sub>	86,99100		****
2	OAU <sub>2x</sub>	94,80200	****	
1	OAN	94,93000	****	

**Quadro 93:** Grupos homogêneos para o parâmetro Cor CIELab - a\*(LSD Fisher Post Hoc) das três amostras de óleos alimentares estudadas

	amostra	a* Mean	1	2
3	OAU <sub>r</sub>	-4,70800		****
2	OAU <sub>2x</sub>	-2,90800	****	
1	OAN	-2,78300	****	

**Quadro 94:** Grupos homogêneos para o parâmetro Cor CIELab - b\*(LSD Fisher Post Hoc) das três amostras de óleos alimentares estudadas.

	amostra	b* Mean	1	2
2	OAU <sub>2x</sub>	3,36200	****	
1	OAN	3,80800	****	
3	OAU <sub>r</sub>	45,83100		****

## Absorvência no UV

**Quadro 95:** Grupos homogêneos para o parâmetro Absorvência no UV -  $K_{232}$  (LSD Fisher Post Hoc) das três amostras de óleos alimentares estudadas.

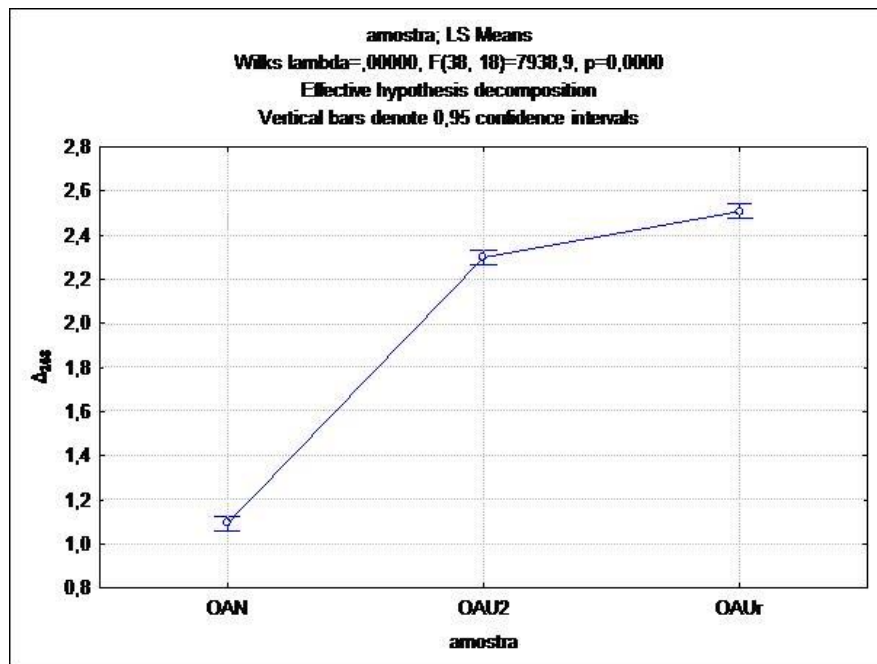
	amostra	$K_{232}$ Mean	1	2	3
3	OAU <sub>r</sub>	16,42709	****		
1	OAN	22,29835		****	
2	OAU <sub>2x</sub>	37,85677			****

**Quadro 96:** Grupos homogêneos para o parâmetro Absorvência no UV -  $K_{268}$  (LSD Fisher Post Hoc) das três amostras de óleos alimentares estudadas.

	amostra	$K_{268}$ Mean	1	2	3
1	OAN	1,211220	****		
2	OAU <sub>2x</sub>	2,445708		****	
3	OAU <sub>r</sub>	2,706825			****

**Quadro 97:** Grupos homogêneos para o parâmetro Absorvência no UV -  $\Delta_{268}$  (LSD Fisher Post Hoc) das três amostras de óleos alimentares estudados.

	amostra	$\Delta_{268}$ Mean	1	2	3
1	OAN	1,093588	****		
2	OAU <sub>2x</sub>	2,298345		****	
3	OAU <sub>r</sub>	2,506463			****



**Figura 45:** Representação gráfica do parâmetro absorvência no UV -  $\Delta_{268}$  para as três amostras de óleo estudadas.