

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

Adilson Bazachi

Estudos Espectroscópicos e Quimiométricos de Óleos
Vegetais Virgens e Termo-oxidados

Maringá - Paraná

2025



Estudos Espectroscópicos e Quimiométricos de Óleos Vegetais Virgens e Termo-oxidados

Adilson Bazachi

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física, da Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Física.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Guilherme Castelli Astrath.

Coorientador: Prof. Dr. Leandro Herculano da Silva.

Maringá - Paraná

2025

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

B362

Bazachi, Adilson

Estudos espectroscópicos e quimiométricos de óleos vegetais virgens e termo-oxidados / Adilson Bazachi. -- Maringá, PR, 2025.
154 f. : il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Guilherme Castelli Astrath.

Coorientador: Prof. Dr. Leandro Herculano da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Departamento de Física, Programa de Pós-Graduação em Física, 2025.

1. Óleos vegetais. 2. CG-FID. 3. FTIR. 4. Análise de componentes principais. I. Astrath, Nelson Guilherme Castelli, orient. II. Silva, Leandro Herculano da, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Exatas. Departamento de Física. Programa de Pós-Graduação em Física. IV. Título.

CDD 23.ed. 530

ADILSON BAZACHI

ESTUDOS ESPECTROSCÓPICOS E QUIMIOMÉTRICOS DE ÓLEOS VEGETAIS
VIRGENS E TERMO-OXIDADOS

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para a obtenção do título de doutor.

Aprovado em: Maringá, 29 de novembro de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Nelson Guilherme Castelli Astrath
Universidade Estadual de Maringá – UEM

Prof. Dr. Leandro Herculano da Silva
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR/Medianeira

Prof^a. Dr^a. Ana Claudia Nogueira Mulati
Universidade Federal do Paraná – UFPR /Jandaia do Sul

Prof^a. Dr^a. Francielle Sato
Universidade Estadual de Maringá – UEM

Prof. Dr. Vitor Santaella Zanuto
Universidade Estadual de Maringá – UEM

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Universo, pela oportunidade e esperança para prosseguir.

Ao Prof. Dr. Nelson Guilherme Castelli Astrath, pela paciência e apoio em muitos momentos.

Ao Prof. Dr. Leandro Herculano da Silva, pela contribuição em minha formação e pela paciência ao me ensinar.

Aos professores do Departamento de Física da UEM, em especial ao Prof. Dr. Renio dos Santos Mendes, pela contribuição científica.

Gostaria de agradecer aos servidores técnicos da UEM, especialmente à secretária Mônica Mucio Loiola.

Aos colegas do grupo GEFF-CILMI, principalmente ao Gabriel A. F. Siqueira e ao Otavio A. Capeloto, pelo auxílio e incentivo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pelo apoio financeiro.

EPÍGRAFE

Pareço estar num transe sublime e estranho;
Para meditar sobre minha própria fantasia isolada.

Percy Bysshe Shelley

RESUMO

Os óleos vegetais são extraídos, principalmente, de sementes, castanhas, frutas e de outras partes das plantas e eles consistem de triacilgliceróis (triésteres de glicerol com três ácidos carboxílicos de cadeia longa, chamados de ácidos graxos), assim como de uma mistura complexa de componentes minoritários. Os óleos vegetais são fontes de ácidos graxos poli-insaturados, que por sua vez são necessários para uma alimentação balanceada pois são capazes de fornecer elementos que atuam na composição energética, estrutural e hormonal do corpo humano. O crescente consumo desses elementos tem incentivado a busca por técnicas capazes de caracterizar suas composições e transformações quando submetidos aos processos industriais ou durante o uso doméstico. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é analisar as transformações que os óleos vegetais comestíveis, originários de diferentes plantas, passam devido ao processo de termo-oxidação. Para isso, as composições em ácidos graxos (obtidas por cromatografia gasosa, CG-FID), a viscosidade dinâmica, o índice de estabilidade térmica, a densidade e espectros de infravermelho foram determinados antes e após o processo de termo-oxidação. A análise cromatográfica mostrou o perfil de ácidos graxos presentes nas amostras estudadas e observou-se a predominância de ácidos graxos com cadeias longas, especialmente os ácidos palmítico, oleico, linoleico e linolênico. A análise reológica atribuiu o comportamento newtoniano para todos os óleos. Os resultados da espectroscopia no infravermelho foram aprimorados através da análise de componentes principais e foi possível estabelecer correlação entre os espectros FTIR, a viscosidade dinâmica e o perfil de ácidos graxos. Foi observado que a viscosidade dinâmica é fortemente alterada pela oxidação térmica, o que está diretamente relacionado à diminuição do teor de ácidos graxos poliinsaturados.

Palavras-chave: Óleos vegetais, CG-FID, FTIR e análise de componentes principais.

ABSTRACT

Vegetable oils are extracted from seeds, nuts, fruits and other parts of plants and they are constituted of triacylglycerols (triesters of glicerol with three long-chain carboxylic acids called fatty acids), as well as a complex mixture of minor components. Edible vegetable oils are sources of polyunsaturated fatty acids, necessary for a balanced diet capable of providing elements that act on the energetic, structural and hormonal composition humans. The growing consumption of these foods has encouraged the search for techniques capable of characterizing their compositions and transformations when subjected to industrial processes or during domestic use. On this regard, the aim of this work is to analyze transformations undergone by edible vegetable oils originating from different plants due to thermal oxidation process. For this, the fatty acid composition (obtained by gas chromatography, CG-FID), dynamic viscosity, oxidative stability index, density and infrared spectra determined before and after being subjected to thermal oxidation. Chromatographic analyses showed the profile of the fatty acids in the samples studied and were observed predominance of long-chain fatty acids, especially palmitic, oleic, linoleic and linolenic acids. Rheological analysis assigned the Newtonian behavior for all oils. The results from infrared spectroscopy were improved through principal component analysis and was possible establish correlation between the FTIR spectra, dynamic viscosity and the profile of fatty acids. It is observed that dynamic viscosity is strongly altered by thermal oxidation, which is directly related to the decrease in the content of polyunsaturated fatty acids.

Keywords: Vegetable oils, CG-FID, FTIR and principal component analysis.

Sumário

1	Introdução	1
2	Revisão de Literatura	4
2.1	Lipídios	4
2.2	Ácidos Graxos	6
2.2.1	Isomeria	6
2.2.2	Nomenclatura Padrão IUPAC	8
2.2.3	Nomenclatura Convencional dos Ácidos Graxos	10
2.2.4	Nomenclatura Abreviada (ω) de Ácidos Graxos	11
2.2.5	Ácidos Graxos Saturados	12
2.2.6	Ácidos Graxos Insaturados	14
2.2.6.1	Ácidos Graxos Monoinsaturados	16
2.2.6.2	Ácidos Graxos Poli-insaturados	17
2.2.7	Ácidos Graxos Trans	21
2.3	Acilgliceróis	23
2.4	Óleos Vegetais	26
2.4.1	Extração por Prensagem a Frio	28
2.4.2	Componentes Minoritários	29
2.4.3	Parâmetros de Qualidade	31
3	Processos de Degradação de Óleos Vegetais	33

3.1	Degradação por Oxidação	34
3.1.1	Auto-oxidação	36
3.1.2	Foto-oxidação	38
3.2	Degradação por Hidrólise	40
3.3	Degradação por Ação da Temperatura	42
4	Métodos Quimiométricos	44
4.1	Quimiometria - Análise Multivariada de Dados Experimentais	44
4.2	Análise Multivariada	47
4.2.1	A Estrutura Multivariada dos Dados	49
4.2.2	Preparação dos Dados para Análise	55
4.2.2.1	Transformação dos Dados	57
4.2.2.2	Pré-Processamento dos Dados	63
4.3	Análise Exploratória dos Dados	63
4.3.1	Análise de Componentes Principais (ACP)	65
4.3.2	Análise de Correlação de Pearson	71
5	Materiais e Métodos	75
5.1	Amostras de Óleos Vegetais	75
5.1.1	Princípio de Funcionamento	86
5.1.2	Metodologia Utilizada	86
5.2	Índice de Estabilidade Oxidativa	87
5.2.1	Princípio de Funcionamento	88
5.2.2	Metodologia Utilizada	89
5.3	Determinação de Ácidos Graxos	91
5.3.1	Princípio de Funcionamento	92
5.3.2	Metodologia Utilizada	94
5.4	Espectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier	95

5.4.1	Princípio de Funcionamento	96
5.4.1.1	Refletância Total Atenuada (ATR)	103
5.4.2	Metodologia Utilizada	104
5.5	Análise Reológica - Viscosidade Dinâmica	105
5.5.1	Princípio de Funcionamento	105
5.5.2	Metodologia Utilizada	108
5.6	Densidade	109
5.6.1	Princípio de Funcionamento	109
5.6.2	Metodologia Utilizada	110
6	Resultados	111
6.1	Índice de Estabilidade Oxidativa	111
6.2	Viscosidade Dinâmica	113
6.3	Densidade	114
6.4	Cromatografia Gasosa	116
6.5	Espectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier com Re- fletância Total Atenuada (FTIR-ATR)	121
6.6	Análise de Componentes Principais	123
6.7	Análise de Correlação	125
7	Conclusão	128
8	Referências Bibliográficas	130

Capítulo 1

Introdução

Os óleos vegetais podem ser utilizados como insumos básicos em diversas áreas, tais como na gastronomia, na alimentação, na oleoquímica, nas indústrias cosméticas e farmacêuticas, para produção de biodiesel e tintas, além de outras. Atualmente, existe uma intensificação na busca por óleos vegetais das mais variadas fontes, pois são diversas suas aplicações e seus usos na alimentação humana podem ser considerados como uma forma de obter ácidos graxos essenciais e como fonte de lipídeos. Nesse contexto, a ingestão de óleos vegetais se torna fundamental para a manutenção das atividades biológicas do corpo humano, sendo que os ácidos graxos essenciais presentes nesses materiais são fundamentais para o bom funcionamento dos órgãos e tecidos humanos.

Os óleos vegetais são extraídos principalmente de sementes oleaginosas, frutas e algas. Eles são constituídos majoritariamente por triacilgliceróis contendo ácidos graxos de longas cadeias carbônicas [1]. A maior parte dos triacilgliceróis têm as estruturas das moléculas de gliceróis idênticas, de modo que os ácidos graxos são os responsáveis pelas diferentes propriedades que os óleos e as gorduras apresentam [1].

Os ácidos graxos que não possuem insaturações (ligações duplas) na cadeia são classificados em ácidos graxos saturados (SFT), enquanto que àqueles que apresentam insaturações são denominados de ácidos graxos insaturados [2]. Os ácidos graxos insaturados que apresentam uma ligação dupla na cadeia carbônica são chamados de ácidos graxo monoinsaturados (MUFA's), ao passo que os ácidos graxos que têm mais de uma ligação dupla são conhecidos como ácidos graxos poli-insaturados (PUFA's) [2]. Nesse sentido, os óleos vegetais têm grande importância nutricional e os estudos desses compostos são necessários a fim de caracterizá-los, de identificar adulterações e garantir a qualidade desses produtos.

As propriedades físico-químicas dos óleos vegetais são determinadas por seus constituintes (especialmente os ácidos graxos) e também por seus parâmetros inerentes. Logo, a qualidade dos óleos vegetais é representada por parâmetros físicos e químicos que são influenciados por várias circunstâncias, como as fontes dos óleos, as origens geográficas, as condições climáticas, assim como as condições de processamento e armazenamento [3].

Tendo em visto a inerente complexidade dos óleos vegetais, muitas técnicas instrumentais (por exemplo a cromatografia) empregadas para avaliações de autenticidades e qualidades consomem muito tempo, são caras e exigem trabalho-intensivo [4]. Portanto, tem existido um crescente interesse em métodos analíticos mais simples, rápidos e confiáveis para avaliar os atributos desses alimentos [4]. Nesse sentido, a espectroscopia no infravermelho pode ser considerada uma técnica adequada para análise quantitativa dos óleos vegetais, assim como para a identificação dos parâmetros desses materiais, pois a mudança no espectro de infravermelho pode ser associada com a mudança dos parâmetros dos óleos vegetais. Logo, a espectroscopia no infravermelho pode ser útil nas avaliações de autenticidades e de qualidades desses compostos orgânicos, pois os modos característicos de vibração de cada grupo funcional presentes nas moléculas de triacilgliceróis provocam o aparecimento de bandas no espectro infravermelho com frequências específicas, que também são influenciados por grupos funcionais próximos (acoplamento) [5].

O espectro de infravermelho de amostras complexas é difícil de ser interpretado, assim os estudiosos utilizam outras ferramentas, como a quimiometria, para investigar qualitativamente e quantitativamente as informações espectrais dos óleos vegetais. Embora os espectros de infravermelho dos óleos vegetais comestíveis sejam similares, eles apresentam algumas diferenças que permitem ao pesquisador diferenciá-los e, desse modo, obter um espectro formado por um conjunto de linhas específicas (uma espécie de impressão digital) para cada óleo vegetal [6]. Nesse sentido, o uso de espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier combinado com análise quimiométrica pode ser usada como estudo de reconhecimento de padrões de óleos vegetais, na análise de parâmetros físicos-químicos de qualidade e no estudo de autenticidade e adulterações desses óleos [5].

No que concerne as técnicas quimiométricas, a técnica estatística multivariada mais popular é a análise de componentes principais (ACP). A ACP é essencialmente uma análise exploratória de dados (não supervisionado) que possibilita a investigação de um número muito grande de dados e também torna possível a identificação das medidas responsáveis pelas maiores variações entre os resultados, sem perdas significativas de informações [7,8]. O uso da ACP é adequado quando as variáveis são originárias de processos em que diversas características pode ser ob-

servadas ao mesmo tempo e ela permite a redução da dimensionalidade do sistema através da representação do conjunto de dados em um novo sistema de eixos, denominado componentes principais, permitindo a visualização da natureza multivariada em poucas dimensões [5].

Este trabalho busca investigar o comportamento de óleos vegetais virgens e termo-oxidados com uso da espectroscopia no infravermelho e da análise de componentes principais. Para isso, é necessário caracterizar óleos vegetais virgens e termo-oxidados por cromatografia gasosa (CG-FID), espectroscopia no infravermelho médio por transformada de Fourier com refletância total atenuada (FTIR-ATR) e obter as características físicas das amostras (densidade, índice de estabilidade térmica e viscosidade dinâmica). Os perfis espectrais das amostras, assim como as propriedades físicas, serão obtidos antes e após o processo de termo-oxidação. Em posse dessas informações, uma análise de correlação será feita a fim entender quais grandezas estão correlacionadas.

Esta tese foi escrita de um modo a fornecer conhecimentos preliminares sobre os óleos vegetais (capítulo 2) e os processos de degradação que esses compostos podem sofrer (capítulo 3). O capítulo 4 é dedicado expor os materiais e métodos utilizados para o desenvolvimento desta pesquisa.

O capítulo 5 apresenta os conceitos relacionados aos métodos quimiométricos, em especial a análise multivariada conhecida como análise de componentes principais. Os resultados obtidos serão apresentados e discutidos no capítulo 6 e, por fim, no capítulo 7 será apresentado uma conclusão geral do presente trabalho.

Capítulo 2

Revisão de Literatura

2.1 Lipídios

Lipídios (do grego “lipos”, gordura) são moléculas biológicas de ocorrência natural que, em geral, possuem solubilidade limitada em água e podem ser isolados de organismos por extração com um solvente orgânico apolar [9]. O termo lipídio engloba um grande número de substâncias existentes nos reinos vegetal e animal; as gorduras, os óleos, as ceras, as prostaglandinas, os terpenos e muitos componentes moleculares de membranas são exemplos conhecidos [10]. Dessa forma, esses compostos possuem diferentes grupos funcionais (por exemplo: triacilgliceróis, monogliceróis, diacilgliceróis, fosfolipídios, esteróis, ácidos graxos e outras substâncias) [11]. Apesar dessas diferenças, os compostos lipídicos compartilham a característica comum de que a sua origem biossintética é o elemento biológico fundamental de construção, chamado de acilcoenzima A (Acil-CoA), figura 2.1, [12]. Além disso, a maior parte desses compostos têm em comum a presença de cadeias orgânicas com um elevado número de átomos de carbonos, o que lhes confere um caráter hidrofóbico [11]. Logo, os lipídios não são uma “classe” discreta de compostos orgânicos, diferentemente das proteínas e dos carboidratos [12].

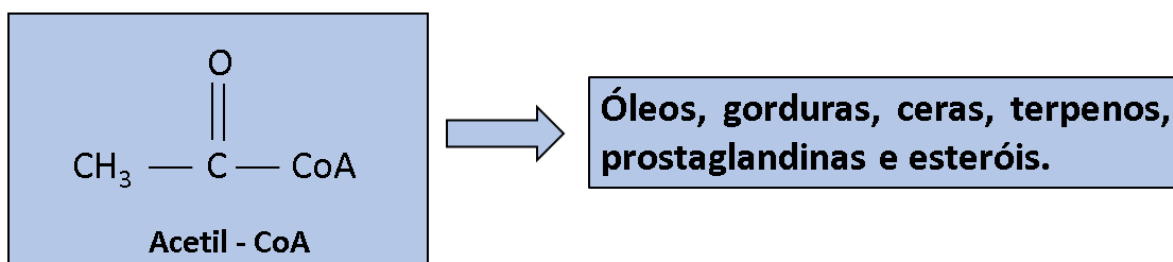


Figura 2.1: A acetilcoenzima A (Acetil-CoA) e seus derivados [adaptado de [12]].

A classificação dos lipídios pode ser feita através das suas propriedades físicas (em temperatura ambiente os óleos são líquidos, enquanto que as gorduras são sólidas ou pastosas), das suas polaridades (lipídios polares ou apolares), das suas essencialidades para os seres vivos (ácidos graxos essenciais e não essenciais) e das suas estruturas (lipídios simples, complexos e derivados) [10,12]. Usualmente, utiliza-se a classificação baseada na estrutura.

Os lipídios são divididos em duas classes principais: lipídios saponificáveis e lipídios insaponificáveis [9,12]. Os lipídios não saponificáveis (colesterol, prostaglandinas, terpenos e outras substâncias) não podem ser quebrados em pequenos componentes moleculares na hidrólise (uma molécula de água quebra uma ou mais ligações químicas na estrutura) [10,12]. Os lipídios saponificáveis (as ceras, os triacilgliceróis, os fosfolipídios e outros compostos) compreendem um, ou mais, grupo éster e, assim, existe a possibilidade sofrerem hidrólise em um meio básico, ácido ou enzimático [12,13]. Essa classe de lipídios pode ser dividida em polares e não polares, no qual os ácidos graxos são componentes essenciais de ambos [12]. Os lipídios apolares, ou neutros, são ésteres de ácidos graxos com álcoois, e incluem-se nesse grupo os acilgliceróis, ceras, carotenóides e terpenóides. Os lipídios polares são substâncias que, além da ligação éster do ácido graxo e álcool, têm outras funções químicas [10].

Fundamentado na estrutura, os lipídios podem ser classificados como simples, complexos e derivados [10]. Os lipídios derivados incluem ácidos graxos assim como os álcoois e, esses são os blocos básicos de construção para os lipídios simples e complexos [12,14]. Dessa forma, a hidrólise dos lipídios simples e complexos gera os compostos que formam os lipídios derivados. Os lipídios derivados também são denominados de materiais insaponificáveis, pois eles podem ser obtidos por extração com éter [14]. Os lipídios simples são formados por ácidos graxos e álcoois [12]. Eles compreendem os acilgliceróis, os esteróis e as ceras [10,14]. Em geral, os lipídios simples podem ser hidrolisados em duas componentes diferentes, geralmente um ácido e um álcool [14]. Os lipídios complexos são substâncias que contêm além do grupo éster da união do ácido graxo e glicerol, outros grupamentos químicos, como por exemplo os fosfolipídios, os glicolipídios e os esfingolipídios [12]. Essas estruturas produzem três ou mais compostos diferentes na hidrólise [14].

Os componentes lipídicos, especialmente os ácidos graxos, estão presentes nas mais diversas formas de vida e desempenham importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos [15]. Eles também desempenham papéis cruciais como cofatores enzimáticos, transportadores de elétrons, âncoras hidrofóbicas para proteínas, agentes emulsificantes para o trato digestivo, além de outras funções específicas [13]. Sabe-se que os lipídios

saponificáveis polares podem se associar e formar micelas, sendo assim, são importantes para o transporte molecular de líquidos insolúveis no sangue [9,10]. Os lipídios mais conhecidos são os ácidos graxos, pois esses compostos são os principais constituintes dos óleos e das gorduras.

2.2 Ácidos Graxos

Os ácidos graxos são membros do grupo dos ácidos carboxílicos (figura 2.2-(a)), ou seja, eles são compostos orgânicos com um, ou mais, grupo carboxila (grupo funcional carbonila ligado ao grupo funcional hidroxila). Uma molécula de ácido graxo consiste de uma longa cadeia hidrocarbonada hidrofóbica e alifática, variando de 4 a 36 átomos de carbono (C4 a C36), ligada ao grupo carboxílico em uma das extremidades (figura 2.2 - (b)) [10,13]. A maioria dos ácidos graxos naturais não apresentam ramificações, contém um número par de átomos carbono e eles diferem entre si pelo número de carbonos na cadeia [11]. Entretanto, foi reportado a existência de ácidos graxos, presentes em óleos comestíveis, com cadeia ramificada, cíclica ou com um número ímpar de átomos de carbono [10].

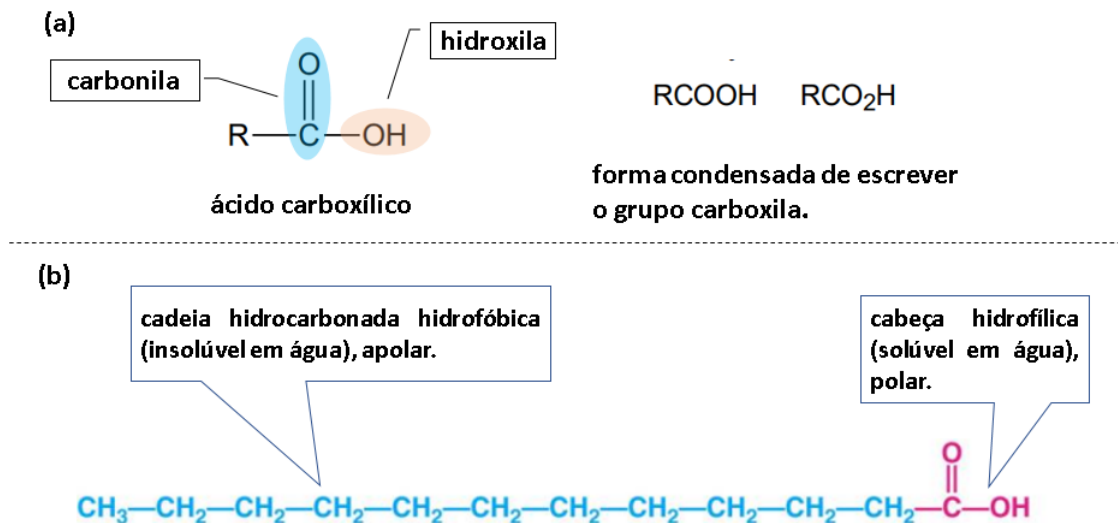


Figura 2.2: (a) Grupo funcional carboxila; (b) representação de uma molécula de ácido graxo [adaptado de [13]].

2.2.1 Isomeria

Chamam-se isômeros dois ou mais compostos distintos em suas propriedades, que sejam formados pelos mesmos elementos, combinados nas mesmas proporções, tendo a mesma fórmula

molecular bruta, mas com diferentes estruturas moleculares [16]. A isomeria de posição e a isomeria geométrica são os dois tipos importantes de isomeria dos ácidos graxos [16].

A isomeria de posição, figura 2.3, é o fenômeno de ocorrência de dois ou mais compostos de mesma fórmula molecular, pertencentes à mesma função química e que diferem na posição de um grupo funcional, na posição de uma ramificação ou na posição de uma insaturação (ligação dupla ou tripla) [9, 16].

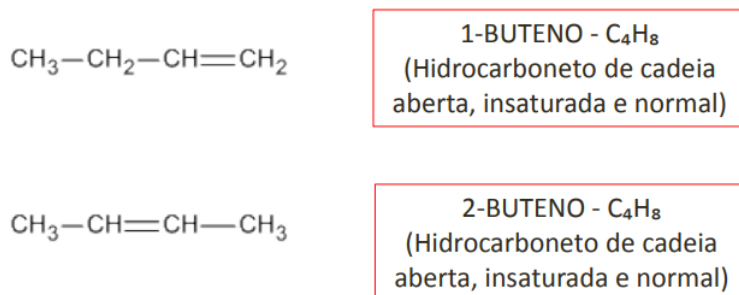


Figura 2.3: Isomeria de posição para compostos que possuem diferentes posições na insaturação [17].

Na isomeria geométrica, ou *cis-trans*, a diferença entre os isômeros é perceptível pela análise da fórmula estrutural. Os ácidos graxos insaturados podem assumir a isomeria na forma *cis* (do latim *cis*, aquém de) ou *trans* (do latim *trans*, para além de), dependendo da configuração dos átomos de hidrogênio ligados aos átomos de carbono na posição da ligação dupla. No isômero *cis* os átomos de hidrogênio ficam do mesmo lado do plano da ligação dupla, ocorrendo o contrário com o isômero *trans*, como mostra a figura 2.4 [10].

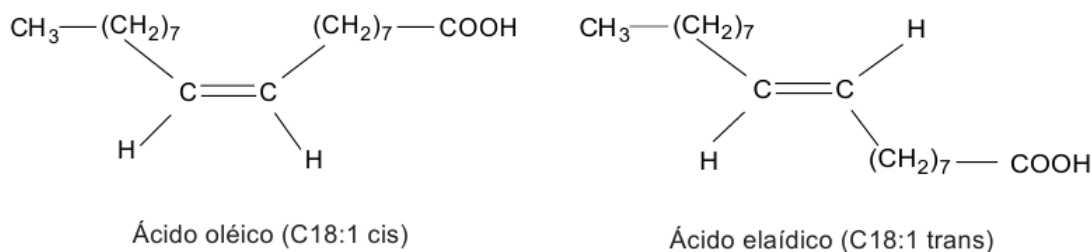


Figura 2.4: Ácidos graxos representando isômeros *cis* e *trans* [adaptado de [10]].

2.2.2 Nomenclatura Padrão IUPAC

Na terminologia padrão IUPAC (do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*, União Internacional de Química Pura e Aplicada), os ácidos graxos são nomeados seguindo as regras usuais para os hidrocarbonetos de cadeia normal [9]. A tabela 2.1 mostra o esquema utilizado para nomear os ácidos carboxílicos.

Tabela 2.1: Nomenclatura oficial do ácidos carboxílicos [adaptado de [14]].

Prefixo indicativo da quantidade de átomos de carbonos		Natureza da ligação	Terminação
1 C ... met	11 C ... undec		
2 C ... et	12 C ... dodec		
3 C ... prop	13 C ... tridec		
4 C ... but	14 C ... tetradec	Somente ligação simples ... an	
5 C ... pent	15 C ... pentadec	Uma ligação dupla ... en	óico
6 C ... hex	16 C ... hexadec	Duas ligações duplas ... dien	
7 C ... hept	17 C ... heptadec		
8 C ... oct	18 C ... octadec		
9 C ... non	19 C ... nonadec		
10 C ... dec	20 C ... eicos		

Para nomear os ácidos carboxílicos, deve-se usar o termo “ácido” antes do nome do hidrocarboneto [9]. Conforme se observa na tabela 2.1, os hidrocarbonetos com cadeias acíclicas e lineares são nomeados com um prefixo numérico, que indica quantidade de átomos de carbono na cadeia, e com o infixos que indica o tipo de ligação química (“an” para ligação simples, “en” para ligação dupla e assim por diante) [18].

O sufixo “óico” caracteriza o grupo funcional dos ácidos carboxílicos e, se houver mais de um grupo carboxílico, ele deve ser indicado por meio do prefixo numérico antes do sufixo “óico” (por exemplo, se existem dois grupos carboxílicos na estrutura usa-se o termo “dióico”) [18]. Se houver insaturação (duplas ou triplas ligações), será necessário numerar a cadeia, começando pelo carbono da carboxila. No caso da existência de ligação dupla na cadeia deve-se usar o

símbolo Δ , que representa a distância entre o carbono da carboxila e o carbono que apresenta a insaturação, seguido de um número sobrescrito que indica o carbono de número mais baixo na ligação dupla [14].

A geometria da ligação dupla, por sua vez, é representada pelos termos *cis-trans*, nos quais esses termos são usados para descrever as posições de átomos, ou grupos de átomos, conectados à átomos ligados duplamente [13].

A figura 2.5 mostra alguns exemplos da nomenclatura dos ácidos graxos seguindo as normas da IUPAC.

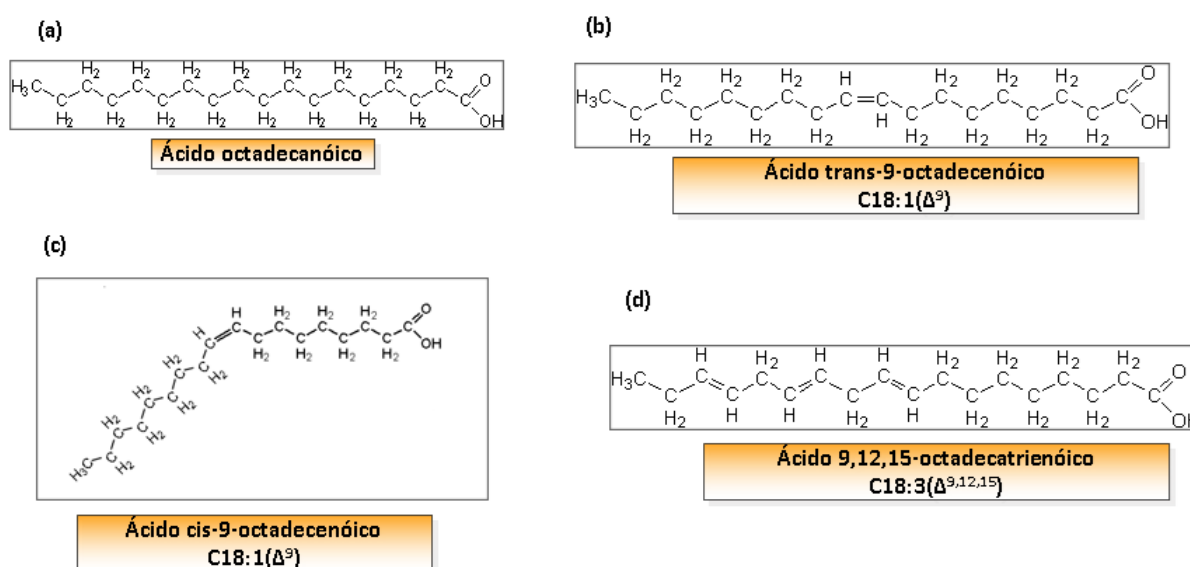


Figura 2.5: Nomenclatura de ácidos graxos segundo a IUPAC. (a) Ácido octadecanóico, (b) ácido *cis*-9-octadecenóico, (c) ácido *trans*-9-octadecenóico e (d) ácido 9, 12, 15-octadecatrienóico [17].

Conforme mostrado na figura 2.5, um ácido carboxílico com 18 átomos de carbono (C18) e cadeia aberta com ligação simples é chamado de ácido octadecanóico, figura 2.5 - (a). Esse composto possui a fórmula $CH_3(CH_2)_{16}COOH$ e constitui os óleos e as gorduras [10]. Quando o ácido graxo possui 18 átomos de carbono (C18 : 1(Δ^9)) e uma insaturação (ligação dupla), ele é chamado de ácido octadecenóico e pode ter geometria de ligação do tipo *cis* ou do tipo *trans*, figura 2.5 - (b), (c). Para o caso no qual a cadeia apresenta 18 átomos de carbono com três ligações duplas (C18 : 3($\Delta^{9,12,15}$)) o composto recebe o nome de ácido 9, 12, 15-octadecatrienóico, figura 2.5 - (d).

2.2.3 Nomenclatura Convencional dos Ácidos Graxos

Nomes comuns têm sido introduzido ao longo dos anos e, para certos ácidos graxos, os nomes triviais são muito mais usados do que a terminologia padrão IUPAC [18]. Por exemplo, o ácido oleico é muito mais conhecido do que o ácido cis-9-octadecenóico. As origens desses nomes, na maioria das vezes, são derivados a partir da primeira identificação botânica ou zoológica desses ácidos graxos [18]. A tabela 2.2 mostra alguns nomes comuns dos principais ácidos graxos encontrados em óleos e gorduras.

Tabela 2.2: Nome dos principais ácidos graxos encontrados em óleos e gorduras [adaptado de [10]].

Nome Sistemático	Nome Comum (derivação)
Butanóico	Butírico
Hexanóico	Caproico
Octanóico	Caprílico
Dodecanóico	Láurico
Tetradecanóico	Mirístico
Hexadecanóico	Palmítico
Octadecanóico	Estearico
Eicosanóico	Araquídico
Docosanóico	Behênio
9-hexadecenóico	Palmitoleico
9-Octadecanóico	Oleico
Trans 9-Octadecanóico	Elaídico
13-docosenóico	Erúico
9,12-octadecadienóico	Linoleico
9,12,15-octadecatrienóico	Linolênico
5,8,11,14-eicosatetraenóico	Araquidônico
5,8,11,14,17-eicosapentaenóico	EPA
4,7,10,13,16,19-docosahexaenóico	DHA

2.2.4 Nomenclatura Abreviada (ω) de Ácidos Graxos

Uma convenção alternativa para nomear os ácidos graxos poli-insaturados consiste em numerar os átomos de carbono designando o número 1 ao carbono da metila, esse carbono é representado pela letra grega ω (ômega, última letra do alfabeto grego) [13, 18]. As posições das ligações duplas são indicadas em relação ao carbono ω .

Na convenção ω , os ácidos graxos poli-insaturados com uma ligação dupla entre o terceiro e quarto carbono são chamados de ácidos graxos $\omega - 3$; aqueles com ligação dupla entre o sexto e sétimo carbono são os ácidos graxos $\omega - 6$ e os que apresentam insaturação entre o nono e o décimo carbono são denominados de ácidos graxos $\omega - 9$ [13, 14].

A fim de facilitar a identificação desses compostos, agrupou-se os ácidos graxos poli-insaturados em famílias conhecidas como ω . Na família $\omega - 3$ estão incluídos o ácido linolênico (figura 2.6 - (a)), o ácido eicosapentaenoico e o ácido docosahexaenoico (DHA); a família $\omega - 9$ tem o ácido oleico (figura 2.6 - (b)) como principal representante, enquanto que o grupo $\omega - 6$ é representado pelo ácido linoleico (figura 2.6 - (c)) [10].

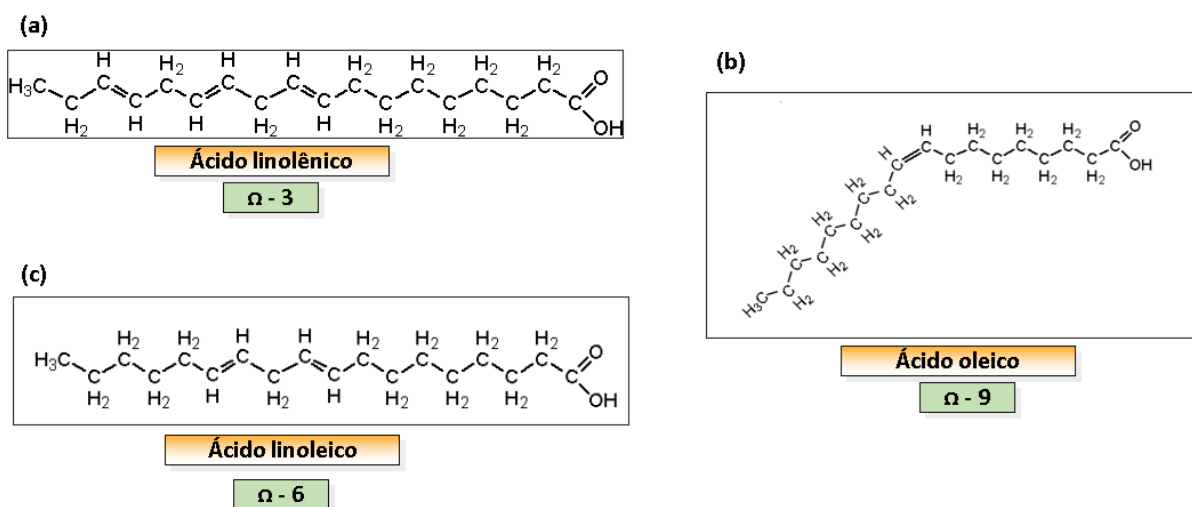


Figura 2.6: Nomenclatura usual e convenção ω de ácidos graxos insaturados. (a) ácido linolênico ($\omega - 3$), (b) ácido oleico ($\omega - 9$) e (c) ácido linoleico ($\omega - 6$) [17].

A nomenclatura ω é usada para representar onde está a insaturação na cadeia e, dessa forma, essa convenção não fornece informações relevantes para classificar a molécula, sendo que ela é usada basicamente para se referir a alguns ácidos graxos de importância nutricional [13].

2.2.5 Ácidos Graxos Saturados

Os ácidos graxos saturados, representado na figura 2.7 pelo ácido esteárico, são caracterizados pela ausência de ligações duplas na cadeia hidrocarbônica, ou seja, possuem somente ligações simples entre os átomos de carbono [2, 10]. Essa propriedade confere uma menor reatividade química, de modo que os óleos e as gorduras que contém os ácidos graxos saturados possuem uma maior estabilidade diante de processos degradativos (por exemplo, a rancidez oxidativa), quando comparados aos ácidos graxos insaturados [2, 19].

Os ácidos graxos saturados e os ácidos graxos insaturados possuem conformidades distintas, sendo que nos ácidos graxos saturados as cadeias hidrocarbonadas são flexíveis, podendo existir várias configurações, pois as ligações simples da estrutura têm liberdade de rotação [19]. Entretanto, a forma alongada é a que melhor apresenta os ácidos graxos saturados [19].

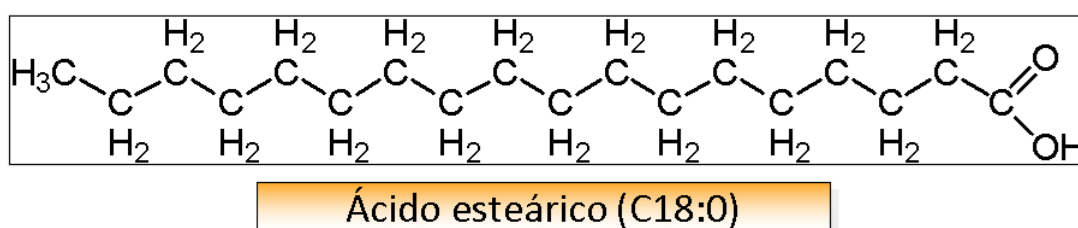


Figura 2.7: Representação estrutural de um ácido graxo saturado [17].

Os ácidos graxos saturados podem ser subclassificados de acordo com a quantidade de átomos de carbono na cadeia. Sendo assim, os ácidos graxos com cadeia curta possuem de 4 a 8 átomos de carbono, os de cadeia média têm de 8 a 12 átomos de carbono, enquanto que os ácidos graxos saturados com cadeia longa possuem mais 12 átomos de carbono [14]. A maioria dos ácidos graxos sem insaturações encontrados na dieta animal e vegetal possuem cadeia média e longa [19]. Por sua vez, os ácidos graxos saturados com cadeia muito longa (21 ou mais átomos de carbono) raramente ocorrem em óleos comestíveis, mas eles são encontrados em ceras [10].

É necessário ressaltar que os ácidos graxos com cadeias muito curtas (ácido metanóico, ácido etanóico e ácido propanóico) não são comumente encontrados em gorduras naturais, entretanto eles são encontrados, na forma não esterificada, em muitos produtos alimentícios [14].

A tabela 2.2.5 apresenta os principais ácidos graxos saturados comumente encontrados em óleos e gorduras.

Tabela 2.3: Principais ácidos graxos saturados encontrados em óleos e gorduras [adaptado de [10]].

Nome trivial	Nome sistemático	Número de átomos de C	Ponto de fusão (°C)	Principais fontes
Ácidos Graxos Saturados de Cadeia Curta				
Butírico	Butanóico	4	-8	Manteiga
Caproíco	Hexanóico	6	-3, 4	Manteiga
Caprilíco	Octanóico	8	16, 7	Gordura de coco
Ácidos Graxos Saturados de Cadeia Média				
Cáprico	Decanóico	10	31, 6	Gordura de coco
Láurico	Dodecanóico	10	44, 2	Gordura de coco
Ácidos Graxos Saturados de Cadeia Longa				
Mirístico	Tetradecanóico	14	54, 4	Manteiga e gordura de coco
Palmítico	Hexadecanóico	16	62, 9	Gordura animal e óleos vegetais
Estearíco	Octadecanóico	18	69, 6	Gordura animal e óleos vegetais

Conforme evidenciado pela tabela 2.2.5, os ácidos graxos com cadeia contendo menos 10 átomos de carbono são líquidos à temperatura ambiente (20°C), enquanto aqueles com 10 ou mais átomos de carbono são sólidos a mesma temperatura, ocorrendo um aumento do ponto de fusão com o aumento do comprimento da cadeia [10]. Dessa forma, as propriedades físicas (ponto de fusão, ponto de ebulição e solubilidade) dos ácidos graxos são influenciadas pela quantidade de

átomos de carbono na cadeia, assim como a presença ou ausência de insaturações na estrutura. Os ácidos graxos saturados mais comuns em alimentos são o ácido láurico, o ácido mirístico, o ácido palmítico e o ácido esteárico com 12, 14, 16 e 18 átomos de carbono, respectivamente [10]. Em gorduras animais como as manteigas, as gorduras das carnes bovinas e as gorduras de frangos, o ácido graxo mais abundante é o palmítico. Como o próprio nome sugere, ele é o principal ácido graxo do óleo de palma. O ácido esteárico é o segundo ácido graxo saturado mais abundante em gorduras animais, mas é muito menos abundante em gorduras de frangos do que em gorduras de origens bovinas. O ácido láurico e o ácido mirístico prevalecem no óleo de coco [14, 18, 19].

Os ácidos graxos saturados adquiriram uma má reputação porque muitos deles, quando ingeridos, aumentam os níveis de colesterol no sangue e, assim, foram associados positivamente ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares [20]. Entre os ácidos graxos saturados, o aumento nos níveis de colesterol no sangue é observado principalmente na ingestão do ácido palmítico e do ácido mirístico, porém o ácido esteárico não apresenta o mesmo comportamento pois ele é rapidamente convertido em ácido oleico (ácido graxo insaturado) no fígado [20].

Em relação ao consumo dos ácidos graxos saturados, a Organização Mundial da Saúde (OMS) preconiza que o consumo de gorduras saturadas seja de, no máximo, 10% do valor energético total diário [21]. Entretanto, os ácidos graxos saturados são fontes de energia para manter o funcionamento do organismo em tempo integral e, em especial o ácido esteárico, parece não aumentar os níveis de colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade) no sangue [20]. Dessa forma, os pesquisadores ressaltaram que os efeitos dos ácidos graxos saturados podem ser controversos, pois a maioria dos estudos compara os ácidos graxos saturados a outros nutrientes substitutivos [20, 22].

2.2.6 Ácidos Graxos Insaturados

Os ácidos graxos insaturados são aqueles que contêm uma ou mais ligações duplas na sua cadeia de carbonos. Para haver a formação de uma ligação dupla na cadeia hidrocarbonada é necessária a substituição de um par de átomos de hidrogênio; um átomo de hidrogênio de cada átomo de carbono adjacente [2]. Assim, os ácidos graxos insaturados são descritos em função do comprimento da cadeia hidrocarbonada e pelo número e localização de suas ligações duplas [14].

A introdução de uma ligação dupla, ou mais, na configuração *cis* na estrutura gera uma cur-

vatura na cadeia hidrocarbonada, desfavorecendo a formação de cristais e diminuindo o ponto de fusão do ácido graxo [9,13]. Os ácidos graxos saturados na configuração estendida, por sua vez, possuem uma forma uniforme de modo que favorece a um empacotamento eficiente, no qual obtém-se arranjos quase cristalinos [9,13].

A figura 2.8 mostra o efeito que a ligação dupla (na configuração *cis*) gera na estrutura e sua relação com o ponto de fusão dos ácidos graxos saturados e insaturados.

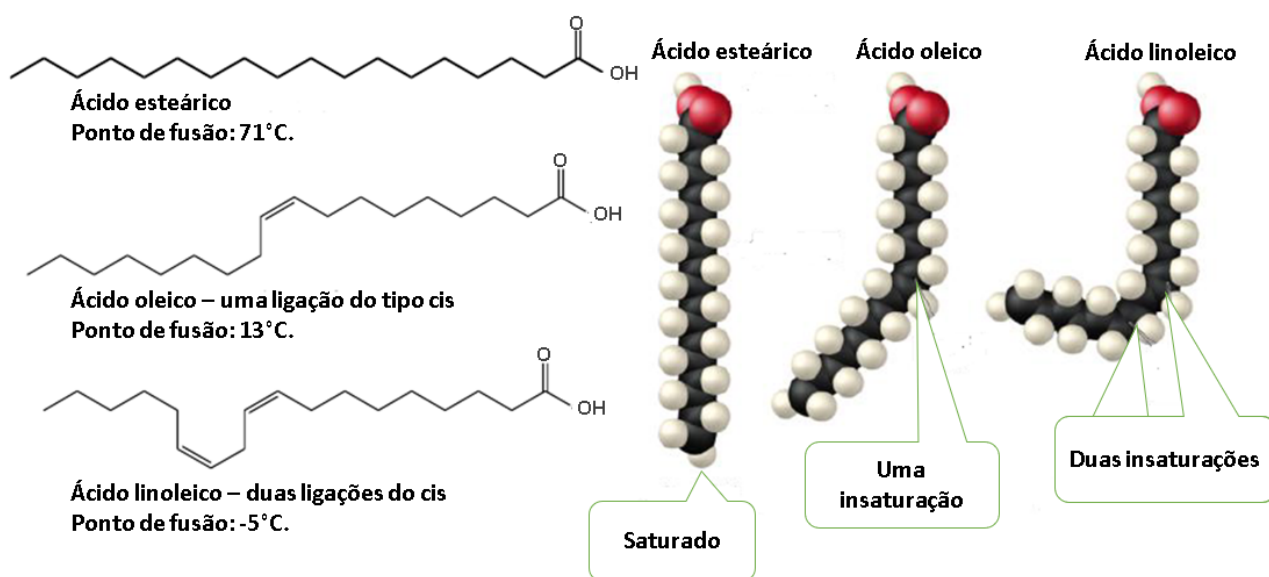


Figura 2.8: Representação da curvatura gerada na cadeia hidrocarbonada devido à presença de insaturação na configuração *cis* e sua relação com ponto de fusão dos ácidos graxos [adaptado de [13]].

A localização das ligações duplas na cadeia é feita com base na convenção ômega, ou seja, o átomo de carbono da metila recebe o número 1 (carbono ω) e a posição da insaturação é indicada em relação a esse átomo de carbono [13,23]. Dessa forma, os ácidos graxos insaturados podem ser agrupados nas famílias $\omega - 3$ (primeira ligação dupla entre os carbonos 3 e 4), $\omega - 6$ (primeira ligação dupla entre os carbonos 6 e 7) e $\omega - 9$ (primeira ligação dupla entre os carbonos 9 e 10) pois é possível a ocorrência de interconversão entre os compostos da mesma família, mas não entre as famílias diferentes [14,24]. Por exemplo, dentro da série do $\omega - 3$, o ácido alfa-linolênico (ALA) pode ser convertido em ácido eicosapentanóico (EPA) e em ácido decosahexanóico (DHL). Enquanto o ácido linoleico ($\omega - 6$) pode ser convertido em ácido araquidônico (AA). Cabe ressaltar que não é possível converter compostos $\omega - 6$ em $\omega - 3$, ou vice-versa, pois o metabolismo não permite a conversão [14,24].

Quando comparados aos ácidos graxos saturados, os ácidos graxos insaturados possuem menor

estabilidade frente a processos degradativos, principalmente a oxidação. De modo geral, a instabilidade aumenta na medida em que o número de insaturações aumenta [2]. Devido à instabilidade e a facilidade em sofrerem isomeria geométrica e de posição, os ácidos graxos insaturados são mais difíceis de serem isolados, purificados e caracterizados do que os ácidos graxos saturados [10].

Os ácidos graxos insaturados são, na maioria das vezes, de ocorrência natural podendo ser encontrados em plantas e animais. Grande parte desses ácidos graxos possuem um número par de átomos de carbono (geralmente 18) e ligações duplas na configuração *cis* [10].

A tabela 2.4 mostra os ácidos graxos insaturados mais importantes para os seres humanos e suas fontes.

Tabela 2.4: Principais ácidos graxos insaturados [adaptado de [10]].

Símbolo	Nome trivial	Nome químico	Ponto de fusão (°C)	Principais fontes
Ácidos graxos monoinsaturados				
C16 : 1 ($\omega - 7$)	Palmitoléico	9-hexadecenóico	–	Gorduras do leite, óleos marinhos
C18 : 1 ($\omega - 9$)	Oleico	9-octadecenóico	16, 3	Óleo de oliva
C18 : 1 ($\omega - 9$)	Elaídico	trans-9-octadecenóico	45	Gordura animal
C22 : 1 ($\omega - 9$)	Ertúico	13-docosenóico	33, 5	Óleo de colza
Ácidos graxos poli-insaturados				
C18 : 2 ($\omega - 6$)	Linoleico	9, 12-octadecadienóico	–5	Oleos de açafrão, girassol, algodão
C18 : 3 ($\omega - 3$)	Linolênico	9, 12, 15-octadecatrienóico	–11	Óleos de linhaça e cânhamo
C20 : 4 ($\omega - 6$)	Araquidônico	5, 8, 11, 14 -eicosatetraenóico	–49, 5	Carnes e gorduras animais
C20 : 5 ($\omega - 3$) EPA	5, 8, 11, 14, 17 -eicosapentaenóico	–	Óleos marinhos	
C22 : 6 ($\omega - 3$)	DHA	4, 7, 10, 13, 16, 19 -docosa-hexaenóico	–	Óleos marinhos

Baseado na quantidade de ligações duplas existentes na cadeia hidrocarbônica, ácidos graxos podem ser classificados como monoinsaturados ou poli-insaturados.

2.2.6.1 Ácidos Graxos Monoinsaturados

Os ácidos graxos monoinsaturados são caracterizados por possuírem uma insaturação na cadeia hidrocarbônica [25]. Nesses compostos, a ligação dupla, na maioria das vezes, está localizada entre os átomos de carbonos 9 e 10, sendo pertencentes a família $\omega - 9$ [10, 25]. O principal representante dos ácidos graxos monoinsaturados é o ácido oleico ($\omega - 9$), sendo o mais frequentemente encontrado na natureza. As principais fontes do ácido oleico são os óleos de oliva, canola, soja, cártamo, milho e amendoim. Entretanto, ele pode ser sintetizado por

mamíferos [10, 25, 26].

Algumas gorduras animais têm ácidos graxos predominantemente monoinsaturados. A gordura de frango e a banha são exemplos conhecidos. Peixes bagre criados em canais nas fazendas possuem principalmente ácidos graxos monoinsaturados, pois sementes ricas em monoinsaturados são utilizadas no crescimento desses peixes. Além desses exemplos, destaca-se o sebo bovino que possui 44% de ácido oleico na sua distribuição graxa [26, 27].

Estudos realizados mostraram os efeitos que a dieta do Mediterrâneo, conhecida atualmente por ter efeitos cardioprotetores, possui. Esse padrão alimentar é caracterizado por um elevado consumo de ácidos graxos monoinsaturados, por meio de azeitonas e azeite de oliva, associados com a ingestão de frutas, legumes, peixes e pequena quantidade de produtos lácteos e carne vermelha [28].

A conclusão do estudo revelou que a ingestão de ácidos graxos monoinsaturados é inversamente proporcional aos valores de pressão arterial, em pacientes humanos. Entretanto, essa resposta é somente observada diante da ingestão de azeite de oliva (rico em ácido oleico) e não nas dietas ocidentais, onde as fontes de ácidos graxos monoinsaturados são alguns tipos de carne [28].

Acredita-se que a redução na pressão arterial, verificada com o azeite de oliva, seja mediada pela mudança na constituição dos ácidos graxos nas membranas celulares [29]. Os estudos indicam ainda, no contexto da dieta do Mediterrâneo, que a ingestão de ácidos graxos monoinsaturados está relacionada com menores riscos de desenvolvimento de doença arterial coronariana e morte [30].

2.2.6.2 Ácidos Graxos Poli-insaturados

Os ácidos graxos poli-insaturados, assim chamados por contentem duas ou mais insaturações em configuração *cis* na cadeia hidrocarbonada, são caracterizados pela localização das ligações duplas [19]. Essas ligações duplas, na maioria das vezes, não são conjugadas, mas sim separadas por um grupo metileno ($—CH_2—$) alternando ligações simples e duplas [25]. Quando há ocorrência de ligações duplas conjugadas, verifica-se um aumento na susceptibilidade dos ácidos graxos sofrerem algumas reações químicas, como a oxidação e a polimerização [25]. Foi reportado em estudos que em algumas plantas, os ácidos graxos poli-insaturados têm ligações duplas conjugadas [10, 13].

Os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa de maior importância para o metabolismo humano são chamados de “essenciais” porque eles não podem ser sintetizados pelo corpo e

devem ser consumidos sob a forma de gorduras. Eles não podem ser sintetizados por humanos, e outros mamíferos, devido à ausência de enzimas endógenas para dessaturação, ou seja, os animais não tem capacidade de dessaturar para extremidade metila e, portanto, a conversão de membros de uma família ômega em outra não possível em mamíferos [3, 31].

Os ácidos graxos poli-insaturados podem ser classificados de várias maneiras. Tendo em vista que eles apresentam grande importância nutricional, pois nessa classe encontram-se os ácidos graxos essenciais, utiliza-se a convenção ômega para classifica-los [13]. Os ácidos graxos das famílias $\omega - 3$ e $\omega - 6$ são os principais representantes dos ácidos graxos poli-insaturados e têm funções importantes relacionadas aos processos de coagulação e inflamação [27].

O ácido alfa linolênico ($\omega - 3$) e o ácido linoleico ($\omega - 6$), figura 2.9, são essenciais para a alimentação humana, entretanto o ser humano, assim como os demais animais, não é capaz de sintetizá-los [25]. Dessa forma, eles devem ser consumidos através da dieta, pois eles possuem importantes funções estruturais, antioxidantes, prevenção de doenças cardíacas e anti-inflamatória. Tais propriedades são indicativas do potencial dos ácidos graxos poli-insaturados para fins nutracêuticos e farmacêuticos [3, 32].

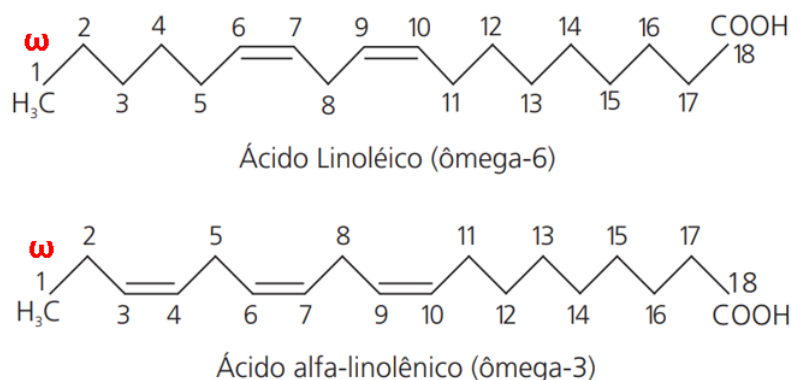


Figura 2.9: Representação dos ácidos graxos essenciais $\omega - 3$ e $\omega - 6$ [adaptado de [32]].

O ácido alfa linolênico ($C_{18} : 3$, $\omega - 3$) é um ácido graxo poli-insaturado bastante difundido na natureza, sendo um importante componente de óleos vegetais altamente insaturados [10]. Ele possui importantes funções para o metabolismo e para a manutenção da saúde humana, portanto eles são usados como suplementos nutricionais para saúde em geral e prevenção de doenças [3]. Cabe destacar que esse ácido graxo essencial pode ser metabolizado e originar outros ácidos da família $\omega - 3$ com insaturações *cis*, ácido eicosapentaenóico (EPA, $C_{20} : 5$) (figura 2.10 - (a)) e ácido docosahexaenóico (DHA, $C_{22} : 6$) (figura 2.10 - (b)), por meio

de processos enzimáticos que envolvem aumento no tamanho (enzimas elongazes) e no grau de insaturação (enzimas dessaturases) da cadeia carbônica [10, 32]. Esse processo ocorre no retículo endoplasmático, especialmente no fígado [32].

É importante ressaltar que o aumento da insaturação resulta na alta reatividade e instabilidade oxidativa das ligações duplas [25]. Atualmente, os únicos alimentos que aparecem como fontes expressivas de ácidos graxos da família $\omega - 3$, com maior número de insaturações (EPA e DHA), são peixes e os crustáceos [10].

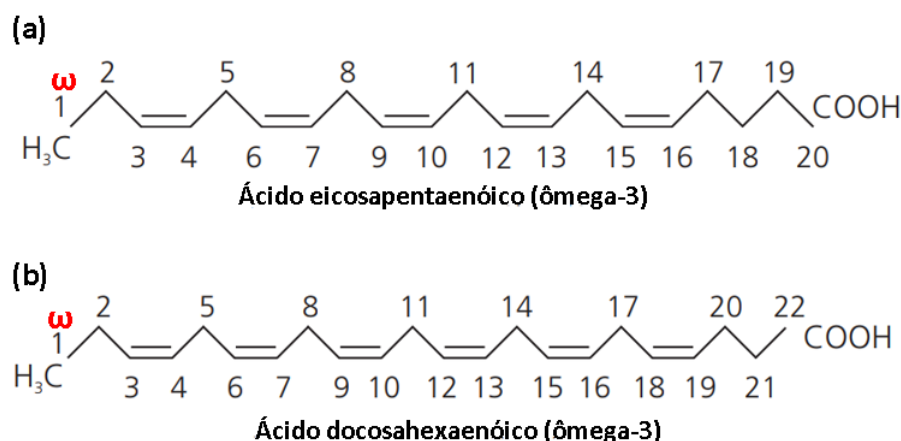


Figura 2.10: Representação estrutural do (a) ácido eicosapentaenóico e do (b) ácido docosahexaenóico, ambos sintetizados a partir do ácido alfa linolênico (um ácido graxo essencial) da família $\omega - 3$ [adaptado de [32]].

O ácido linoleico é um ácido graxo essencial (família $\omega - 6$) para o desenvolvimento humano (crescimento) e para a saúde em geral. Esse composto é um componente principal de muitos óleos vegetais, incluindo os óleos de girassol, prímula, algodão, amendoim, soja e milho. Entretanto, esse ácido graxo não é encontrado em óleos de animais marinhos. O ácido linoleico foi considerado, por muito tempo, como ácido graxo mais importante pois ele é convertido no organismo em outro ácido graxo da família $\omega - 6$, denominado ácido graxo araquidônico ($C_{20} : 4$) [12, 33]. O ácido araquidônico (AA), figura 2.11, juntamente com o ácido eicosapentaenóico, dá origem aos eicosanóides (mediadores inflamatórios de origem lipídica), sendo o AA o principal substrato para a síntese dos eicosanóides [34]. Além disso, o ácido araquidônico é importante no crescimento fetal, no controle da pressão sanguínea, no desenvolvimento do cérebro e da retina e no controle de agregação plaquetária [25, 34].

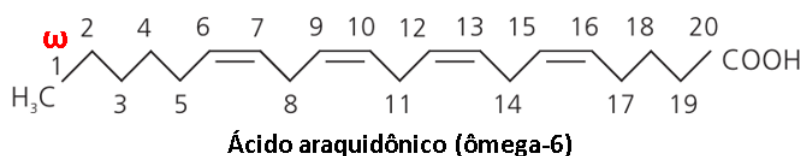


Figura 2.11: Representação estrutural do ácido araquidônico (família $\omega - 3$) [adaptado de [32]].

A biorreação de alongamento da cadeia hidrocarbonada e desidrogenação dos ácidos graxos alfa-linolênico e linoleico pode ser visualizada na figura 2.12.

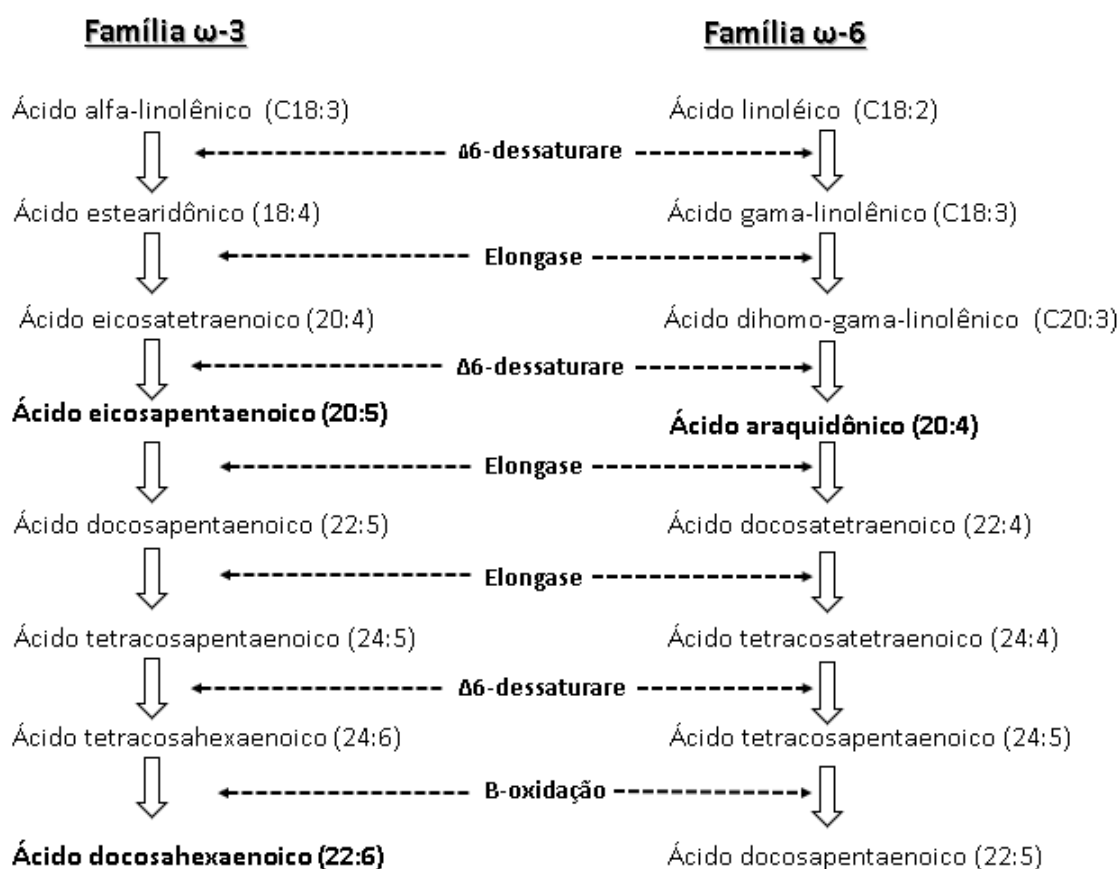


Figura 2.12: Cascata de eventos do metabolismo dos ácidos graxos das famílias $\omega - 3$ e $\omega - 6$ [adaptado de [34]].

Destaca-se que os ácidos graxos das famílias $\omega - 3$ e $\omega - 6$ utilizam as mesmas enzimas para a dessaturação e alongamento das cadeias carbônicas e, desta forma, acredita-se que existe uma competição entre os ácidos graxos essenciais pelas enzimas dessaturase e elongase [34]. Apesar dessas enzimas possuírem mais afinidade pelos ácidos graxos da $\omega - 3$, a conversão do ácido graxo alfa-linolênico em ácido graxo de cadeia longa é fortemente influenciada pelos níveis de ácido linoleico na dieta, dando origem a uma quantidade maior de ácido araquidônico

e seus eicosanóides [25]. Nesse contexto, a ingestão adequada das duas séries de ácidos graxos poli-insaturados assume grande importância na saúde humana [25, 34].

2.2.7 Ácidos Graxos Trans

Um aspecto importante dos ácidos graxos insaturados é que eles apresentam isômeros geométricos cis e trans [12]. A maior parte dos ácidos graxos insaturados presentes nos alimentos apresentam configuração cis, pois essa forma é termodinamicamente mais estável em virtude da tensão provocada pelos seguimentos volumosos presentes no mesmo lado da ligação dupla [2]. Os isômeros cis são encontrados com maior frequência em óleos vegetais comestíveis e gorduras; os isômeros trans são encontrados em pequenas quantidades em gorduras animais e elas podem ser obtidas durante o processamento de óleos e gorduras [2, 12].

A figura 2.13 traz as conformações de dois isômeros geométricos de ácidos graxos monoinsaturados, o ácido oleico ($C_{18} : 1\Delta^9$ cis) e o ácido elaídico ($C_{18} : 1\delta^9$ trans).

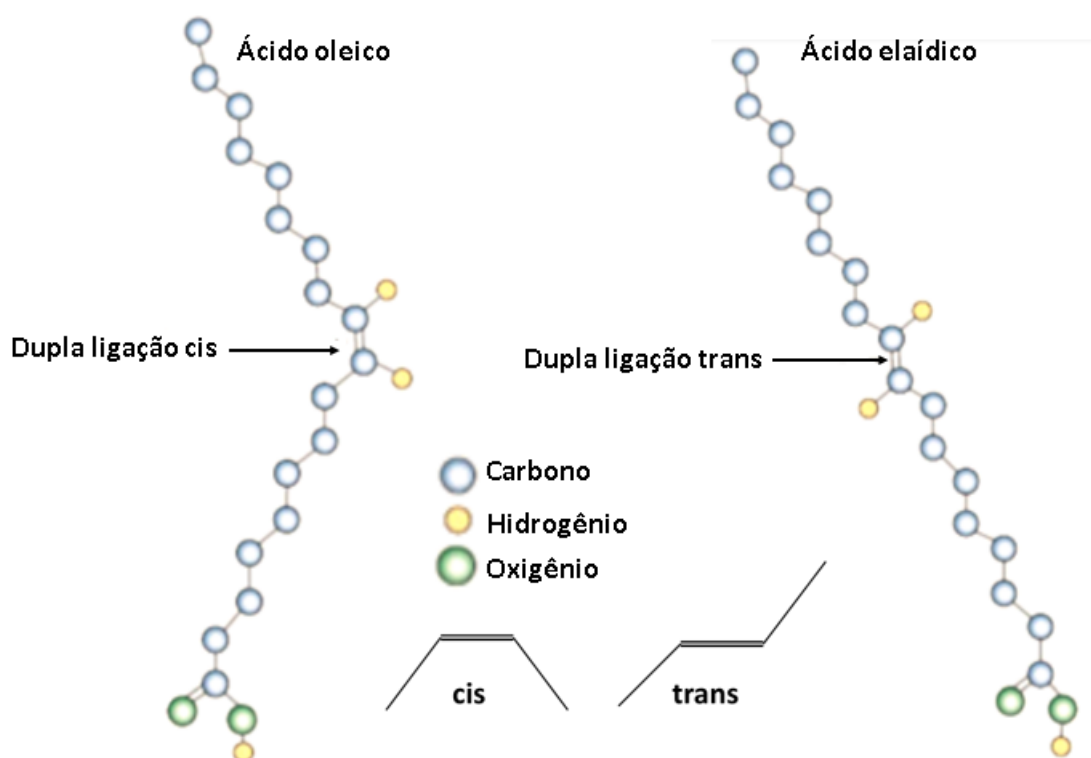


Figura 2.13: Conformação de dois isômeros geométricos de ácidos graxos [adaptado de [35]].

As formas cis e trans apresentam diferentes organizações e, conseqüentemente, dão diferentes propriedades físicas e químicas aos ácidos graxos. A ligação dupla trans resulta num menor ângulo de ligação e menor energia, ou seja, a estrutura espacial em torno da ligação dupla é mais

linear em comparação a ligação dupla cis [36]. Em consequência, é mais provável que as cadeias de ácidos graxos se alinhem, o que aumenta seu ponto de fusão e viscosidade em temperatura ambiente [12, 36]. Em outras palavras, o isomerismo trans aproxima a configuração do ácido graxo àquela de um ácido graxo saturado, modificando suas propriedades termodinâmicas e aumentando sua estabilidade [12, 25, 36].

À medida que o número de ligações duplas aumenta, o número de isômeros geométricos e posicionais tornam-se maiores. Por exemplo, um ácido graxo com duas ligações duplas possui quatro isômeros geométricos: cis-cis, cis-trans, trans-cis e trans-trans [12]. Desse modo, os ácidos graxos trans contemplam todos os tipos de ácidos graxos insaturados que têm, pelo menos, uma ligação dupla na conformação trans [36].

Em relação à origem, os ácidos graxos trans podem ser produzidos pelo ser humano através de diferentes processos tecnológicos ou podem ser sintetizados naturalmente por animais ruminantes (bovinos, ovinos e caprinos) [12, 25]. Os ácidos graxos trans de ruminantes são formados através do metabolismo lipídico que ocorre no rúmen e nas glândulas mamárias destes animais [37]. Dessa forma, a gordura presente na carne e no leite de animais ruminantes contém uma variedade de ácidos graxos trans, sendo que o ácido vacênico ($C18 : 1\Delta^1\text{trans}$) é o principal ácido graxo trans encontrado na gordura desses animais [37, 38].

Por outro lado, os ácidos graxos trans produzidos nas indústrias podem ser obtidos por hidrogenação parcial ou total de óleos vegetais e marinhos [25, 38]. A hidrogenação é um processo industrial que transforma óleos líquidos insaturados em gorduras sólidas [35]. A hidrogenação aumenta a estabilidade oxidativa dos óleos, prolongando sua vida útil e contribuindo para propriedades organolépticas desejáveis para fabricação de diversos alimentos industrializados [38]. Cerca de 90% do consumo de ácidos graxos trans são provenientes de alimentos que sofreram o processo de hidrogenação industrial [25]. O principal isômero trans formado durante a hidrogenação de óleos vegetais é o ácido elaídico ($C18 : 1\Delta^9\text{trans}$) [25, 38]. Outros processos tecnológicos como desodorização de óleos marinhos e vegetais, fritura com altas temperaturas e por longos períodos e isomerização alcalina do ácido linoleico podem produzir ácidos graxos trans [25, 39].

Dentro da classe dos ácidos graxos trans, existe um grupo formado pelos isômeros geométricos e posicionais do ácido linoleico, chamado de ácido linoleico conjugado (*Conjugated Linoleic Acid* - CLA) [25, 39]. As ligações duplas no CLA são conjugadas e não separadas por um grupo metileno e esse composto não substitui o ácido linoleico ($C18 : 2$) como ácido graxo essencial [39]. Os isômeros CLA ocorrem naturalmente em alimentos derivados de animais

ruminantes devido ao processo de bio-hidrogenação bacteriana do ácido linoleico e também é encontrado em uma variedade de outros produtos alimentícios, tais como mariscos, perus e óleos vegetais [39]. As maiores concentrações de CLA nos alimentos são encontradas em produtos lácteos e nas carnes de ruminantes. Na maioria dos casos, o isômero *cis*–9, *trans*–11, chamado de ácido rumênico, é o isômero predominante do CLA encontrado em alimentos, exceto nos óleos vegetais que podem conter vários outros isômeros [39]. Esse isômero pode passar pelos processos de alongamento e dessaturação semelhante aos que ocorrem com o ácido linoleico, mantendo a estrutura conjugada [39].

Os ácidos graxos trans não são sintetizados pelos seres humanos e não são necessários na sua dieta [40]. Entretanto, o efeito dos isômeros trans tem despertado grande interesse, principalmente, no que diz respeito aos aspectos de digestibilidade, metabolismo, absorção e acúmulo no organismo e seus efeitos nas funções de transporte e deposição nas artérias, doenças cardíacas e câncer [12]. Estudos evidenciaram que os dois isômeros do CLA (*cis*–9, *trans*–11 e *cis*–12, *trans*–10) formados durante a bio-hidrogenação possuem atividade biológica positiva, tais como anticarcinogênese, antiesclerose e inibição de radicais livre [25, 39, 41]. Entretanto, o ácido graxo trans elaídico é o isômero mais associados a doenças, tais como doenças cardiovasculares, câncer e doenças materno-infantis, dentre outras [25, 42],

2.3 Acilgliceróis

O glicerol atua como a espinha dorsal do álcool para uma ampla variedade de lipídios [43]. Esse composto apresenta três grupos de álcool ligados aos átomos de carbono, nos quais os carbonos são designados por algarismos arábicos ou letras gregas (figura 2.14) [43].

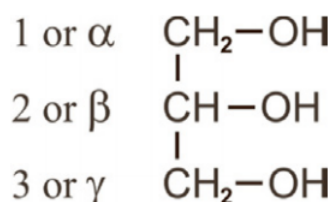


Figura 2.14: Representação estrutural do tri-álcool glicerol [adaptado de [43]].

Os ácidos graxos, geralmente, não são encontrados na natureza como ácidos livres, mas principalmente como ésteres com glicerol, sendo assim chamados de acilgliceróis, ou seja, os acilgliceróis são produtos de condensação entre uma molécula de glicerol e uma, duas ou três

moléculas de ácidos graxos [10, 44].

De acordo com o número de ácidos graxos que estão ligados ao glicerol, os acilgliceróis podem ser divididos em monoacilgliceróis (um ácido graxo), diacilgliceróis (dois ácidos graxos) e triacilgliceróis (três ácidos graxos), conforme mostra a figura 2.15, [2]. Os termos mono-, di- e triglicerídeos, amplamente usados, não são corretos e deveriam ser abandonados [43].

Os acilgliceróis são menos densos do que a água e são insolúveis nesse solvente polar [18]. Entretanto, os mono- e os diacilgliceróis são moléculas polares devido aos grupos hidroxilas livres e, assim, eles têm potenciais para serem emulsificantes [43]. Os triacilgliceróis são solúveis em clorofórmio, em éter e em álcool, sendo esses os solventes que são usados para extraí-los dos tecidos orgânicos [43].

Os acilgliceróis são denominados de homoacilgliceróis quando os ácidos graxos nos di- e nos triacilgliceróis são os mesmos; se eles forem diferentes, os acilgliceróis são chamados de heteroacilgliceróis [18, 43]. Os heteroacilgliceróis apresentam isomerismo estrutural e óptico. Além disso, os acilgliceróis que apresentam ácidos graxos insaturados em sua estrutura são líquidos em temperatura ambiente ou sólidos com baixa temperatura de fusão, enquanto que aqueles constituídos por ácidos graxos saturados de cadeias longas são sólidos em temperatura ambiente e possuem altas temperaturas de fusão [43].

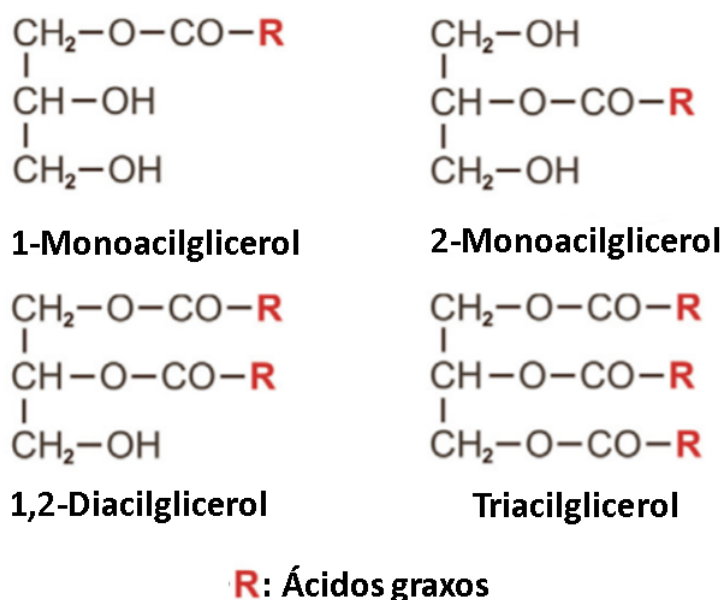


Figura 2.15: Representação estrutural dos acilgliceróis [adaptado de [43]].

Os monoacilgliceróis são monoésteres de ácidos graxos com glicerol e são especialmente usados na indústria alimentícia devido às suas propriedades emulsificantes e tensoativas [18]. Destaca-se que no composto 1-monoacilglicerol o átomo de carbono 2 é assimétrico ou quiral, produzindo

dois isômeros que têm a mesma conectividade, mas que diferem no arranjo dos átomos no espaço (estereoisômeros) [43].

Os diacilgliceróis são diésteres de ácidos graxos com glicerol e geram dois estereoisômeros, na qual o átomo de carbono dois é assimétrico quando os átomos de carbono um e três são esterificados por diferentes grupos acila [18, 43].

Um triacilglicerol consiste de três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol [36]. Se todos os ácidos graxos que ocupam as três posições na estrutura são idênticos, o composto é chamado de triacilglicerol simples e sua nomenclatura é derivado do ácido graxo que ele contém [13]. Entretanto, a maioria dos triacilgliceróis de ocorrência natural é mista, pois contêm dois ou três ácidos graxos diferentes na molécula [13, 36].

Os triacilgliceróis podem ser obtidos através da reação de esterificação de ácidos graxos com três grupos hidroxilas do glicerol, conforme mostra a figura 2.16. Como as hidroxilas polares do glicerol e os carboxilatos polares dos ácidos graxos estão em ligação éster, os triacilgliceróis são moléculas apolares, hidrofóbicas e essencialmente insolúveis em água [13]. A desesterificação de um triacilglicerol é chamada de reação de saponificação, usada, por exemplo, na produção de sabão [18]. Além disso, é possível alterar a composição dos triacilgliceróis por meio da reação de interesterificação [18].

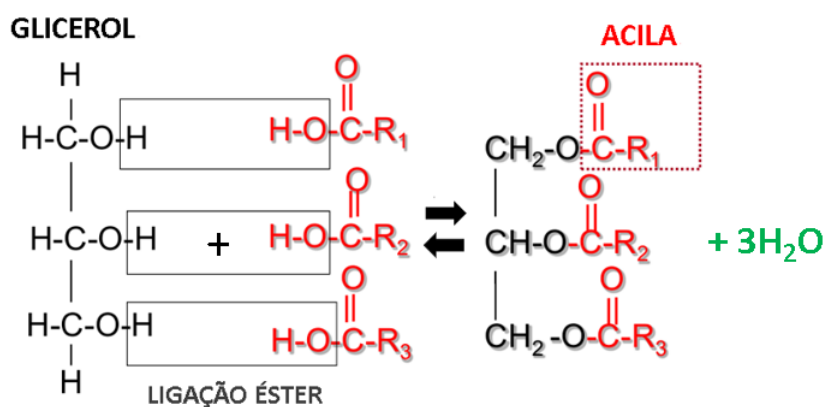


Figura 2.16: Reação de esterificação entre glicerol e ácidos graxos (R_1 , R_2 e R_3) e formação dos triacilgliceróis [17].

O número de espécies moleculares dos triacilgliceróis depende do número dos diferentes tipos de ácidos graxos disponíveis para realizarem as reações de esterificação com glicerol, na qual quanto maior a quantidade de ácidos graxos, maior será a possibilidade de formarem os triacilgliceróis e seus respectivos estereoisômeros [18, 44]. Por exemplo, com dois tipos diferentes de ácidos graxos existem 8 tipos de triacilgliceróis (incluindo os seus estereoisômeros); para o caso de três

ácidos graxos, esse número é 27. A tabela 2.5 mostra de forma resumida as relações entre as quantidade de ácidos graxos e a formação dos triacilgliceróis.

Tabela 2.5: Relação entre o número de ácidos graxos e o número máximo de triacilgliceróis que podem ser formados por eles [18].

Triacilgliceróis	Número de ácidos graxos			
	5	10	20	n
Todos isômeros distintos	125	1000	8000	n^3
Excluindo isômeros ópticos	75	550	4200	$(n^3 + n^2) \div 2$
Ausência de isômeros distintos	35	220	1540	$(n^3 + 3n^2 + 2n) \div 6$

Nos óleos vegetais e nas gorduras animais, os ácidos graxos estão, em sua maioria, presentes na forma de uma mistura de triacilgliceróis simples e mistos [2]. Entretanto, pequenas quantidades de mono- e diacilgliceróis podem ser encontradas [2]. Os triacilgliceróis que apresentam ácidos graxos poli-insaturados em sua estrutura, normalmente, são líquidos à 25 °C, enquanto os que contêm ácidos graxos saturados são sólidos ou pastosos nessa temperatura [11].

2.4 Óleos Vegetais

Os óleos vegetais são constituídos, principalmente, por triacilgliceróis (mais de 90% do peso molecular) e uma complexa mistura de compostos minoritários (2 – 5%) de natureza química bastante variada [1]. A maior parte dos triacilgliceróis têm as estruturas das moléculas de gliceróis idênticas, de modo que os ácidos graxos são os responsáveis pelas diferentes propriedades que os óleos e as gorduras apresentam [1].

De modo geral, as propriedades físicas e químicas dos óleos e das gorduras naturais variam amplamente devido às suas características moleculares, como as proporções de ácidos graxos e as estruturas dos triacilgliceróis [18]. Por exemplo, o aumento do número de átomos de carbono na cadeia dos ácidos graxos eleva o ponto de fusão em função do aumento das interações de van der Waals entre as moléculas [2]. Por sua vez, para um mesmo número de átomos de carbono, a presença de insaturações diminui o ponto de fusão, sendo esse efeito mais pronunciado para a dupla ligação na forma *cis*, visto que sua curvatura gerada por essa conformação dificulta a aproximação das moléculas, reduzindo as interações de van der Waals [2].

As posições dos ácidos graxos em relação a molécula de glicerol é outro parâmetro que interfere nas características macroscópicas desses produtos [1,2]. Por exemplo, a viscosidade é alterada em função das modificações estruturais dos ácidos graxos, sendo observado viscosidades mais elevadas com o aumento do comprimento da cadeia carbônica [2]. Em contrapartida, é verificada uma diminuição da viscosidade com o aumento das insaturações, pois as interações de van der Waals entre as moléculas diminuem [2].

As gorduras e os óleos são formados por misturas de triacilgliceróis [11,19]. As gorduras são constituídas por triacilgliceróis que possuem um número de saturações maior do que o de insaturações, conferindo-lhes maior ponto de fusão [2,11]. Os óleos, por sua vez, contêm um número maior de insaturações e, assim, apresentam menor ponto de fusão [2,11].

A diferença entre óleos e gorduras foi definida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da resolução da Diretoria Colegiada - RDC de nº. 481, de 15 de março de 2021. Desse modo, ficou definido que a classificação de lipídeos graxos em óleos e gorduras não depende da natureza da fonte oleaginosa, mas apenas do ponto de fusão da mistura na temperatura de 25 °C [45]. Segundo essa resolução, em 25 °C os óleos são líquidos e a gorduras são sólidas ou pastosas [45].

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os óleos vegetais são definidos como "produtos constituídos principalmente de glicerídeos de ácidos graxos, podendo conter pequenas quantidades de outros lipídios tais como fosfolipídeos, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres naturalmente presentes no óleo" [45].

Muitos óleos vegetais podem ser obtidos de sementes de plantas, que geralmente fornecem dois produtos - um óleo e uma parte sólida resultante da moagem (conhecida como torta) rica em proteína [18]. Não existe um processo único de extração e purificação de óleos e gorduras, pois ele depende das características da fonte [11]. Entretanto, as formas mais comuns de extrair o óleo dos grãos são por prensagem ou por extração com solvente [2]. Uma combinação desses dois processos, chamado de sistema misto de extração, também pode ser usada para obter o óleo bruto. Os óleos e a gorduras obtidos, geralmente, passam por processos posteriores de purificação, a fim de ajustar suas propriedades físicas e químicas [11].

Os azeites podem ser classificados como uma categoria especial de óleos e eles são muito conhecidos e usados atualmente na culinária, assim como alimentos funcionais [46]. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) denominou como azeite de oliva o produto obtido especificamente dos frutos da oliveira (*Olea europaea L.*) excluído todo e qualquer óleo

obtido pelo uso de solvente, por processo de reesterificação ou pela mistura com outros óleos, independentemente de suas proporções [47]. Entretanto, a palavra 'azeite' é considerado um termo genérico para óleos extraídos das polpas de frutos (de oliva, de dendê, de abacate, etc) por processos mecânicos ou outros meios físicos, ou seja, sem utilização de solventes e mantendo-se a natureza original do produto [10]. O processo, comumente, empregado para obter o azeite é a prensagem hidráulica.

A denominação de óleos, ou azeites, virgens ou extravirgens é dada aos casos especiais em que, após o processo de prensagem mecânica, necessitam apenas de filtragem para remoção de partículas sólidas, ou seja, esses óleos podem ser consumidos diretamente após a prensagem [11]. A diferença entre esses dois tipos de óleos, ou azeites, se refere ao nível de acidez; o azeite de oliva extra virgem deve possuir acidez livre de no máximo 0,8%, expresso em ácido oléico, enquanto que o azeite de oliva virgem deve conter no máximo 2%, expresso em ácido oléico [48]. O óleo extravirgem é o produto de uma primeira prensagem a frio (temperatura ambiente), enquanto que o óleo virgem é obtido por prensagem adicional da mesma torta, após a prensagem que deu origem ao extra virgem, ainda a frio [2].

2.4.1 Extração por Prensagem a Frio

A prensagem mecânica é um dos processos mais antigos de extração de óleos e de gorduras [11]. Esse método é definido como um sistema de separação de fase sólido-líquido por meio de pressão e, assim, é possível se obter óleo a partir de sementes e de frutos [49].

O método de prensagem é denominado prensagem a frio quando não existe aplicação de temperatura durante a prensagem [1]. Além desse método, existe a prensagem a quente, no qual se utiliza a elevação de temperatura para extração do óleo [1].

A prensagem a frio destaca-se por ser um método simples, rápido e ainda poder ser combinado com outros sistemas de extração, como os que utilizam solventes, originando um processo misto [49, 50]. O processo de prensagem a frio apresenta ainda a vantagem de gerar menor custo para a indústria em relação a extração por solvente, pois não necessita de aquecimento ou solventes orgânicos, mas apenas da energia mecânica, que apresenta um menor consumo de eletricidade [49, 50].

Em geral, os equipamentos de prensagem a frio são formados por prensas contínuas tipo parafusos, em que um eixo helicoidal gira num cesto composto por barras de aço retangulares espaçadas por meio de lâminas cuja espessura varia de acordo com a semente ou fruto [10]. O

espaçamento das barras é regulado para permitir a saída do óleo e ao mesmo tempo agir como filtro para as partículas do resíduo de prensagem (torta) [10]. Após a prensagem, o teor de óleo na torta é de cerca de 5% [2]. A figura 2.17 mostra o tipo mais comum de prensa a frio, sistema de prensa tipo "*Expeller*", usado para extrair óleos.

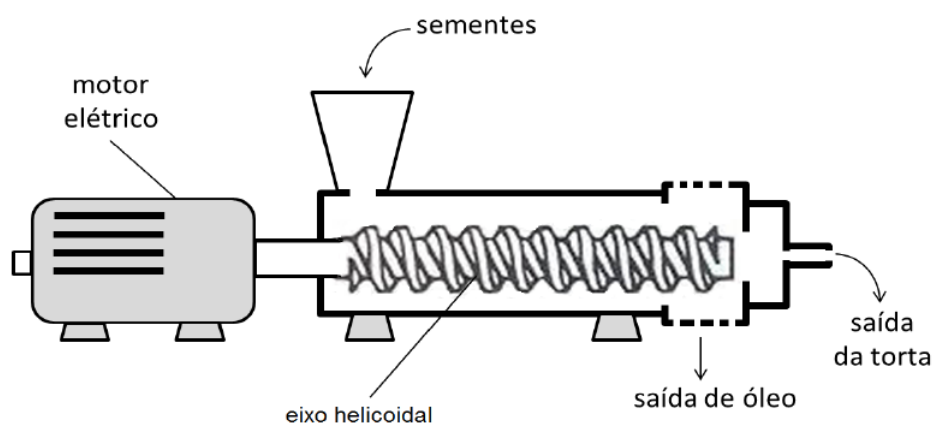


Figura 2.17: Sistema de prensa tipo "*Expeller*" usado para extrair óleos vegetais [adaptado de [2]].

Diferentes fabricantes de prensas reportam diferentes rendimentos de óleo [50]. As possíveis causas dessas diferenças estão na disposição do sistema helicoidal e na construção das prensas industriais, uma vez que o desempenho das prensas projetadas para o tratamento de grãos em pequenas unidades é menor [50]. Contudo, características da matéria-prima e parâmetros do processo também afetam o desempenho da prensagem [50].

2.4.2 Componentes Minoritários

Os óleos vegetais são constituídos majoritariamente por triacilgliceróis contendo ácidos graxos de longas cadeias carbônicas, mas outros componentes minoritários também compõem os óleos e eles são tidos como importantes para as características de qualidade e estabilidade do produto [1, 43].

Os principais compostos minoritários presentes em óleos vegetais, os quais as quantidades podem variar de 1 a 5% de seu peso, são fosfolipídios, cerídios, clorofila, constituintes insaponificáveis e os produtos de alteração [10].

Os fosfolipídios ou fosfatídios são lipídios complexos e sua estrutura é caracterizada pela presença de um poliálcool, geralmente glicerol, esterificado com ácidos graxos e um grupo fosfato, ao qual pode estar ligado à colina (fosfatidilcolina ou lecitina) ou à etanolamina (fosfatidileta-

nolamina) [2]. Nos óleos brutos, os fosfolipídios estão presentes em níveis que variam de 0,1 a 1,8% e eles são removidos do óleo por meio do processo de degomagem [10]. Os fosfolipídios são quelantes de metais, desse modo a remoção deles resulta na eliminação de ferro e cobre, compostos que diminuem a estabilidade do óleo [10].

As ceras ou cerídios são esteres de álcoois graxos (álcoois de cadeias longas) com ácidos graxos, eles são insolúveis no óleo [2]. Apesar do baixo teor de ceras nos óleos vegetais, a presença de deles pode turvar o óleo em temperaturas baixas [10].

Alguns compostos não-acilgliceróis são responsáveis pela aparência do óleo vegetal [2]. Essas substâncias são pigmentos naturais responsáveis por conferir coloração aos óleos. Por exemplo, o azeite de oliva apresenta coloração esverdeada devido à presença de clorofila; enquanto que o β -caroteno é o responsável pela coloração amarela avermelhada do azeite de dendê [2]. A clorofila é lipossolúvel, ela atua como fotossensor ao absorver energia luminosa, de modo que transforma o oxigênio triplete em singlete e, assim, aceleram a oxidação (principalmente na presença de luz) do óleo [10]. A clorofila pode ser removida dos óleos vegetais por adsorventes, como argila ativada, carvão ou sílica no processo de clarificação [10].

Entre os componentes da matéria insaponificável encontram-se os hidrocarbonetos, os esteróis, os caratenóides e as vitaminas lipossolúveis [10]. Os hidrocarbonetos são incolores com cadeia longa e podem apresentar insaturações; os óleos de oliva e os de gérmen de arroz são ricos nesses compostos, no qual o principal hidrocarboneto desses óleos é o esqualeno [10].

Os estróis são álcoois de estrutura complexa com elevado ponto de fusão e eles derivam do esqualeno [10]. O principal esterol de origem animal é o colesterol, enquanto que os principais esteróis provenientes dos vegetais são denominados de fitosteróis, nos quais os de maior importância são os sitosterol, campesterol e estigmasterol [2]. O tipo e a quantidade de esteróis de óleos de vegetais variam de acordo com a fonte vegetal do óleo [36].

As vitaminas lipossolúveis A, D, E e K são facilmente encontradas em óleos de gorduras e, dessa forma, esses compostos não-acilgliceróis tornam os óleos vegetais importantes nutricionalmente [2]. Nesse contexto, cabe destacar que a vitamina E refere-se aos tocoferóis e aos tocotrienóis coletivamente [10]. O α -tocoferol é o homólogo mais largamente distribuído na natureza. Além disso, ele é um composto biologicamente ativo e é importante não somente pela vitamina E *in vivo*, mas também por sua ação antioxidante [10].

2.4.3 Parâmetros de Qualidade

Os óleos vegetais podem ser utilizados como insumos básicos em diversas áreas, tais como na gastronomia, na alimentação, na oleoquímica, nas indústrias cosméticas e farmacêuticas, para produção de biodiesel e tintas, além de outras aplicações [1,18,51]. Na atualidade têm-se observado uma crescente intensificação na demanda de mercado no que se refere aos óleos vegetais das mais variadas fontes [52]. Nesse contexto, o preço relativo de diferentes óleos vegetais pode variar consideravelmente de tempos em tempos, dependendo dos custos de produção e da disponibilidade de estoque [6].

Tendo em vista as diversas aplicações, com destaque na alimentação, a disponibilidade, bem como o preço dos óleos vegetais, é necessário empregar mecanismos de controle de qualidade nesses produtos, pois adulterações intencionais ou acidentais podem acontecer. De modo geral, a qualidade dos óleos vegetais é representada por parâmetros físicos e químicos que são influenciados por variadas circunstâncias, como as fontes dos óleos, as origens geográficas, as condições climáticas, assim como as condições de processamento e armazenamento [3].

Uma variedade de testes físicos e químicos têm sido desenvolvidos para determinar a autenticidade e a qualidade de óleos vegetais [6]. Os parâmetros mais usuais estão relacionados às medidas do ponto de fusão, densidade e níveis de saturação, peróxidos, ácidos graxos livres nos óleos e nas gorduras [2]. Esses testes clássicos têm sido suplementados com, ou suplementados por, novos produtos químicos ou novas técnicas instrumentais, tais como a quimiometria, a espectrofotometria no infravermelho por transformada de Fourier ou com reflectância total atenuada, espectrometria de massa e outras técnicas modernas [6].

Internacionalmente, existem vários órgãos de fiscalização dos óleos vegetais, dentre os quais se destacam Administração de Drogas e Comida (do inglês *Food and Drug Administration - FDA*), Organização das Nações Unidas para Agricultura (do inglês *Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO*), a Organização Mundial da Saúde (do inglês *World Health Organization - WHO*) e a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (*European Food Safety Authority - EFSA*). Em nível nacional, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é a principal responsável pela regulamentação e fiscalização da qualidade dos óleos vegetais. O Instituto Adolfo Lutz lista os métodos analíticos a fim de fornecer metodologias físico-químicas para análise de qualidade de óleos vegetais e, assim, complementa as normas definidas pela ANVISA [53].

A ANVISA, dentro de suas atribuições, determinou os valores de referência para os parâmetros

qualidade de óleos e de gorduras por meio da Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n°481/2021 e da instrução normativa n°87/2021. A tabela 2.4.3 apresenta os valores máximos de acidez e de peróxidos para os óleos de gorduras.

Tabela 2.6: Valores máximos de acidez e peróxidos permitidos para óleos e gorduras [adaptado de [45]].

Valores máximos de acidez para óleos e gorduras vegetais.	
Tipo de óleo ou gordura	Valor máximo de acidez
Óleos e gorduras refinados	0,60 [mgKOH/g]
Óleos prensados a frio e não refinados	4,00 [mgKOH/g]
Óleo de palma virgem	10,0 [mgKOH/g]
Valores máximos de índice de peróxidos para óleos e gorduras vegetais.	
Tipo de óleo ou gordura	Valor máximo do índice de peróxidos
Óleos e gorduras refinados	10 [meq/kg]
Óleos prensados a frio e não refinados	15 [meq/kg]

Geralmente, as determinações feitas na análise de óleos e gorduras são as dos chamados índices, que são expressões de suas propriedades físicas ou químicas, e não as porcentagens de seus constituintes [53]. Assim, são determinados os índices de iodo, saponificação, peróxidos e as constantes físicas como o ponto de fusão e o índice de refração [53].

O índice de acidez e o índice de peróxidos são descritos como parâmetros referenciais para determinar a qualidade da conservação de óleos [54]. O índice de saponificação, o índice de refração e a densidade relativa estão relacionados apenas com as características específicas de cada óleo vegetal, como comprimento de cadeias e números de insaturações [54].

Capítulo 3

Processos de Degradação de Óleos Vegetais

Os óleos vegetais comestíveis podem sofrer diversas transformações físicas, químicas, sensoriais e nutricionais, não conseguindo manter suas características aceitáveis para consumo [55]. O contato dos óleos vegetais com água gera alterações hidrolíticas, enquanto que em contato com oxigênio atmosférico ocasiona sua oxidação [56]. Além disso, o aquecimento do óleo vegetal leva a polimerização das moléculas de triacilgliceróis, aumentando o índice de acidez [2].

O processo de fritura dos alimentos exemplifica as formas de deterioração dos óleos vegetais. Durante esse procedimento, o alimento é submerso em óleo quente, que age como meio de transferência de calor [56]. Parte do óleo utilizado é absorvido pelo alimento e torna-se parte da dieta, sendo necessário óleos de boa qualidade no preparo dos alimentos e que permaneçam estáveis por longos períodos de tempo [56]. Durante o aquecimento do óleo no processo de fritura, uma complexa série de reações químicas produz numerosos compostos de degradação. Quando o alimento é submerso no óleo quente em presença de ar, o óleo é exposto a três agentes que causam mudanças em sua estrutura: I) água, proveniente do próprio alimento e que leva à alterações hidrolíticas; II) o oxigênio que entra em contato com o óleo e a partir de sua superfície provoca alterações oxidativas e finalmente, III) a temperatura em que o processo ocorre e resulta em alterações térmicas, como a isomerização, formando diversos produtos de degradação, dentre eles os hidroperóxidos [56].

Verifica-se que as alterações, que os óleos vegetais sofrem devido ao contato com agentes externos, levam a um aumentando nos valores do índice de peróxidos, do índice de iodo e do índice de refração, podendo tornar-os nocivos à saúde humana; além de serem depreciativos da qua-

lidade nutricional e sensorial [55]. Desse modo, é de fundamental importância o conhecimento da estabilidade térmica e oxidativa dos óleos vegetais para um rigoroso controle de qualidade.

Do ponto de vista sensorial, a deterioração dos óleos é conhecida como rancidez [10]. A rancidez constitui um sério problema técnico nas indústrias de alimentos e ela pode ocorrer de duas formas diferentes: rancidez oxidativa, causada pela auto-oxidação dos triacilgliceróis com ácidos graxos insaturados por oxigênio atmosférico; ou rancidez hidrolítica, causada pela hidrólise da ligação éster por lipase ou agente químico na presença de umidade [10,57]. Em ambos os casos, a rancidez pode ocorrer via processo químico ou enzimático [10]

A relação dos ácidos graxos oleico/linoleico (O/L) é um importante indicador da estabilidade do óleo vegetal e, portanto, uma maior vida de prateleira [58]. Essas características dão uma indicação da maior resistência à rancificação, o que é um fator importante no aspecto sensorial do óleo para fim comestível [58]. O teor de ácido linolênico é outro fator relacionado com a estabilidade do óleo. Estudos revelam que quando o óleo possui baixo teor de ácido linolênico e alto teor de ácido oleico, ele tem maior estabilidade oxidativa [59].

3.1 Degradação por Oxidação

O processo de deterioração por oxidação dos óleos vegetais, também denominado de rancidez oxidativa, é classificado quimicamente como uma reação de oxirredução, na qual uma substância atua como um agente oxidante (geralmente o oxigênio atmosférico) que, quando em contato com um agente redutor, desencadeia a transferência de elétrons de uma espécie química (oxidado) para outra espécie (reduzido) [2, 10, 60].

Nos óleos vegetais, as cadeias de ácidos graxos são suscetíveis a oxidação tanto na dupla ligação quanto nos carbonos alílicos (átomo de carbono ligado a um átomo de carbono, que por sua vez, está duplamente ligado a outro átomo de carbono) adjacentes [1].

A figura 3.1 mostra o local em que a reação de oxidação ocorre no ácido graxo em um triacilglicerol.

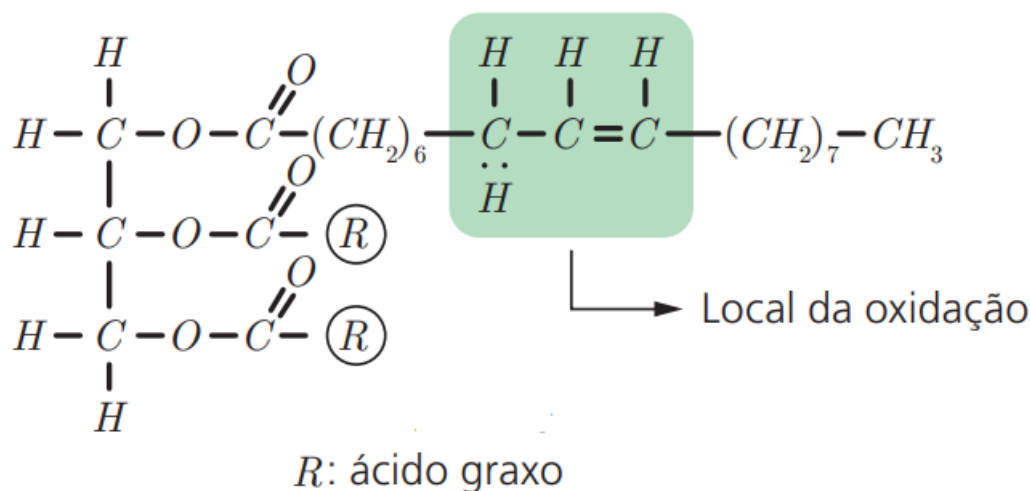


Figura 3.1: Representação do local no qual a reação de oxidação ocorre no triacilglicerol [adaptado de [61]].

As posições bi-álílicas em ácidos graxos poli-insaturados de ocorrência natural, como o ácido linoléico (duplas ligações em Δ^9 e Δ^{12} , gerando uma posição bi-álílica em C-11) e linolênico (duplas ligações em Δ^9 , Δ^{12} e Δ^{15} , gerando duas posições bi-álílicas em C-11 e C-14) são muito suscetíveis a auto-oxidação, porque nessas posições as ligações químicas entre os átomos de carbono e hidrogênio são mais fracas, ou seja, a presença do grupo metileno ($—CH_2—$) ativado entre duplas ligações o torna vulnerável a oxidação [60]. As posições alílicas e bi-álílicas podem ser observadas na figura 3.2.

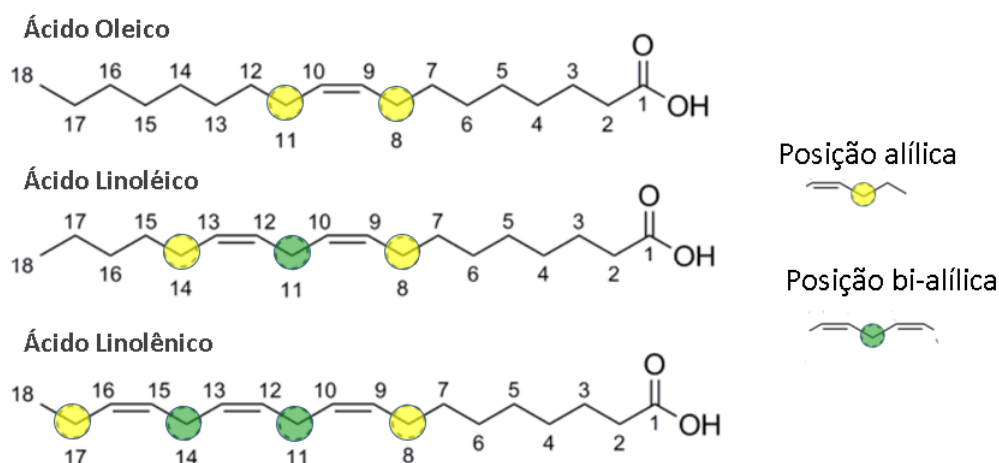


Figura 3.2: Representação dos pontos onde as reações ocorrem nos ácidos graxos insaturados que compõem os triacilgliceróis [adaptado de [62]].

A oxidação dos ácidos graxos nos óleos vegetais ocorre em duas etapas, na qual primeiro ocorre a transferência de um elétron com formação intermediária de um radical livre e, posteriormente, acontece a transferência do segundo elétron [60]. Desse modo, a oxidação de óleos vegetais é

um exemplo típico de reação envolvendo a formação de radicais livres [60].

Os radicais livres e foto-oxidação nos carbonos alílicos são os principais responsáveis pela deterioração de óleos e gorduras insaturados [1, 10].

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo, inevitável e ela é a principal causa da deterioração dos ácidos graxos, principalmente dos ácidos graxos insaturados [61]. Esse processo degradativo dos óleos vegetais é uma série complexa de várias reações químicas, nos quais diversos produtos são formados, sendo muitos deles voláteis [18, 61]. Entretanto, para os óleos vegetais em temperatura ambiente, esse processo de deterioração ocorre de maneira lenta e gradativa, ao longo de meses e anos [19]. Em geral, a velocidade das reações químicas varia em função do grau de insaturação do óleo vegetal, da presença de ácidos graxos livres, da temperatura, da concentração de O_2 , da presença de enzimas (principalmente a lipoxigenase) e de catalisadores (íons metálicos) [18, 61].

A principal consequência da rancidez oxidativa nos óleos vegetais é a modificação do sabor (*flavor*) original e o aparecimento de odores (*off odors*) e gostos (*off flavor*) característicos do ranço, pois essas substâncias são produzidas durante a oxidação [1, 61]. Destaca-se também que o valor nutricional do óleo, assim como o seu tempo de prateleira, diminui porque durante a degradação são formados vários radicais livres que, por sua vez, reagem com outras substâncias e formam novos produtos, comprometendo qualidade do óleo [10].

3.1.1 Auto-oxidação

A reação espontânea de um agente oxidante (especialmente o oxigênio atmosférico) com os ácidos graxos insaturados, principalmente os ácidos graxos poli-insaturados, pode ser denominada de auto-oxidação e ela é o processo mais comum de deterioração oxidativa de óleos vegetais [57].

A auto-oxidação é uma reação química bastante complexa, pois ela abrange um grande número de reações inter-relacionadas, não sendo significativamente inibida pelo abaixamento da temperatura durante o armazenamento do óleo vegetal [61].

Normalmente, as reações de auto-oxidação apresentam um período de indução, que é o intervalo no qual ocorre poucas alterações no composto, de modo que poucos produtos de oxidação são formados [57]. Esse período é influenciado pela presença de pró-oxidantes, como os íons metálicos, que aceleram o processo de degradação e pelos antioxidantes, que prologam esse

processo [61].

Durante o período de indução ocorre um aumento na concentração de radicais livres até que a etapa de propagação autocatalítica se torne dominante, ou seja, os produtos formados na reação química atuam como catalisadores na própria reação e, assim, ela pode ser denominada de reação em cadeia auto-sustentada [1]. Após o período de indução, os *off flavours* se tornam mais aparentes e o processo de decomposição do óleo ocorre mais rapidamente [60].

A existência de um período de indução caracteriza as reações químicas que seguem um mecanismo de radicais livres [57]. A auto-oxidação, como uma reação de radicais livres, ocorre em três etapas: iniciação, propagação e terminação [10]. Com exceção da fase inicial da reação, as outras etapas mencionadas ocorrem simultaneamente [10]. Um esquema geral para esse processo é mostrado na figura 3.3.

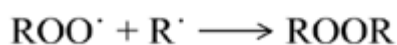
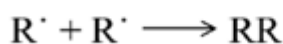
Iniciação:



Propagação:



Terminação:



R[•] = radical de ácido graxo.
RH = ácido graxo insaturado.
ROO[•] = radical peroxila.
ROOH = hidroperóxido.

Figura 3.3: Esquema da reação de oxidação de ácidos graxos via radicais livres [10].

O primeiro passo é a iniciação, onde os radicais livres (espécies com número ímpar de elétrons de valência desemparelhados, sendo, portanto, altamente energéticos e reativos) são formados a partir dos ácidos graxos [2, 60].

O mecanismo de formação do primeiro radical livre, que desencadeia a oxidação lipídica, ainda não está devidamente esclarecido, mas uma possível explicação é que a principal via geradora de radicais livres seja a decomposição de hidroperóxidos presentes nos óleos antes mesmo do início

do processo oxidativo [10,60]. A irradiação, o tratamento térmico e a reação com íons metálicos dos componentes presentes no óleo vegetal também leva à formação de radicais livres [60]. Uma outra via de formação dos hidroperóxidos é a oxidação de ácidos graxos poli-insaturados por lipoxigenase vegetal e outras enzimas que catalisam (aceleram) a reação de oxirredução [10,60].

A tese mais aceita pelos pesquisadores para o processo de formação dos radicais livres em óleos vegetais propõe que o oxigênio singlete (1O_2) é o principal responsável pela formação dos radicais livres, pois o oxigênio nessa configuração é altamente reativo de modo que ele age diretamente na dupla ligação do ácido graxo insaturado, formando o radical peroxila [10,60].

Após a formação suficiente de radicais livres, a reação em cadeia é propagada pois o radical peróxido livre é um forte iniciador de novos radicais livres com formação de hidroperóxidos, porque ele abstrai um átomo de hidrogênio do carbono alílico ($—CH_2—$) adjacente a dupla ligação no ácido graxo insaturado [10,61]. Desse modo, hidroperóxidos e radicais livres que retro alimenta a reação são produzidos [61]. Esse processo pode ser repetido, em cadeia, por inúmeras vezes e isso caracteriza epata de propagação.

Durante a fase de propagação, os hidroperóxidos e os peróxidos acumulados são decompostos e formam hidrocarbonetos, ácidos graxos de cadeia curta, radicais livres e compostos voláteis, como carbonilas (aldeídos e cetonas), responsáveis pelo odor de ranço [10].

Em geral, as reações de propagação são rápidas quando comparadas com as reações de iniciação, pois os radicais livres são altamente reativos [10]. Durante essa fase, muito oxigênio é consumido e a duração dela depende do grau de insaturação do ácido graxo e da concentração de oxigênio [10].

A fase de terminação do processo é caracterizada pela combinação de radicais entre si, inibindo a propagação [2]. As reações de término são reações de baixa energia, nas quais elas são limitadas pela baixa concentração de radicas, menor consumo de oxigênio e pela exigência de radicais com orientação correta para que a reação química ocorra [1]. Os produtos estáveis desse processo geram forte alteração organoléptica com alteração na cor e viscosidade do óleo vegetal [10].

3.1.2 Foto-oxidação

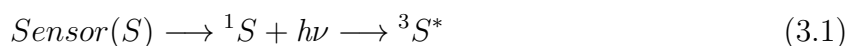
Como a reação de oxidação pode ser definida como o processo de adição de oxigênio, remoção de hidrogênio ou elétrons, essa reação pode ser acelerada pelo calor, luz (foto-oxidação), ionização, traços de metais (Cu e Fe) e pela enzima lipoxigenase [57]. Um dos mecanismos mais

importantes é o da foto-oxidação.

A reação de foto-oxidação é o processo oxidativo dos ácidos graxos insaturados resultante da exposição à luz, oxigênio e fotosensores [60]. A reação de foto-oxidação depende de sensores, como os pigmentos naturais (clorofila e a mioglobina) [61].

A foto-oxidação de óleos vegetais insaturados é uma rota alternativa que leva a formação de hidroperóxidos e ela pode ocorrer de duas formas [57]. A foto-oxidação do tipo I, chamada de oxidação fotossensibilizada, ocorre na presença de alguns sensibilizantes, como a clorofila, que absorvem energia luminosa de comprimento de onda na faixa do visível e atingem o estado excitado [1, 60]. Desse modo, o mecanismo da reação de oxidação é caracterizado pela transferência de átomos de hidrogênio, ou de elétrons, entre o ácido graxo insaturado e o sensibilizante no estado excitado [1, 61]. Assim, os radicais livres ou os íons de radicais livres são produzidos fotoquimicamente e reação se propaga de forma similar ao da auto-oxidação [1].

O mecanismo da foto-oxidação do tipo I pode ser resumido conforme mostram as reações químicas 3.1, 3.2 e 3.3; onde 1S representa o sensor no estado singlete e $^3S^*$ é o sensor no estado tripleto excitado [57].



A foto-oxidação do tipo II, também chamada de foto-oxigenação, pode ser considerada mais importante. A foto-oxigenação é identificada pelo favorecimento no meio reacional do oxigênio na forma singlete (1O_2), comparativamente mais reativo que seu estado fundamental tripleto (3O_2) [1].

Esse mecanismo é independente da formação de radicais livres e, assim, não envolve reação em cadeia [1]. Dessa forma, a reação de foto-oxidação do tipo II não apresenta período de indução, ocorrendo de forma mais rápida quando comparada com a auto-oxidação, e a presença de antioxidantes não impedem a sua ocorrência [1]. Além disso, a foto-oxigenação não é afetada pela presença de antioxidantes e ela provoca mudanças na insaturação do ácido graxo da configuração *cis* para *trans* [60].

De modo geral, no estado fundamental a molécula de oxigênio apresenta-se no estado eletrônico

triplete ($^3\text{O}_2$) [2]. O processo se inicia com a excitação do sensibilizante pela luz. A interação do sensibilizante no estado excitado com o oxigênio no estado triplete (dois elétrons de maior energia com spins paralelos e em orbitais moleculares diferentes) o leva para o estado excitado de oxigênio singlete (os dois elétrons de maior energia são antiparalelos e podem ocupar o mesmo orbital) [2]. O oxigênio singlete é altamente reativo, especialmente às substâncias com altas densidades eletrônicas, como as duplas ligações nos ácidos graxos insaturados [60].

A reação entre o oxigênio no estado singlete com as regiões de insaturação dos ácidos graxos presentes nos triacilgliceróis gera os hidroperóxidos como produtos [1, 2]. Dessa forma, são originados os produtos da degradação dos óleos vegetais, característicos do ranço, como os álcoois, os aldeídos e as cetonas [2].

O esquema da foto-oxidação do tipo II é representado pelas equações químicas 3.4, 3.5 e 3.6; nas quais ^1S representa o sensor no estado fundamental, $^3\text{S}_*$ é o sensor no estado triplete excitado, $^3\text{O}_2$ representa a molécula de oxigênio no estado triplete, $^1\text{O}_2$ é o oxigênio no estado excitado singlete, RH representa o ácido graxo insaturado e ROOH é o hidroperóxido.



3.2 Degradação por Hidrólise

A hidrólise de óleos vegetais consiste, basicamente, em dividir os acilgliceróis em seus constituintes, ácidos graxos e glicerol, na presença de um meio aquoso [1]. Desse modo, na indústria, a hidrólise tem a finalidade de produzir ácidos graxos livres, acilgliceróis parciais e glicerol. Destaca-se que os ácidos graxos livres são mais susceptíveis à oxidação que os triacilgliceróis; entretanto, a reação de hidrólise é relativamente pouco importante no que se refere a estabilidade de óleos sujeitos à oxidação, já que sua velocidade de reação é lenta sob condições normais de estocagem [18].

A hidrólise é um tipo reação química que atua especificamente na junção do ácido graxo com o glicerol, denominada de ligação éster [60]. O processo da quebra da ligação éster pode ocorrer por meios enzimáticos (principalmente pelas enzimas lipolíticas naturais) ou não enzimáticos

(hidrólise alcaliza, hidrólise ácida e hidrólise salina) [1, 60].

A degradação enzimática, gerada especialmente pela ação das enzimas lipases que estão presentes nas sementes oleaginosas ou lipases de origem microbianas, é favorecida pelas condições de temperatura (em torno de 32° C) e acidez do meio, que deve ter PH 7 [10]. Esse processo é gradativamente lento, mas ele pode ser acelerado pela ação da luz e do calor Seus produtos [10].

Nos óleos e nas gorduras é comum que a hidrólise ocorra devido presença de água e de alta temperatura, caracterizando um processo físico [60]. Esse mecanismo ocorre nos processos de fritura, na qual a hidrólise se dá em altas temperaturas com liberação de água do próprio alimento [10].

De modo geral, a hidrólise ocorre preferencialmente em óleos contendo ácidos graxos de cadeia curta e insaturados, pois são mais hidrossolúveis, que aqueles contendo cadeias longas e saturadas [60]. Os produtos resultantes da hidrólise (acilgliceróis parciais, ácidos graxos livres e glicerol), quando aquecidos, aceleram a reação de hidrólise, na qual o glicerol evapora a 150° C e o remanescente no óleo promove liberação de ácidos graxos livres [60].

A figura 3.4 mostra a representação da reação de hidrólise em um triacilglicerol devido a presença de água.

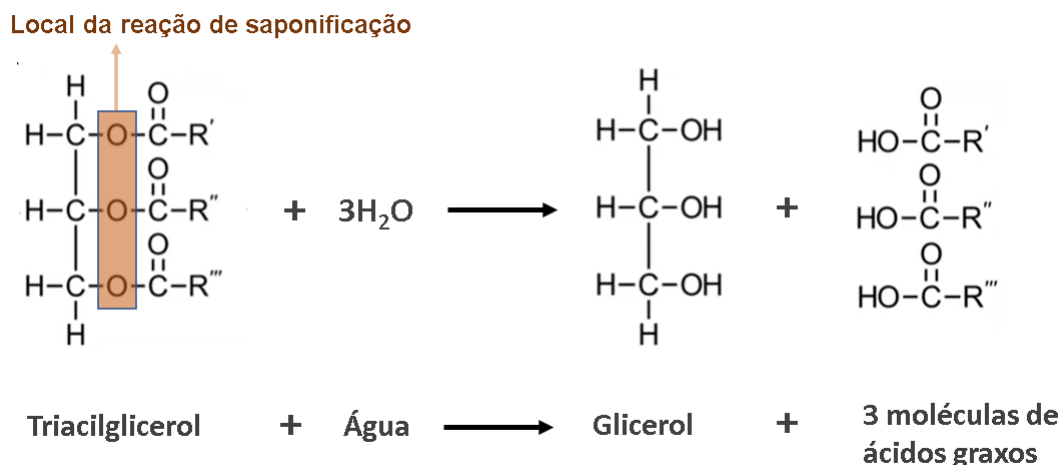


Figura 3.4: Esquema da reação de hidrólise da molécula de triacilglicerol com água e formação de glicerol e ácidos graxos livres [adaptado de [2]].

A degradação dos óleos vegetais por hidrólise, também conhecida como rancidez hidrolítica, pode ocorrer durante o armazenamento do óleo ou da gordura devido a existência de enzimas naturais e ao teor de água [60]. Além disso, é necessário ter cuidados com as matérias-primas

antes da produção do óleo vegetal, pois a presença de umidade em excesso no local de armazenamento dos grãos pode fazer com que a hidrólise seja iniciada nos insumos [57, 60]. Os efeitos da reação da hidrólise podem ser minimizados pelo armazenamento a frio e, ou, pela esterificação [10].

As características sensoriais dos óleos vegetais que sofrem degradação hidrolítica estão, tipicamente, relacionadas aos ácidos graxos sintetizados no processo. De modo geral, os ácidos graxos que possuem de 14 a 22 átomos carbono provenientes da hidrólise dos triacilgliceróis são sensorialmente inativos, enquanto que os ácidos graxos que contêm de 4 a 10 átomos de carbono geram odores e sabores típicos de ranço aos óleos vegetais [60]. Por exemplo, os ácidos octanóico, decanóico e dodecanóico produzidos na hidrólise dos azeites de coco e dendê conferem sabor de sabão a produtos de confeitaria [57, 60].

De modo geral, a hidrólise ocorre preferencialmente em óleos contendo ácidos graxos de cadeia curta e insaturados, pois são mais hidrossolúveis, que aqueles contendo cadeias longas e saturadas.

Os efeitos benéficos da rancidez hidrolítica são evidenciados nos produtos como iogurte, pães, chocolate e na maturação de queijos; enquanto que o ranço, aumento da acidez, alteração das propriedades funcionais, abaixamento do ponto de fumaça e favorecimento a oxidação lipídica são tidos como efeitos indesejados [61].

3.3 Degradação por Ação da Temperatura

O aquecimento de óleos e gorduras (como no processo de fritura) pode provocar alterações químicas que, por sua vez, geram mudanças físicas nos compostos, como o aumento da viscosidade [2]. Em geral, as taxas de reações de oxidação aumentam com a temperatura e a estabilidade do óleo é melhor a baixas temperaturas [1]. Os principais produtos da decomposição dos óleos devido ao aquecimento dele são os compostos polares não voláteis, dímeros e polímeros de triacilgliceróis [60].

Quando os óleos vegetais são aquecidos a alta temperatura na presença de oxigênio, o processo de oxidação é acelerado, ocorrendo reações de oxidação térmica, denominada de oxipolimerização, e decomposição termo-oxidativa [56]. Nesse sentido, a temperatura atua como um catalisador da reação química, pois ela é um fator que afeta diretamente a velocidade da oxidação lipídica, uma vez que a temperatura condiciona a solubilidade de oxigênio nos óleos e

nas gorduras [60].

O processo de polimerização térmica é um importante tipo de reação química que ocorre com os óleos e gorduras quando eles são aquecidos a altas temperaturas, de 200° C a 350° C, na ausência de oxigênio [56]. Essa reação procede com maior velocidade para óleos e gorduras com maiores concentrações de duplas ligações na cadeia carbônica [63]. Dessa forma, as temperaturas de polimerização podem ser reduzidas à medida que se aumenta o grau de insaturação na cadeia. Além disso, os óleos e as gorduras que apresentam alto índice de iodo tendem a polimerizar mais rapidamente, pois esse índice é uma forma de classificar os óleos de acordo com a presença das duplas ligações na cadeia [10].

Uma das possíveis rotas reacionais no processo de polimerização térmica de óleos vegetais ocorre por meio de reações do tipo radicais, ou radicalares, nos quais os radicais alílicos são formados pela remoção de um átomo de hidrogênio do carbono metilênico adjacente à dupla ligação [2,60]. Esse mecanismo assemelha-se àquele que ocorre na auto-oxidação, no qual envolve as etapas de iniciação, propagação e terminação [2]. Os produtos dessas reações são moléculas com altos pesos moleculares contendo ligações simples entre os átomos de carbono ($-C-C-$), juntamente com ligações éter ($-C-O-C-$) e peróxido ($-C-O-O-C-$), podendo ser cíclicos (reação Diels-Alder) ou acíclicos dependendo da reação e tipos de ácidos graxos envolvidos [60].

Cabe destacar que quando o óleo é aquecido a altas temperaturas pode ocorrer uma reação química que leva à formação de acroleína, um composto volátil e de considerável toxicidade, que pode causar desde irritações nos olhos e mucosas até efeitos carcinogênicos [2]. A formação desse composto pode ocorrer por meio de desidratação da molécula de glicerol ou através da fissão homolítica, na qual ocorre a quebra de uma ligação química onde cada átomo participante da ligação retém um elétron do par que constituía a molécula precursora, gerando radicais [2].

A termodegradação dos óleo vegetais promove sua oxidação por meio da formação de polímeros ricos em oxigênio [60]. Desse modo, o óleo sofre um aumento na sua viscosidade, uma diminuição na transferência de calor, produção de espuma e desenvolve coloração [60].

Capítulo 4

Métodos Quimiométricos

4.1 Quimiometria - Análise Multivariada de Dados Experimentais

Atualmente, vivemos em um tempo no qual constantemente ocorrem mudanças. A Ciência tem passado por essas alterações, ou quebra de paradigmas, de modo que novas estratégias e escolhas metodológicas são frequentemente desenvolvidas para tratar de problemas que possuem alta complexidade. Dentro desse contexto, a complexidade de um sistema pode ser atribuída à complexidade intrínseca contida nos dados relativos ao próprio sistema [64].

A designação "quimiometria" foi usada pela primeira vez em 1971 pelo químico orgânico Svante Wold, da Universidade de Umeö, na Suécia [65]. Entretanto, o nascimento dessa disciplina científica recente deve ser atribuído a uma iniciativa conjunta de Svante Wold e de Bruce Kowalski, da Universidade de Washington nos Estados Unidos [64]. Com uma carta enviada a revista científica *Analytical Chemistry* em junho de 1974, Wold e Kowalski propuseram chamar de "quimiometria" um setor científico que compreendesse todas as técnicas matemáticas destinadas para tratar, elaborar e modelar conjuntos de dados químicos [64].

A quimiometria nasceu na tentativa de resolver os problemas que possuem alta complexidade, levando em consideração as correlações entre as variáveis e seus efeitos sinérgicos (efeitos devidos ao papel combinado de duas ou mais variáveis) [65–67]. Para isso, a quimiometria utiliza competências de diferentes áreas do conhecimento, como a estatística, a matemática, a informática, as ciências experimentais, dentre outras áreas [64, 68]. Dessa forma, a quimiometria pode ser definida como a ciência que trata de problemas complexos utilizando métodos matemáticos,

estatísticos e computacionais para investigar, interpretar, classificar e fazer previsões de um conjunto de dados [5].

Não obstante, há na literatura tantas definições de quimiometria quanto quimiometristas, mas existe um consenso geral de que essa ciência é a intersecção de três grandes áreas: Química, Matemática e Estatística [65]. Destaca-se que apesar do nome, quimiometria ('químio' refere-se à Química e 'metria' relaciona-se à medida), os métodos quimiométricos têm superado o âmbito puramente químico e, atualmente, são usados como uma metodologia geral capaz de extrair informações de dados de qualquer natureza [67,69]. Desse modo, os métodos quimiométricos têm sido utilizados para exploração de um conjunto de informações, ou seja, para explicitar a estrutura dos dados, as relações e correlações existentes entre eles, as suas congruências, as suas relevâncias e redundâncias [69].

Essencialmente, a quimiometria é a ciência de extrair o máximo de informações úteis de um conjunto de dados multivariados por meio de dados dirigidos (do inglês *Data Driven*), o que significa que a quimiometria é inerentemente interdisciplinar, pois ela usa métodos frequentemente empregados em disciplinas analíticas de dados, como estatística multivariada, matemática aplicada e ciências da computação a fim de resolver problemas nos mais diversos campos, como na química, na farmácia e na indústria [64,65]. Dessa forma, a quimiometria desenvolveu uma identidade científica precisa, assumindo uma terminologia específica em aproximadamente 50 idiomas [65]. Entretanto, no Brasil ainda existe a necessidade de padronização dessa terminologia devido à falta de literatura disponível em língua portuguesa [65].

Em geral, as técnicas quimiométricas são aplicadas para resolver problemas descritivos em preditivos, como em química, em aplicações descritivas, com objetivo de prever as propriedades de sistemas, ou seja, os sistemas são modelados com a intenção de prever novas propriedades ou comportamentos de interesse [64]. Em ambos os casos, os conjuntos de dados podem ser grandes e muito complexos, envolvendo centenas ou milhares de variáveis. Salienta-se que a validação dos resultados é um aspecto fundamental que caracteriza as estratégias quimiométricas, pois ela assegura que os resultados obtidos são consistentes.

Comumente, os dados experimentais obtidos a partir dos modernos instrumentos de medidas apresentam-se de forma holísticas, na qual as informações úteis e secundárias encontram-se misturados, conforme a figura 4.1 exemplifica [65]. Assim, os métodos quimiométricos tentam separar os conteúdos de informações úteis dos demais elementos que estão contidos nos dados, como ruídos experimentais e informações redundantes devido aos efeitos de correlação que podem existir entre as variáveis, que não interessam diretamente como objeto de estudo [64].

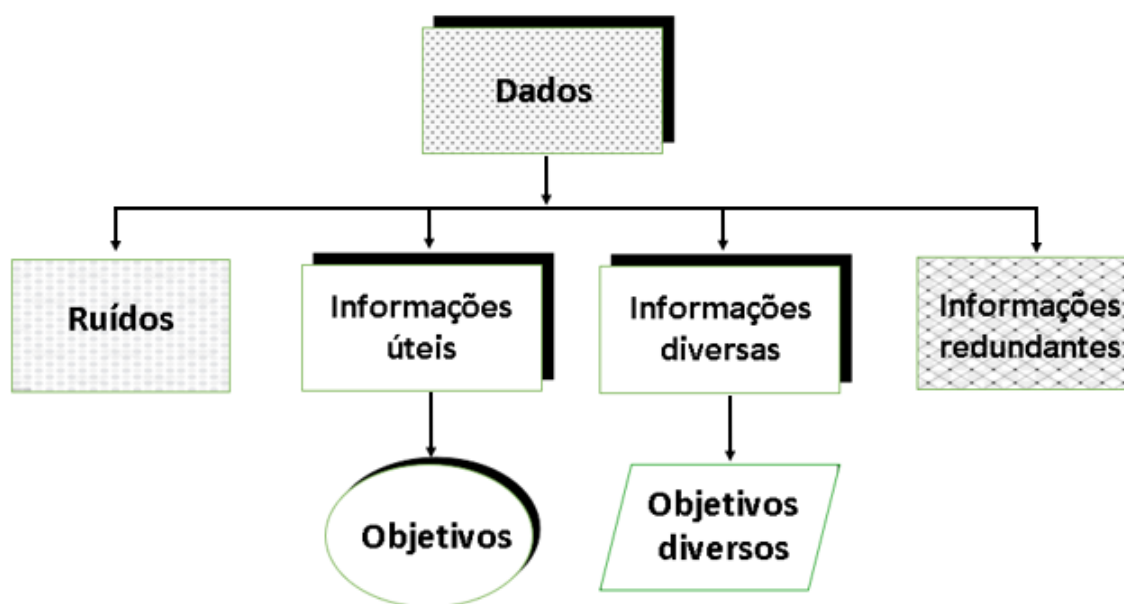


Figura 4.1: Demonstração da extração de informações relevantes, ou não, de um conjunto global de dados para um determinado objetivo [17].

Dentre as diversas subáreas da quimiometria pode-se destacar o planejamento de experimentos, o reconhecimento de padrões e a calibração multivariada [5]. Na área de planejamento de experimentos busca-se encontrar quais as variáveis que mais afetam um determinado processo, assim como a interação entre elas [5]. No reconhecimento de padrões, a partir de uma vasta gama de informações (espectrais, por exemplo) sobre uma série de objetos, pretendem-se encontrar agrupamentos de amostras (objetos) que são similares entre si e, assim, detectar tendências nos dados [5]. Na calibração multivariada, procura-se estabelecer um modelo que relacione uma série de medidas (tais como químicas ou espectrais) realizadas em amostras com uma determinada propriedade (concentração, por exemplo) [5].

A análise de dados multivariados é a aplicação mais importante da quimiometria [67]. Sabe-se que sistemas químicos/físicos de interesse prático são, frequentemente, muito complicados e não podem ser suficientemente bem descritos pela teoria, pois abordagens quimiométricas não são baseadas em primeiros princípios (que significa leis científicas e regras da natureza), mas são descritos por *Data Driven*, que transforma um conjunto de dados (estruturados ou não estruturados) em informações [67].

4.2 Análise Multivariada

Ao analisar os acontecimentos do nosso dia a dia, identifica-se que eles envolvem um grande número de variáveis. Por exemplo, para entender o clima de uma cidade ou ao tomar uma decisão importante, deve-se levar em conta um grande número de fatores. Desse modo, conhecer as variáveis intervenientes que participam desses eventos é fundamental para entender a realidade sobre eles [70]. Em certos casos, os fatores que afetam os sistemas, ou fenômenos, analisados são não equânimes, pois nem todos esses possuem os mesmos pesos quando atuam sobre o objeto de interesse [70].

Para traduzir informações obtidas em conhecimento é necessário superar muitas dificuldades, principalmente quando se trata de avaliação estatística das informações [70]. Nesse sentido, os métodos estatísticos utilizados para analisar variáveis estão divididos em dois grupos: um que estuda as variáveis de maneira isolada - a estatística univariada, e outro que olha as variáveis de forma conjunta - a estatística multivariada [70].

Quando um fenômeno depende de muitas variáveis, geralmente a análise univariada falha, pois conhecer informações estatísticas isoladas não é suficiente para entendê-lo [70]. Entretanto, conhecer a totalidade dessas informações fornecidas pelos conjuntos de variáveis e suas relações é fundamental para obter-se uma compreensão sobre a natureza do sistema, porque em muitos casos as variáveis estão entrelaçadas [70].

Historicamente, a maior parte das aplicações das técnicas multivariadas tem sido em ciências comportamentais e biológicas [71]. Entretanto, recentemente, o interesse em métodos multivariados se espalhou para vários outros campos de investigação, como por exemplo em educação, física, geologia, engenharia, direito, literatura, religião, enfermagem e muitos outros campos [72]. A tabela 4.1 mostra alguns exemplos de observações multivariadas.

Tabela 4.1: Exemplos de dados multivariados [71].

Objetos	Variáveis
1. Estudantes	Diversas notas de exames de uma disciplina.
2. Estudantes	Médias obtidas em diversas disciplinas (história, artes, física, matemática, etc).
3. Pessoas	Altura, peso, percentual de gordura corporal e frequência cardíaca em repouso.
4. Crânios	Comprimento, largura e capacidade craniana.
5. Segmentos da literatura	Comprimento da frase, frequência de uso de certas palavras e características de estilo.

Conforme observado na tabela 4.1, itens 1 e 2, em alguns casos todas as variáveis são medidas na mesma escala [71]. Em outros casos, as medidas estão em diferentes escalas, item 3 da tabela 4.1. Em muitos casos, as técnicas multivariadas não exigem que as variáveis sejam proporcionais (similares em escala de medida) e muitos procedimentos não são afetados por uma mudança de escala [73].

A análise multivariada é um conjunto de técnicas estatísticas que podem ser usadas quando várias medidas (variáveis) são feitas em cada objeto (indivíduo ou amostra) simultaneamente, ou seja, realiza a análise de duas ou mais características ao mesmo tempo [74].

Normalmente, as variáveis são medidas simultaneamente em cada objeto (amostras). Tipicamente, essas variáveis estão correlacionadas; caso contrário haveria pouco uso das muitas técnicas de análise multivariada [71, 75]. Assim, é necessário desentrelaçar as informações fornecidas pelas variáveis correlacionadas e observar a estrutura de informação subjacente a superfície de dados. Desse modo, o principal objetivo de muitas abordagens multivariadas é simplificar o sistema, expressando-o em termos de um conjunto de dimensão reduzida [71, 75]. Ressalta-se que as técnicas multivariadas são exploratórias e elas, essencialmente, geram hipóteses ao invés de testá-las [71].

Por outro lado, se o objetivo do estudo é um teste de hipóteses formal, nas quais usam-se

ferramentas que permitem rejeitar ou não rejeitar uma hipótese estatística, é preciso uma técnica que permita avaliar diversas variáveis e que preserve o nível de significância (verificar a discrepância de uma hipótese estatística utilizando os dados observados) [71, 75]. Além disso, a técnica utilizada deve ser feita para qualquer estrutura de intercorrelações de variáveis [71].

Em vista disso, a análise multivariada envolve duas áreas, a estatística descritiva e a estatística inferencial. No "reino" descritivo, frequentemente, obtém-se adequadas combinações lineares das variáveis originais, na qual o critério de otimização varia de uma técnica para outra, dependendo do objetivo em cada caso [73, 75]. Apesar das combinações lineares parecerem simples para revelarem as estruturas de informações ocultas, elas são apropriadas porque possuem tratabilidade matemática, uma vez que os dados são suficientemente operacionalizáveis para permitir que os cálculos (aproximações lineares) prossigam em direção a uma solução [73, 75]. Essas combinações lineares também podem ser úteis para obter mais informações durante procedimentos inferenciais, como encontrar a combinação (ou combinações) linear(es) de variáveis que leve a rejeição de uma hipótese. Então, a contribuição de cada variável para essas combinações lineares é de fundamental interesse [73].

Logo, os procedimentos descritivos podem caracterizar as estruturas de correlações existentes no vetor de observação e mostrar como as variáveis contribuem para formar padrões de agrupamentos [73, 75].

Procedimentos inferenciais multivariados incluem testes de hipóteses que permitem aplicação a qualquer estrutura de correlação entre as variáveis [73, 75]. Os testes também fornecem controle sobre as taxas de erros experimentais, ou seja, mantém o nível de significância estabelecido pelo pesquisador independentemente da quantidade de variáveis que são testadas simultaneamente [73, 75]. Muitas técnicas multivariadas inferências são extensões de procedimentos univariados [73]. Nesse contexto, se um teste multivariado rejeita uma hipótese, é interessante determinar a contribuição relativa das variáveis para essa rejeição [73].

4.2.1 A Estrutura Multivariada dos Dados

Normalmente, as técnicas quimiométricas se aplicam às estruturas de dados que são representadas por uma tabela de números, chamada de matriz de dados, constituída por um certo número de observações, nas quais cada uma é representada por variáveis que descrevem essas observações.

A tabela 4.2 apresenta algumas terminologias usadas em quimiometria. Os termos "amostras" e

”objetos” serão usados indistintamente ao longo deste trabalho.

Tabela 4.2: Nomenclatura em quimiometria [67].

Padrão	Sinônimos
Dados	Um (ou mais) conjunto de valores, numéricos ou não.
Conjunto de dados (multivariados)	Matriz de dados, amostras aleatórias (de observações).
Objetos ou indivíduos	Amostras, população, observação, caso, experimentos, mistura, composto, unidades.
Variáveis	Medidas, características, descritores, parâmetros, fatores.
Valor de dados	Elementos da matriz.

Um conjunto de dados multivariados pode representado segundo o esquema mostrado na figura 4.2.

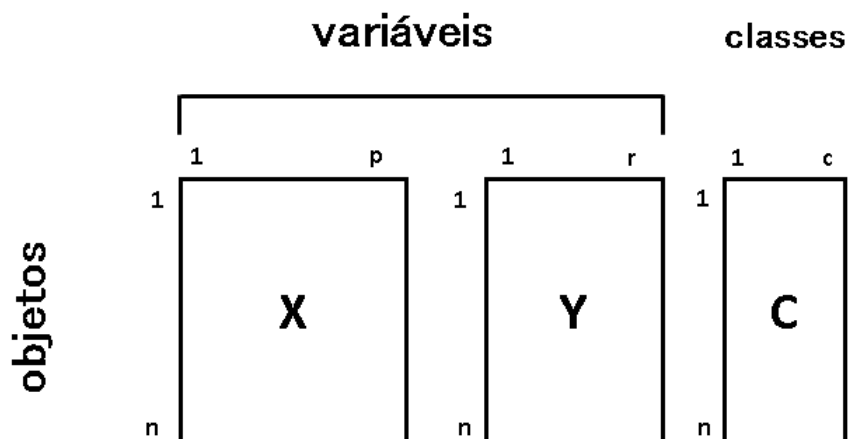


Figura 4.2: Representação de um conjunto de dados multivariados [17].

Uma vez que dados foram coletados após os procedimentos adequados, é possível organizá-los em um arranjo ordenado de linhas e de colunas constituindo, assim, uma tabela [65]. Nesse contexto, uma tabela de dados pode ser representada como uma matriz, nas quais as n linhas referem-se aos objetos e as p colunas são as variáveis com as quais os objetos são descritos [64].

Em geral, as variáveis são grandezas utilizadas para estudar um determinado fenômeno e para descrever completamente as observações, elas podem ser experimentais ou calculadas teoricamente [76]. Assim, as variáveis representam o modo como se descreve um sistema relacional empírico (escolher os melhores dados para mensurar os resultados desejados) e as escalas de medidas representam o modo em que as informações empíricas vêm transformadas em informações numéricas [64]. Logo, o propósito fundamental de uma escala de medida é aquele de converter informação empírica (experimental) em uma forma numérica de modo conveniente a fim de facilitar o cálculo e a interpretação dos resultados [64].

As variáveis podem ser divididas em dois grupos: o bloco $\mathbf{X}$ dos preditores (as variáveis independentes) e o bloco $\mathbf{Y}$ das respostas (as variáveis dependentes), conforme mostrado na imagem 4.2 [64]. Naturalmente, dependendo do problema considerado, uma variável pode pertencer uma hora ao bloco $\mathbf{X}$ e outra hora ao bloco $\mathbf{Y}$ [64]. Além disso, uma importante distinção entre variáveis é se elas são homogêneas, ou seja, se apresentam a mesma unidade de medida, ou heterogêneas, com unidades de medidas distintas [77]. Essa informação ajuda na decisão sobre o tipo de pré-processamento a ser aplicado aos dados.

Os objetos representam os exemplos ou amostras que temos disponíveis para entender o fenômeno estudado, para construir modelos matemáticos e para confirmar as hipóteses formuladas [64]. Nesse contexto, uma amostra pode ser descrita por uma única medida (experimental) ou por diversas medidas (multivariados). Destaca-se que um objeto pode ser totalmente descrito se, para todas as variáveis selecionadas para descrevê-lo, estão disponíveis os valores relativos [64]. Em outros casos, como acontece frequentemente, não estão disponíveis os dados para todas as variáveis selecionadas; nesse caso, o objeto é descrito de modo incompleto e se diz que existem valores ausentes [64].

Com base em um critério predefinido (como amostras não homogêneas, nas quais elas são provenientes de diversas populações ou pertencem a diferentes ordens) os objetos também podem ser associados a um vetor que contém as informações de pertencimento de cada objeto, levando a uma classe (categoria, grupo) predefinida [64]. Esse vetor é representado por números inteiros, com intervalo definido, que designamos de classes [64]. Desse modo, cada objeto é um número que identifica a classe de pertencimento [64]. Naturalmente, é possível haver critérios de classi-

ficação e, assim, esses parâmetros se tornam uma matriz (**C**) onde cada coluna representa um critério diverso de classificação, como mostrado na figura 4.2 [64].

Uma das características mais interessantes dos modernos instrumentos de medidas é o número de variáveis que podem ser medidas em uma única amostra [78]. Um exemplo notável é a intensidade de absorção de um único espectro, na qual a posição de um pico é determinada pelo número de onda ou pelo comprimento de onda, que chamaremos de variável [65]. A figura 4.3 mostra a representação de como a informação espectral (registrada pelo equipamento de medida) pode ser convertida em informação estatística.

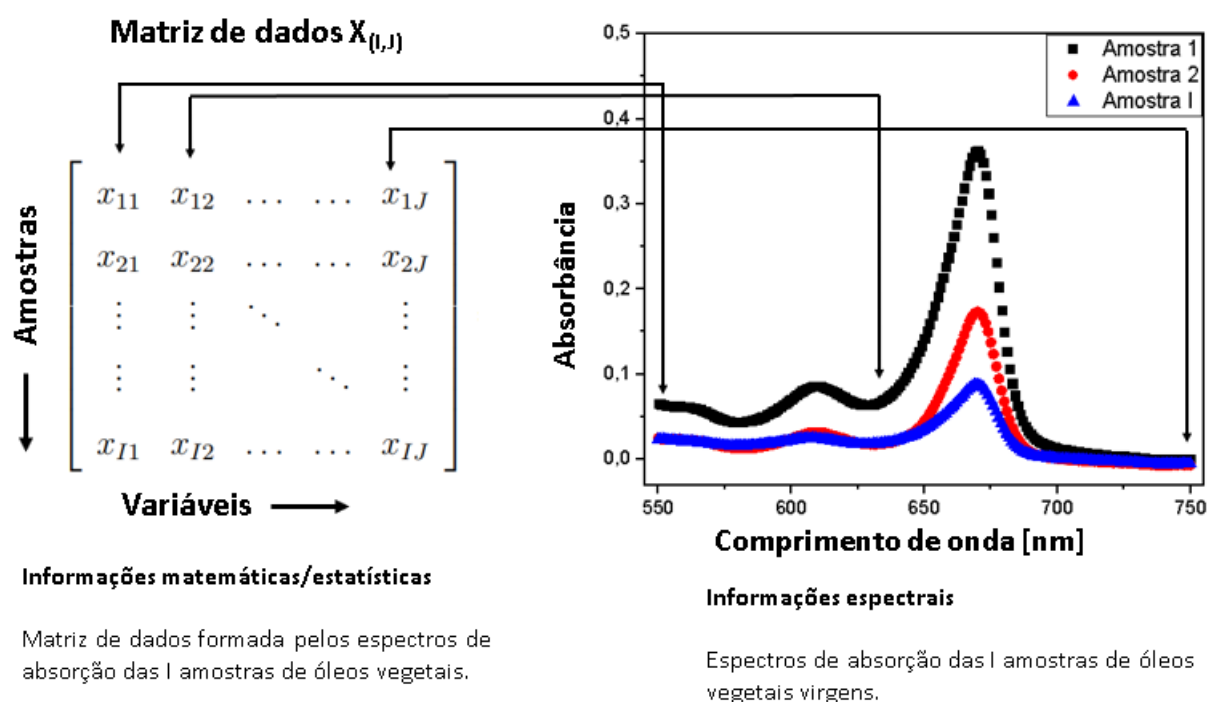


Figura 4.3: Representação da organização dos dados multivariados em uma matriz [17].

Conforme a figura 4.3 apresenta, os espectros de absorção para cada amostra são organizados em uma matriz, $\mathbf{X}(I \times J)$, de variáveis independentes (elementos da coluna dessa matriz). No exemplo mostrado na figura 4.3, temos os espectros de absorção para I amostras de óleos vegetais. A transformação dos dados espectrais em informação estatística é feita através de um vetor-linha, na qual o primeiro valor de absorção para a amostra 1, no comprimento de onda 550 [nm], é dado pelo elemento x_{11} , o segundo valor é dado pelo elemento x_{12} em um determinado comprimento de onda e assim sucessivamente até o último valor, para o comprimento de onda em 750[nm]. Cabe destacar que as variáveis irão depender do tipo de informação que foi utilizada, ou seja, elas podem ser referentes a um conjunto de atributos da amostra. Por exemplo, as variáveis poderiam ser concentração (primeira coluna), viscosidade (segunda coluna), índice de

iodo (terceira coluna) e assim por diante.

A matriz de dados, $\mathbf{X}$, pode ser representada na forma de uma matriz coluna ou de uma matriz linha, conforme mostra a equação 4.1.

$$\mathbf{X} = \begin{bmatrix} \mathbf{x}_1^T \\ \mathbf{x}_2^T \\ \vdots \\ \vdots \\ \mathbf{x}_I^T \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{x}_1 & \mathbf{x}_2 & \dots & \dots & \mathbf{x}_J \end{bmatrix}. \quad (4.1)$$

A primeira matriz do lado direito do sinal de igualdade da equação 4.1 é uma matriz coluna, em que seus elementos representam os espectros para as i - ésimas amostras do conjunto de dados, ou seja, cada amostra i é associada ao respectivo vetor-linha, $\mathbf{x}_i^T$, cujos elementos (x_i^T) são os J valores das medidas feitas para descrever suas propriedades [79]. O termo 'T' sobrescrito em x_i^T significa que a matriz linha é a transposta da matriz coluna.

$$\mathbf{x}_i^T = \begin{bmatrix} x_{i1} & x_{i2} & \dots & \dots & x_{iJ} \end{bmatrix} \quad (4.2)$$

Dessa forma, a matriz de dados pode ser escrita em termos do vetor-linha, mostrado na equação 5.2. Esse vetor pode ser associado a um ponto no espaço de dimensão J [65, 79]. Da mesma forma, a matriz $\mathbf{X}$ pode ser representada por uma matriz linha, segunda matriz à direita na equação 5.1. Nesse caso, cada elemento ($x_1, x_2, \dots, x_J$) é representado por uma matriz coluna, x_J [65, 79]. Para tais matrizes colunas, temos a resposta de uma única variável j para as respectivas i - ésimas amostras [65, 79]. Assim, as matrizes x_J podem ser escritas na forma

$$\mathbf{x}_j = \begin{bmatrix} x_{1j} \\ x_{2j} \\ \vdots \\ \vdots \\ x_{Ij} \end{bmatrix}. \quad (4.3)$$

Nesse caso, a equação 5.3 também pode ser associada a um vetor-coluna ou a um ponto o espaço de dimensão I [65, 79]. Portanto, para uma representação compacta da matriz de dados $\mathbf{X}$ ($\mathbf{I} \times \mathbf{J}$), temos um total de I linhas representando as amostras e J colunas que se referem às variáveis, cujo elemento x_{ij} é a resposta para a variável j referente à amostra i. [65]. Denomina-se esse conjunto de dados, que gera o espaço da informação, na qual a matriz é da forma $\mathbf{X}$ ($\mathbf{I} \times \mathbf{J}$), de "espaço das variáveis" (ou modo R), em que ele é, geometricamente, um hiperparalelepípedo delimitado pelo intervalo das variáveis [64, 76].

A grandeza do espaço das variáveis, que pode ser medida pelo traço da matriz das variâncias-covariâncias, avalia a dispersão. Se não houver (ou houver pouca) dispersão, não existe informação [64]. Desta forma, a existência de dispersão representa uma informação, enquanto que sua ausência significa uma qualidade (nesse caso é entendida como sendo uma característica constante, possuindo baixa dispersão) [64].

Contudo, em muitos casos é interessante "trocar os papéis" dos objetos e da variáveis, estudando o problema inverso usando o mesmo método. Neste caso, as variáveis são, matematicamente, tratadas como objetos e os objetos como a descrição das variáveis [76]. Na álgebra matricial, isso é possível aplicando o método da transposta da matriz $\mathbf{X}$, gerando um novo espaço representado por $\mathbf{X}^T$ com dimensão J x I [76]. Esse espaço é chamado de espaço dos objetos, ou modo Q.

4.2.2 Preparação dos Dados para Análise

Antes de realizar qualquer tipo de tratamento nos dados, é necessário fazer uma análise preliminar deles a fim de controlar e preparará-los para os sucessivos procedimentos. Nesse sentido, o pré-tratamento de dados pode ser considerado parte da estratégia geral para o reconhecimento de padrões e ele também é fundamental para entender as consequências sobre os resultados dos modelos de validação quando os dados são divididos em conjunto de treinamento e conjunto de teste (ou validação); o conjunto de teste é usado para determinar o quão bem o classificador prevê a classe de novas amostras [80].

Na verificação da veracidade dos dados, a primeira fase consiste em examinar se não existem erros evidentes de transcrição dos dados e a presença de eventuais dados faltantes (*missing values*), oportunamente representados por um código numérico unívoco (por exemplo, -999), escolhido de modo que ele nunca pode ser confundido com um valor que teoricamente uma variável pode assumir (não é adequado utilizar o zero como código para dados ausentes) [65].

Um exame mais geral dos dados consiste em averiguar os tipos de variáveis que descrevem o sistema. As variáveis podem ser classificadas em qualitativas ou em quantitativas. Geralmente, os conjuntos de dados que contêm dados quantitativos e qualitativos exigem técnicas específicas ou tratamentos especiais [76].

A variável é qualitativa quando os possíveis valores que ela assume representam atributos e/ou qualidades [75]. Se elas têm uma ordenação natural, indicando intensidades crescentes de realização, elas são classificadas como variáveis qualitativas ordinais [75]. Caso contrário, quando não é possível estabelecer uma ordem natural entre seus valores, elas são denominadas como variáveis qualitativas nominais [75].

Variáveis quantitativas são de natureza numérica e podem ser subdivididas em discretas e contínuas. As quantitativas discretas assumem valores finitos e enumeráveis [75]. Já as variáveis quantitativas contínuas assumem valores em intervalos de números reais e, geralmente, são provenientes de mensurações (como as repostas de um espectrômetro, as intensidades registradas nos diferentes comprimentos de onda) [65, 75].

A figura 4.4 mostra um esquema que resume a classificação das variáveis.

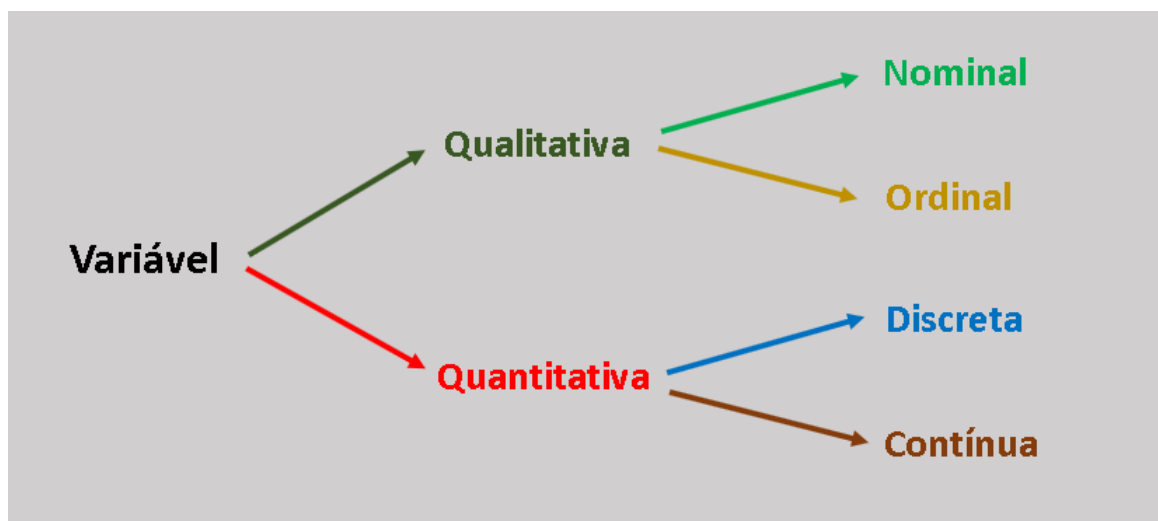


Figura 4.4: Classificação de variáveis [17].

Vale ressaltar que, em muitas situações práticas, a classificação depende de certas particularidades. Por exemplo, podemos discretizar uma variável contínua para obter uma melhor representação da ocorrência de seus valores no conjunto de dados [75]. Além do mais, é necessário verificar se não existem variáveis constantes, ou seja, cujos valores são todos iguais para os objetos considerados [76]. Nesse caso, deve-se excluir a variável de qualquer processamento posterior [76]. Destacá-se que as classificações mencionadas se referem à natureza da variável e, em geral, devemos ter prudência na hora de decidir qual procedimento adotar para caracterizar uma variável [75].

Após a realização dos exames preliminares e com os dados organizados na forma de matriz, podemos fazer, se necessário, os pré-tratamentos antes da análise quimiométrica [65]. Esse é um procedimento fundamental para o sucesso da análise multivariada e, em geral, vários métodos são testados para garantir que o pré-tratamento mais adequado seja utilizado [5].

O objetivo da aplicação das técnicas de pré-tratamento é reduzir as variações indesejáveis que não foram removidas durante a aquisição dos dados e que não serão eliminadas naturalmente durante a análise, mas que podem influenciar os resultados finais [65]. Dessa forma, a matriz de dados se torna melhor condicionada para a análise, possibilitando a subsequente análise exploratória do conjunto de dados com eficiência [5].

Uma vez que os dados foram organizados na forma de matriz, é possível realizar dois tipos de pré-tratamento, um deles é aplicado às amostras (às linhas da matriz de dados), e o outro às variáveis (às colunas de $\mathbf{X}$) [65]. A fim de discriminá-los, chamaremos o primeiro deles de "transformação" e o segundo de "pré-processamento" [65].

A seguir, discutiremos os métodos de pré-tratamento mais utilizados para a transformação e o pré-processamento dos conjuntos de dados, juntamente com as razões para empregá-los.

4.2.2.1 Transformação dos Dados

Em muitos casos, as variáveis apresentam comportamentos indesejáveis como não normalidade, não aditividade, não linearidade em relação a outras variáveis, heterocedasticidade (ou seja, a variância amostral não é distribuída uniformemente e apresenta forte dispersão caracterizando acentuada assimetria, oposto a homocedasticidade) [76]. Assim, as transformações são usadas para contrabalançar as violações das premissas exigidas dos muitos métodos estatísticos quando se tenta construir modelos sobre dados experimentais, eliminando ou atenuando os comportamentos inconvenientes para posterior análise [76].

Em geral, as transformações de uma variável têm um dos seguintes propósitos: estabilizar a variância, linearizar as relações entre as variáveis, normalizar a distribuição, obter aditividade ou desenvolver modelos mais robustos [76].

De forma genérica, a transformação consiste em preparar as linhas da matriz de dados para a análise [65]. Cada amostra é pré-tratada individualmente, usando-se a mesma regra para todas elas [65]. Existem varias técnicas matemáticas comuns que podem ser aplicadas com objetivo de reduzir tanto as variações aleatórias (ruídos ou contribuições estocásticas que geram flutuações) quanto as informações sistemáticas indesejáveis (que podem ser causadas pelo instrumento de medida ou pela própria amostra) que não foram removidas durante a aquisição dos dados [65]. Em geral, a componente aleatória (ruído experimental) pode ser reduzida por meio de técnicas de alisamento [65]. Já as variações sistemáticas podem ser eliminadas ou reduzidas por meio de correções da linha de base e de outros tipos de transformações [65]. A seguir discutiremos, sem muitos detalhes, as principais transformações que podem ser aplicadas às amostras antes da análise de dados.

- **Alisamento pelo Método de Savitzky-Golay**

Os métodos de alisamento, também conhecidos como alisamento feito com o uso de filtros digitais, têm grande aplicação nas áreas de espectroscopia e cromatografia para redução da componente aleatória dos dados e consequente aumento da relação sinal/ruído (razão entre a intensidade do sinal analítico e a raiz da variância associada ao sinal) [65,81]. Além disso, o alisamento pode ser usado para destacar pequenos picos que estão mascarados na linha de base em que o ruído é alto e também como um método de compressão dos

dados [65].

Savitzky-Golay, descrito pela primeira vez por Abraham Savitzky e Marcel J. E. Golay em 1964, é um método matemático de suavização baseado em uma regressão polinomial, ou seja, ele permite verificar se é possível ajustar um modelo que expresse relação entre os atributos (ou variáveis) [82]. A sua implementação consiste em se tomar uma janela de comprimento n e movê-la um ponto por vez ao longo de todo o sinal analítico, conforme ilustrado pela figura 4.5.

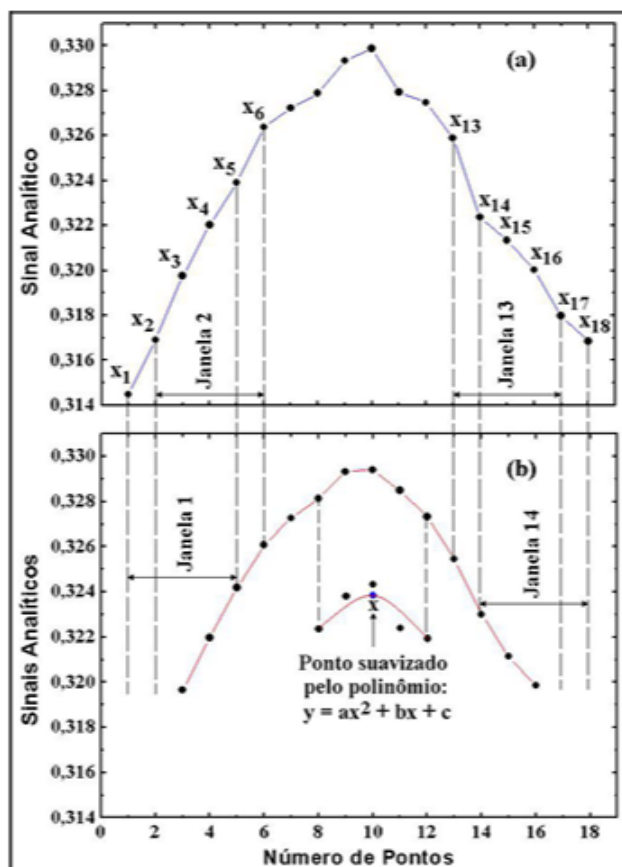


Figura 4.5: Exemplificação do emprego do método de Savitzky-Golay na suavização de ruídos. (a) Sinal original; (b) sinal suavizado pelo métodos de Savitzky-Golay com uma janela $n = 5$ [82].

Conforme mostrado na figura 4.5, cada janela possui comprimento igual a 5, sendo que a janela 1 é formada pelo intervalo entre os pontos x_1 e x_5 , a janela 2 é composta pelo interstício entre x_2 e x_6 e assim por diante. Dependendo do sinal analítico, o polinômio pode ser de primeira, segunda (utilizado para suavizar a curva mostrada na figura 4.5 (b)) ou de ordem superior. De modo geral, a suavização Savitzky-Golay usa uma média ponderada em que os pesos são obtidos por um ajuste polinomial [65]. A técnica se baseia em ajustar um polinômio (interpolação polinomial) de grau p às respostas da primeira

janela que contém $(2m + 1)$ pontos, indicados aqui como $k = -m, -m+1, \dots, -1, 0, 1, \dots, m-1, m$, em que $k = 0$ representa o seu centro [79]. Em seguida, a resposta do ponto central da janela é substituída pelo polinômio ajustado (figura 4.5 (b)) e, então, a janela se move novamente e o valor do polinômio é calculado em seu novo centro [79]. O processo só termina após todas as janelas terem sido alisadas [79].

O alisamento com o método de Savitzky-Golay depende de dois parâmetros: do número de pontos da janela e do grau do polinômio ajustado [65]. O polinômio interpolante de grau a a ser ajustado aos dados da primeira janela pode ser definido como

$$x[k] = \sum_{n=0}^p a_n k^n, \quad (4.4)$$

que pode ser representado por

$$x_k = a_0 + a_1 k + a_2 k^2 + \dots + a_n k^n, \quad \text{na qual} \quad k = -m, \dots, 0, \dots, +m. \quad (4.5)$$

Matricialmente a equação 4.4 pode ser escrita na seguinte forma,

$$\mathbf{X} = \mathbf{M}\mathbf{a}, \quad (4.6)$$

e expandida como

$$\begin{bmatrix} x[-m] \\ \vdots \\ x[0] \\ \vdots \\ x[+m] \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & -m & (-m)^2 & \dots & (-m)^n \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & 0 & (0)^2 & \dots & (0)^n \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & +m & (+m)^2 & \dots & (+m)^n \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_0 \\ a_1 \\ a_2 \\ \vdots \\ a_n \end{bmatrix}. \quad (4.7)$$

A determinação dos coeficientes a_n consiste na solução do sistema $\mathbf{X} = \mathbf{M} \mathbf{a}$, que corresponde ao ajuste polinomial dos dados experimentais e que utiliza ajustes por mínimos quadrados de modo que esses coeficientes são aqueles que minimizam o erro quadrático médio [65, 83].

A matriz $\mathbf{M}$ é denominada de matriz de Savitzky-Golay, que corresponde a uma matriz na qual os elementos de cada linha estão em progressão geométrica (matriz de Vandermonde) [83]. Essa estrutura matricial possui $2m + 1$ linhas $n + 1$ colunas e as relações entre m e n geram várias situações do sistema mostrado na expressão 4.6 [83]. O caso em que $2m > n$ permite usar uma matriz que se comporta como a inversa (matriz pseudo inversa)

$$\mathbf{a} = (\mathbf{M}^T \mathbf{M})^{-1} \mathbf{M}^T \mathbf{x}, \quad (4.8)$$

para os coeficientes e calcular o polinômio que interpola os pontos amostrados de forma a minimizar o erro médio quadrático entre o polinômio encontrado e os pontos amostrados [83]. Dessa forma, dada a condição $2m > n$, a equação 4.6 pode ser reescrita de forma a calcular a saída do filtro de suavização dependendo apenas da matriz de Savitzky-Golay e do sinal de entrada

$$\mathbf{X} = \mathbf{M}(\mathbf{M}^T \mathbf{M})^{-1} \mathbf{M}^T \mathbf{x} = \mathbf{H}_0 \mathbf{x}, \quad (4.9)$$

na qual a matriz $\mathbf{H}_0$ é definida como matriz de coeficientes do filtro suavizador de Savitzky-Golay. Os coeficientes encontrados são combinações lineares dos resultados experimentais em cada ponto da janela e, uma vez obtidos os coeficientes, podem-se encontrar os valores estimados para cada ponto da janela

Uma vantagem do filtro de Savitzky-Golay é que os componentes de alta frequência são incluídos no cálculo, o que permite que o filtro mantenha as propriedades da distribuição, como máximos e mínimos.

- **Técnica de Correção da Linha de Base - Derivadas** Em muitas técnicas espectroscópicas pode-se encontrar problemas de linha de base nos espectros, como o deslocamentos do espectro e/ou a inclinação na linha de base [65]. Esses problemas pode ser

corridos por derivação dos espectros, pois a primeira derivada de uma constante é zero, demo que o espectro resultante estará deslocado para o zero; enquanto que a segunda derivada corrige a inclinação da linha de base [65]. Logo, a derivada atua como um filtro passa-alto (*high-pass filter*), refinando os picos do espectro. Para entendermos melhor como essa transformação funciona, usaremos como exemplo o pico de absorção ilustrado da figura 4.8 [79].

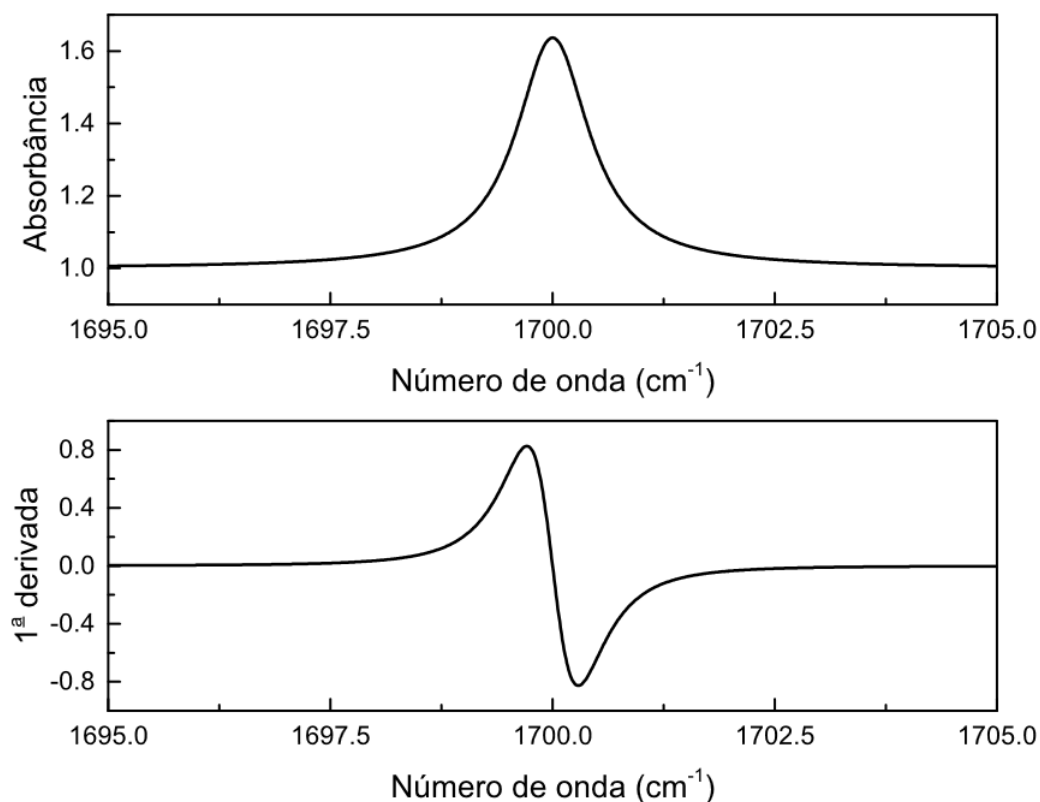


Figura 4.6: Pico de absorção e sua respectiva primeira derivada [79].

A derivada de uma função em um ponto qualquer da curva é a inclinação da reta tangente à curva naquele ponto; logo, a derivada de um pico terá dois lobos (um positivo, relativo ao lado esquerdo, e outro negativo, relativo ao lado direito do pico). Os máximos, positivo e negativo da derivada, correspondem aos pontos de inflexão do pico original [65]. No ponto de intensidade máxima, a inclinação da reta tangente é nula e, portanto, a derivada é igual a zero [65]. Por essa razão, as derivadas de um espectro são uteis para localizar as posições dos picos em um espectro [79]. Destaca-se que após a aplicação da primeira derivada no espectro da figura 4.8, o deslocamento da linha de base foi removido, uma vez que o deslocamento pode ser considerado como um valor constante somado a todas as absorbâncias no espectro e que a derivada de uma constante é nula, após efetuarmos a

derivação, o deslocamento de linha de base é removido de todo o espectro [79]. Ressalta-se que a informação referente à área do pico é conservada quando se toma a derivada, pois a derivada é uma transformação linear. Além disso, a correspondência quantitativa entre os espectros e a concentração ainda é válida para os espectros transformados [79]. A segunda derivada também pode ser usada para examinar um espectro. A figura 4.9 mostra a segunda derivada do pico de absorção da figura 4.8.

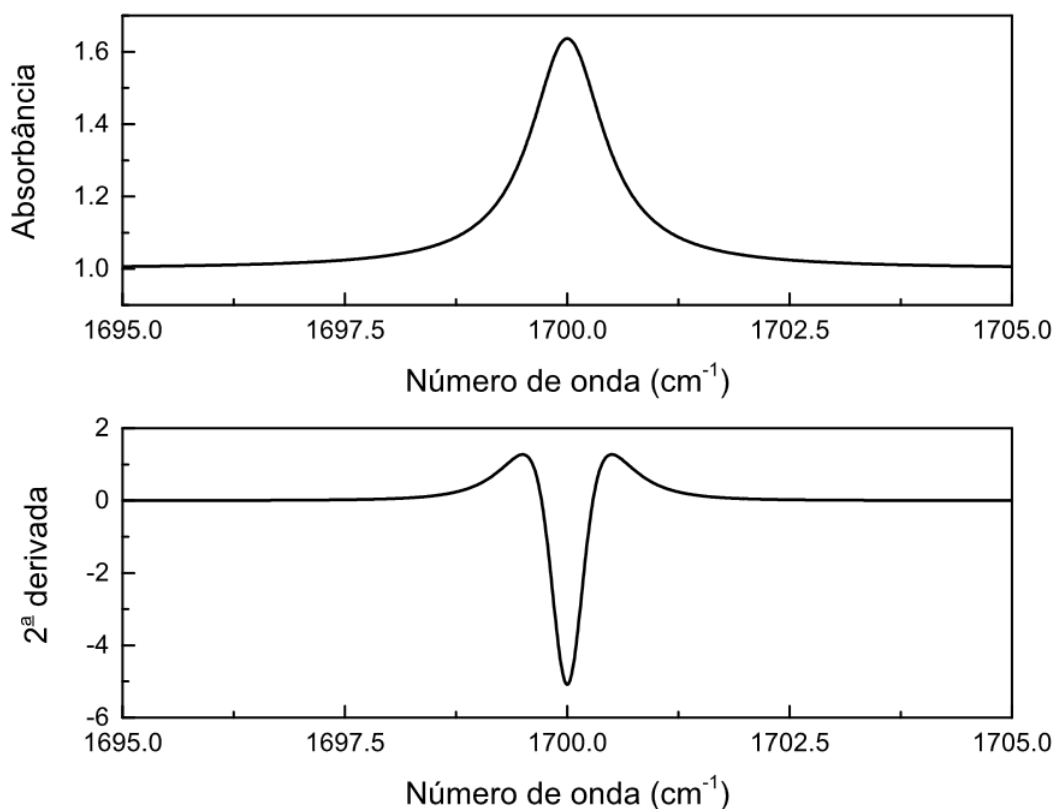


Figura 4.7: Pico de absorção e sua respectiva segunda derivada [79].

Conforme a figura 4.9 mostra, a segunda derivada possui um lobo positivo, passa por zero no primeiro ponto de inflexão, tem um lobo negativo, passa por zero novamente no segundo ponto de inflexão e apresenta um lobo positivo antes de retornar para a linha de base, respectivamente [79]. O ponto de mínimo local do lobo negativo corresponde ao número de onda da absorção máxima da banda original. Assim, essa estratégia pode ser usada para encontrar picos e separar grupos de picos sobrepostos [79]. O uso da segunda derivada também preserva a informação da área do pico. Logo, o uso das primeira e segunda derivadas corrige o deslocamento e a inclinação dos espectros [79]

4.2.2.2 Pré-Processamento dos Dados

Após minimizar o ruídos aleatórios dos espectros, avalia-se a necessidade de pré-processar os dados com objetivo de adequá-los de maneira a maximizar o efeito de certas variáveis no conjunto total de dados, pois a matriz de dados apresenta variáveis com significados físicos, magnitudes e unidades distintas. É o caso de quando as variáveis medidas conterem informações correlacionadas, como ocorre no caso de dados espectroscópicos. Os pré-preprocessamentos das variáveis podem ser feitos de várias maneiras, dentre elas destaco as utilizadas no presente trabalho como centrar os dados na média.

- **Centragem na Média** Para centrar os dados na média, primeiro calcula-se o valor médio de cada coluna da matriz de dados e, a seguir, esse valor é subtraído de cada um dos valores da respectiva coluna, tal como mostra a expressão 4.10.

$$x_{ij(cm)} = x_{ij} - \overline{x_j} \quad (4.10)$$

onde

$$\overline{x_j} = \frac{1}{I} \sum_{i=1}^I x_{ij(cm)} \quad (4.11)$$

é o valor médio dos respectivos valores de $x_{ij(cm)}$ para a coluna j . O resultado desse pré-processamento é uma translação de eixos para o valor médio de cada um deles e, consequentemente, a estrutura dos dados é totalmente preservada [65]

4.3 Análise Exploratória dos Dados

A procura por regularidades e padrões em dados é essencial para o entendimento dos problemas analisados em quimiometria. Nesse sentido, os métodos de reconhecimento de padrões, através dos quais podemos encontrar tendências e os agrupamentos em um conjunto de amostras, são ferramentas que podem ser utilizadas para extrair conhecimento dos dados e, assim, interpretar os resultados e tomar decisões [65]. Com auxílio dos métodos de reconhecimento de padrões

pode-se, por exemplo, identificar a origem de amostras de café ou a diferença entre vinhos a partir de seus perfis cromatográficos [65].

Os métodos quimiométricos utilizados para identificar as semelhanças e as diferenças em vários tipos de amostras, para agrupá-las e classificá-las, estão divididos em dois grupos: os métodos "supervisionados" e os métodos "não supervisionados" de reconhecimento de padrões [5, 65]. Esses métodos se baseiam na validade das alegações de que as amostras do mesmo tipo são semelhantes, de que existem diferenças significativas entre diferentes tipos de amostras e de que o conjunto de medidas disponíveis é capaz de detectar essas semelhanças e diferenças [65].

Nos métodos supervisionados (como o método de classificação, o método do k-ésimo vizinho mais próximo, a análise discriminante linear, análise discriminante por mínimos quadrados parciais, dentre outros) é necessário que exista alguma informação inicial sobre a identidade das amostras para a formação das classes [5, 80]. Por isso esses métodos são denominados "supervisionados", pois as informações a respeito das classes é que supervisionam o desenvolvimento dos critérios de discriminação (classificação) que serão utilizados posteriormente para fazer o reconhecimento de novas amostras [65]. Logo, o objetivo desses métodos é desenvolver um modelo baseado nas informações contidas nas amostras [65].

Nos métodos não supervisionados (por exemplo, a análise de componentes principais e a análise de agrupamentos por métodos hierárquicos) a separação de classes acontece sem a necessidade de informações iniciais sobre a natureza das amostras e o objetivo é identificar agrupamentos naturais entre as amostras e se existem tendências (como tendência temporal, ou seja, crescimento ou decrescimento da variável em um certo intervalo de tempo) nos dados [5, 80]. Desse modo, as amostras são agrupadas naturalmente com base na informação contida nos dados experimentais em questão e sem a preocupação de construir uma regra preditiva [65]. Esses métodos são chamados de "métodos de análise exploratória de dados".

Basicamente, a análise exploratória de dados envolve a visualização de relações entre as amostras e entre as variáveis. Assim, ela é uma etapa de natureza geral, no qual é possível extrair as informações relativas aos parâmetros estatísticos de cada variável, as correlações entre as variáveis, as hipóteses de trabalho mais consistentes, as presenças de eventuais dados anômalos, dentre outras informações [64]. Destacá-se que, geralmente, a análise exploratória de dados é um estágio preliminar a modelagem supervisionada, como a classificação (ou calibração) [80].

Nessa conjuntura, podemos citar, como exemplo, uma matriz de dados de amostras que são caracterizadas pela concentração dos componentes químicos, ou por métodos espectroscópicos.

Nesse caso, a matriz possui um tamanho típico que varia de 20 a 1000 objetos e de 5 a 500 variáveis [64]. Geralmente, só dispomos das informações presentes nessa matriz e, assim, o objetivo da análise exploratória de dados é pesquisar por grupos de amostras similares (formando aglomerados, ou "*clusters*") e pelas chamadas "*outliers*", ou seja, amostras que não são classificadas em nenhuma das classes e que não pertencem a uma estrutura ou subestrutura [64]. A figura 4.5 ilustra essa situação, com destaque que os aglomerados formam as classes e, essas, formam os espaços das classes.

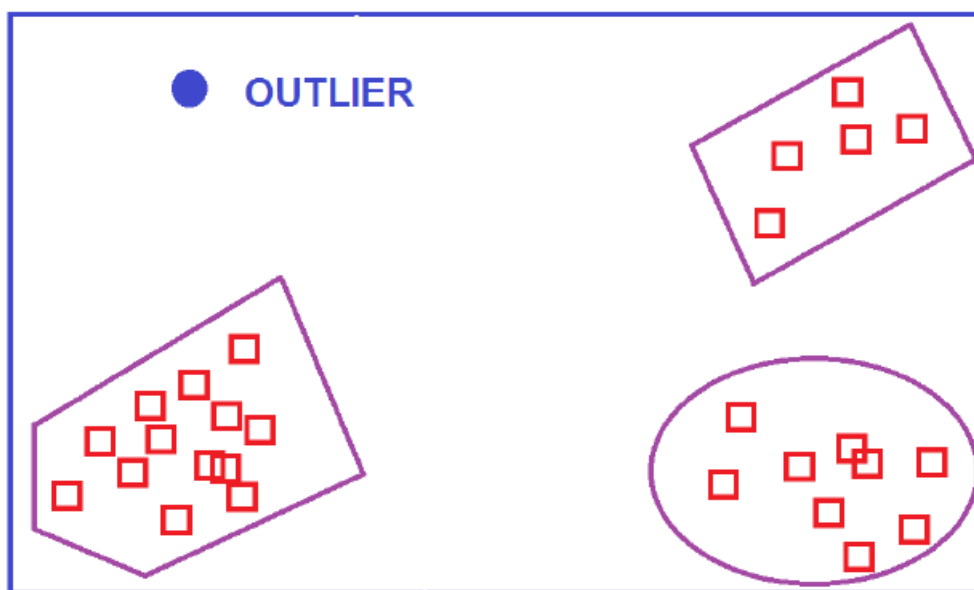


Figura 4.8: Ilustração da utilização da estrutura *clusters* e *outliers* para construção de modelos de classes, das quais se originam os espaços de classes no espaço bidimensional [adaptado de [76].

A análise explorativa é essencialmente baseada em gráficos que permitem visualizar de forma adequada grande parte das informações contidas na matriz de dados [65]. O método amplamente usado para exploração é a análise de componentes principais, pois ela não deforma o espaço original [76]. A análise hierárquica de agrupamentos é outro método de reconhecimento de padrões usado para exploração dos dados [76]. Esses processos são muito úteis, principalmente, quando temos grande quantidade de informações de um sistema multivariado.

4.3.1 Análise de Componentes Principais (ACP)

A análise de componentes principais (ACP) é, provavelmente, a técnica estatística multivariada mais popular e ela é usada por quase todas as disciplinas científicas [8]. Além disso, também é provável que ela seja a técnica multivariada mais antiga e existem numerosas contestações

sobre a primeira vez em que a ACP foi utilizada na literatura [7, 8].

A origem da análise de componentes principais pode ser atribuída a matemáticos e físicos, pois as ideias fundamentais dessa técnica se baseiam em abordagens bem conhecidas por esses estudiosos [7]. Augustin-Louis Cauchy (1789-1857), Camille Jordan (1838-1922), James Joseph Silverster (1814-1897), William Rowan Hamilton (1805-1865) e Arthur Cayley (1821-1895) estão entre os cientistas que contribuíram para o desenvolvimento da ACP, mas o primeiro artigo científico mais famoso que trata sobre o tema foi proposto por Karl Pearson (1857-1936) em 1901 [7, 8]. O tratamento formal do método, todavia, é devido ao trabalho de Harold Hotelling (1895-1973) divulgado na década de 1930 e que causou uma revolução no uso de métodos multivariados na área da psicologia [65].

A análise de componentes principais pode ser vista como um método que possibilita a investigação de um número muito grande de dados e também torna possível a identificação das medidas responsáveis pelas maiores variações entre os resultados, sem perdas significativas de informações [7, 8]. Além disso, ela transforma um conjunto original de variáveis em outro conjunto, denominado componentes principais (termo introduzido por Harold Hotelling), de modo que a perda de informação seja mínima [65, 70]. Essa transformação busca eliminar variáveis originais que possuam pouca informação e esse procedimento só será possível se as variáveis forem correlacionadas [8]. Logo, o uso da análise de componentes principais é adequado quando as variáveis são originárias de processos em que diversas características podem ser observadas ao mesmo tempo [70].

A ideia central da ACP baseia-se na redução do conjunto de dados a ser analisado mantendo somente as informações importantes sobre o sistema [7, 69]. Dessa forma, procura-se redistribuir a variação nas variáveis (eixos originais) de forma a obter um conjunto ortogonal (perpendiculares entre si) de eixos não correlacionados [8, 70]. Essa compressão do tamanho do conjunto de dados contribui para simplificar a descrição do sistema e ela é feita transformando-se o conjunto de variáveis originais correlacionadas em um novo conjunto de novas variáveis não correlacionadas (componentes principais), sendo essas as combinações lineares das variáveis iniciais [8, 70]. Além disso, as componentes principais são dispostas na direção de maior variabilidade, ou seja, são colocadas em ordem decrescente por suas variâncias (variância da CP1 > variância da CP2 > variância da CP3 ...) [8]. Dessa forma, a ACP permite o agrupamento de indivíduos similares mediante exames visuais, em dispersões gráficas no espaço bi ou tridimensional e, assim, facilitando a interpretação geométrica [70].

Nessa conjuntura, a ACP pode ser interpretada como um método utilizado para projetar os

dados multivariados em um espaço de dimensão menor e, assim, reduzindo a dimensionalidade do espaço original do conjunto de dados, sem que as relações entre as amostras sejam afetadas [65]. Os métodos de projeção são bem difundidos para o tratamento de dados em espectroscopia e cromatografia, de modo que os montantes de variáveis são altamente correlacionadas [65].

A fim de ilustrar o método de projeção, imaginemos um conjunto de pontos no espaço tridimensional, R^3 , conforme a figura 4.9 ilustra.

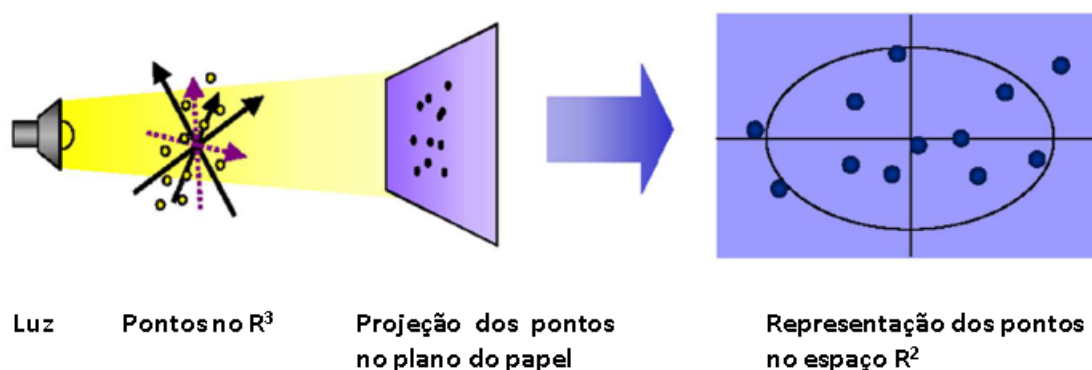


Figura 4.9: Representação do método de projeção [adaptado de [64].

Perante o exposto na figura 4.9, ao colocarmos um papel atrás dos pontos e incidindo luz sobre eles, percebemos a sombra de cada ponto no papel. Assim, fez-se a projeção dos pontos (dados) do espaço R^3 no espaço R^2 (do papel), na direção dos raios de luz, reduzindo a dimensão do espaço original que era três, para o plano [65]. Dizemos que com essa projeção houve uma "compressão" dos dados, ou seja, uma perda controlada de informações que é compensada pela melhor compreensão do conjunto de dados [65]. De forma similar, quando as variáveis originais têm correlações significativas, o método ACP permite encontrar um número menor de variáveis que ainda sejam capazes de descrever aproximadamente toda a informação contida nos dados originais e, assim, caracterizando uma compressão dos dados através de combinações lineares das variáveis originais de maneira a agrupar aquelas que fornecem informações semelhantes [65].

A compressão dos dados permite a redução da dimensionalidade através da representação do conjunto de dados em um novo sistema de eixos ordenados, denominados de componentes principais (CP), permitindo a visualização da natureza multivariada dos dados em poucas dimensões [5]. A figura 4.10 mostra a projeção de um conjunto de dados no espaço das componentes principais.

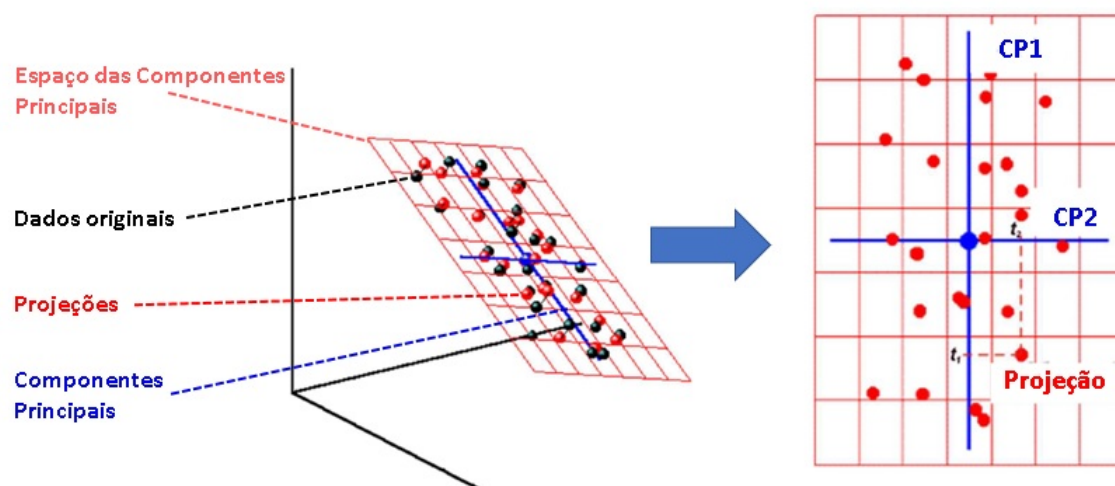


Figura 4.10: Representação de um conjunto de dados no espaço das componentes principais [adaptado de [8]].

Conforme apresentado na figura 4.10, os dados não tratados, também chamados de variáveis reais, podem ser projetados no plano das componentes principais ignorando-se as distâncias entre os dados originais e suas respectivas projeções, uma vez que essas distâncias não alteram as características do sistema [65]. Em seguida, novas variáveis, denominadas variáveis latentes, são geradas através de um processo matemático que efetua a compressão dos dados [69]. As variáveis latentes são assim chamadas porque elas não podem ser visualizadas diretamente nos sinais experimentais reais, a menos que esses últimos sejam submetidos à operações matemáticas que revelam a sua presença [69].

A ligação entre as variáveis latentes e as reais é realizada através um conjunto de vetores chamado de pesos [69]. Dessa forma, os pesos são as ferramentas que permitem compactar, ou descompactar, as informações por meio de projeções desses dados, seja no espaço das componentes principais (compressão) ou no espaço original dos dados não tratados (descompressão de dados) [69]. Logo, os pesos são os coeficientes das combinações lineares e, matematicamente, eles são os cossenos diretores dos ângulos formados entre as variáveis originais e as componentes principais, representando, portanto, o quanto cada variável original contribui para uma determinada CP [5].

As componentes principais também podem ser representadas geometricamente por rotações dos eixos ortogonais originais, uma vez que o ato de rotacioná-los tem efeito similar ao de projeção e, assim, um novo sistema de eixos, denominado componentes principais, é gerado [8]. A figura 4.11 mostra um exemplo de rotação ortonormal, na qual é possível visualizar como um novo sistema de eixos é gerado e como os dados são visualizados antes e após a rotação dos eixos.

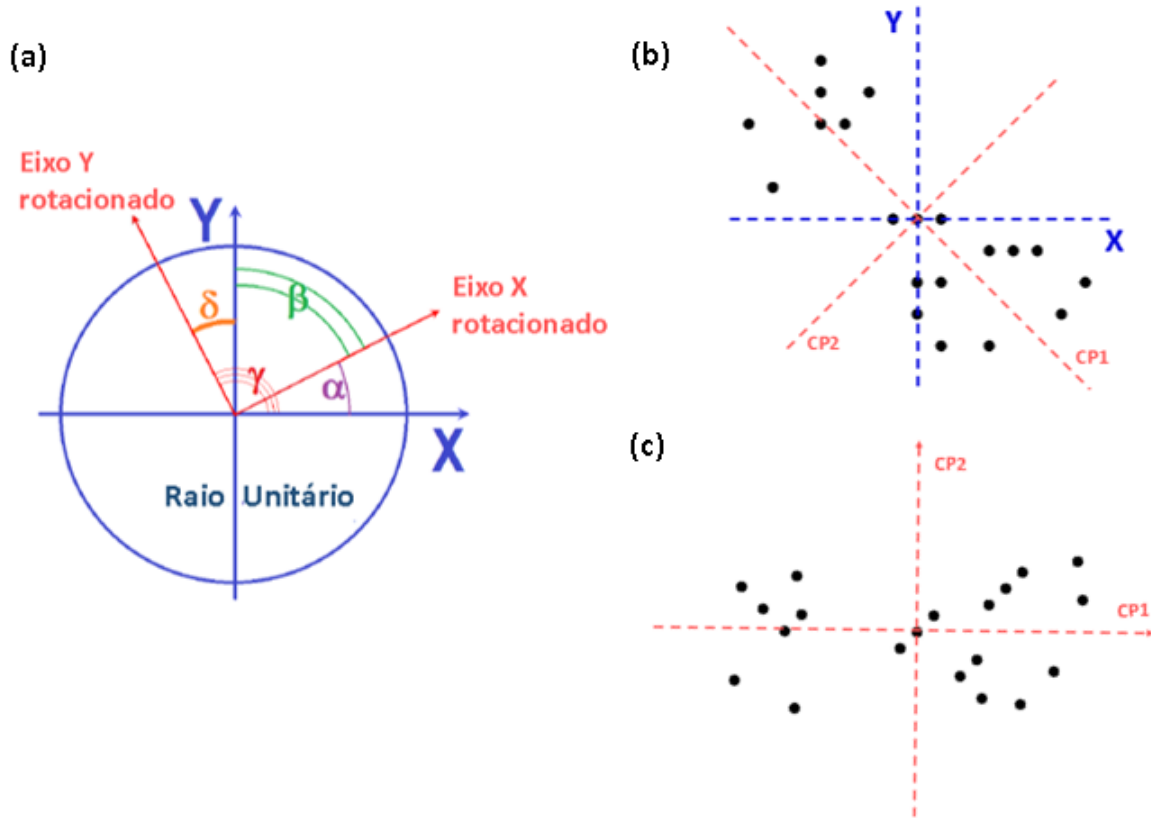


Figura 4.11: Rotação ortonormal de eixos e projeção [adaptado de [64]].

Como mostrado na figura 4.11(a), o eixo X rotacionado forma com os dois eixos originais os ângulos α e β , enquanto que o eixo Y girando forma com esses eixos os ângulos δ e γ . Logo, podemos estabelecer que $\delta = \alpha$, $\gamma = \alpha + 90^\circ$ e $\beta = 90^\circ - \alpha$. Para os cossenos diretores (cosseno dos ângulos que um eixo rotacionado forma com os eixos das variáveis originais) podemos definir que $\cos \delta = \cos \alpha$, $\cos \gamma = -\sin \alpha$ e $\cos \beta = \sin \alpha$. A figura 4.11(b) exibe um conjunto de dados, no espaço bidimensional, no sistema de eixos originais (retas azuis tracejadas) e em relação aos novos eixos, das componentes principais (retas vermelhas tracejadas), derivados da rotação. Após uma rotação ortonormal dos eixos originais em torno da origem, o conjunto de dados pode ser visualizado e representado no espaço das componentes principais, como é mostrado na figura 4.11(c). Logo, na rotação ortonormal a distância dos dados até a origem não é alterada, somente a direção do vetor que representa o ponto no espaço é alterada [64].

Nesse contexto, podemos dizer que algebricamente as componentes principais são combinações lineares das variáveis originais, enquanto que geometricamente as combinações lineares representam a seleção de um novo sistema de coordenadas obtido por uma rotação do sistema original, de modo que os novos eixos representam as direções com máxima variabilidade [7, 70]. Logo, elas fornecem uma descrição mais simples e parcimoniosa da estrutura de covariância (grau de

independência entre duas variáveis) [70].

Os fundamentos matemáticos que permitem a realização da análise de componentes principais são definidos por meio da álgebra matricial [67]. Desse modo, considerando uma matriz de dados (que será denominada por $\mathbf{X}$), onde cada vetor-linha representa uma amostra e cada vetor-coluna retrata uma variável podemos escrevê-la das seguintes maneiras:

$$\mathbf{X} = \begin{bmatrix} \mathbf{x}_1^T \\ \mathbf{x}_2^T \\ \vdots \\ \vdots \\ \mathbf{x}_I^T \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \dots & \dots & x_{1J} \\ x_{21} & x_{22} & \dots & \dots & x_{2J} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{I1} & x_{I2} & \dots & \dots & x_{IJ} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{x}_1 & \mathbf{x}_2 & \dots & \dots & \mathbf{x}_J \end{bmatrix}. \quad (4.12)$$

O procedimento matemático utilizado para realização da análise de componentes principais consiste na decomposição da matriz $\mathbf{X}$ ($I \times J$) em duas matrizes, uma de escores $\mathbf{T}$ e uma matriz ortonormal de pesos $\mathbf{L}$ [65]. Logo, a matriz de dados por ser escrita como $\mathbf{X} = \mathbf{T}\mathbf{L}^T$ [65]. A matriz dos escores expressam as relações entre as amostras, enquanto que a matriz dos pesos indicam conexões entre as variáveis [8]. Essa decomposição equivale a uma mudança de base do espaço das variáveis originais para o espaço das componentes principais, onde cada uma das J colunas da matriz $\mathbf{L}$ define a direção de um eixo (de uma componente principal no novo conjunto de base) [65].

Em geral, a matriz de dados passa pelo pré-tratamento de dados antes da análise. É muito comum centrar as colunas da matriz $\mathbf{X}$ na média, assim a média de cada coluna é igual a zero. Além disso, as componentes principais dependem da matriz de covariância (ou da matriz de correlação).

A análise de componentes principais de um lado é parte da exploração de dados, passo preliminar e fundamental do processamento. Em segundo, fornece um novo conjunto de variáveis, geralmente, em número muito menor do que as variáveis originais, não correlacionadas, quali-

dade importante para utilização das técnicas quimiométricas. Em geral, um certo número de variáveis que descrevem os dados são transformados em novas variáveis, chamadas de componentes principais, que são combinações lineares das variáveis originais, do qual a característica principal é que elas são ortogonais entre si.

A análise de componentes principais é uma das mais importantes entre as diversas técnicas de exploração de dados baseados em decomposição de matrizes de dados em fatores (que também são chamados, dependendo do modo utilizado, componentes principais ou variáveis latentes).

4.3.2 Análise de Correlação de Pearson

Muitos problemas de investigações vão além da simples descrição de uma variável em seus vários aspectos. Nesse contexto, com o objetivo de determinar a relação existente, ou a similaridade, entre duas variáveis observáveis, comumente, é realizada uma análise de correlação, pois essa técnica identifica e quantifica as associações, ou os vínculos, entre as variáveis.

A presença de correlação entre os dados é fundamental sobre o exito final das aplicações dos métodos quimiométricos; sendo assim, é de grande interesse estimar a quantidade de correlação contida nos dados. Matematicamente, a análise de correlação é uma técnica que determina as combinações lineares entre grupos de variáveis, de tal forma que é possível identificar as que possuem maior correlação. Assim, as correlações podem auxiliar no discernimento sobre o relacionamento entre os dois conjuntos de variáveis.

A correlação é a quantificação do grau em que duas variáveis aleatórias estão relacionadas, desde que seja uma relação linear, o que significa que uma variável tem um comportamento diretamente ou inversamente proporcional a outra variável. A representação da dependência entre as variáveis pode ser visualizada em um plano cartesiano, no qual os dados são distribuídos de modo a formar uma linha de tendência, uma reta, e assim, gerar o gráfico de dispersão dos dados.

Uma vez que a relação entre as duas variáveis é conhecida, linear, é necessário aferir a direção, que está relacionada ao sinal que precede o coeficiente, e a intensidade, o valor numérico do índice, do vínculo entre as duas variáveis. Nesse caso, a correção linear de Pearson pode ser aplicada para obter essa informação.

A correlação linear, também conhecida como de Pearson ou de Bravais-Pearson, é um índice adimensional com valores que variam de -1 a 1 e que mede a associação entre duas variáveis ou,

especificamente, evidencia o grau de dependência entre elas. Quando os coeficientes possuem valores negativos a direção da reta é decrescente e significa que quando o valor de uma variável aumenta, o da outra diminui. Para valores positivos dos índices, a reta é crescente e indica que se o valor uma variável cresce, o da outra também cresce. Existe o caso em que o coeficiente de Pearson possui valor igual a zero e isso significa que não existe dependência linear entre as variáveis, ou seja, não existe relação entre elas.

A intensidade, ou força da correlação, é um parâmetro representado por um número, coeficiente de Pearson, que está compreendido entre 0 e 1 (correlação positiva) ou entre -1 e 0 (correlação negativa). Quando o índice de correlação vale 1 temos a correlação linear positiva perfeita e se ele tem valor igual a -1 a correlação é do tipo linear negativa perfeita.

A figura 4.12 exemplifica as características da dependência linear entre duas variáveis. Em geral, as variáveis dependentes são representadas no eixo vertical, enquanto que as independentes formam o eixo horizontal.

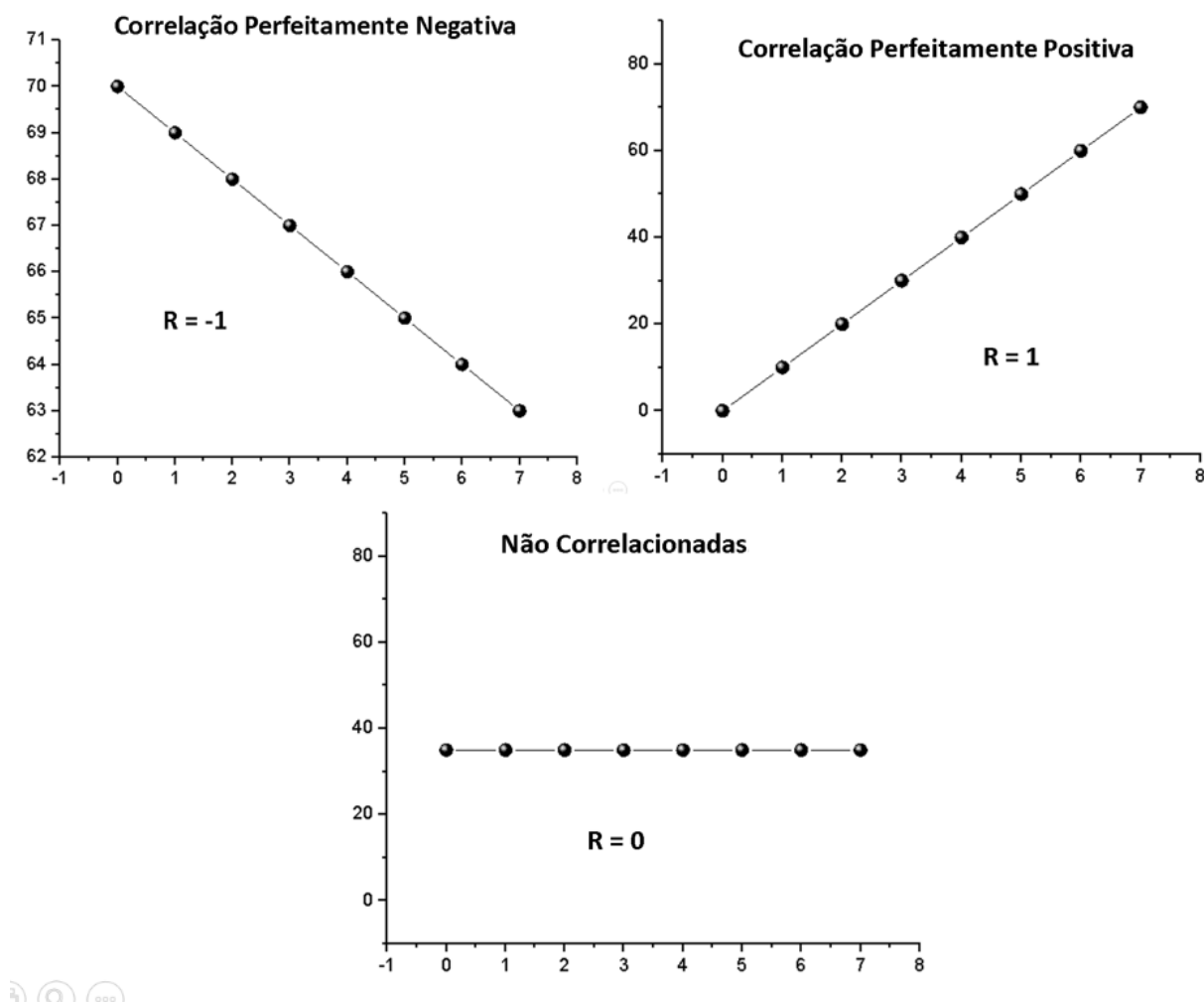


Figura 4.12: Representação e interpretação do coeficiente linear de Pearson [17].

Conforme mostrado na figura 4.12, quando o coeficiente de Pearson vale -1, a variável que está na ordenada depende totalmente da variável que está na abscissa, caracterizando uma relação linear decrescente. Se o coeficiente tem valor +1, é constatado um comportamento linear crescente. Se o índice tem valor nulo, é observado que o valor da ordenada é estacionário enquanto que os valores na abscissa aumentam. Nesse caso, não existe relação linear entre as variáveis e, cabe destacar, que isso não significa que as variáveis são independentes, uma vez que a correlação entre elas pode ser do tipo não linear.

Tendo em vista que é raro encontrar correlações perfeitas, diversos valores de referência que auxiliam na interpretação do coeficiente podem ser encontrados na literatura. Estas classes podem variar de acordo com o referencial adotado ou do campo de estudo. A tabela 4.3.2 mostra um exemplo de uma abordagem convencional para interpretar o coeficiente de correlação de Pearson.

Tabela 4.3: Interpretação do coeficiente de correlação [adaptado de [84]].

Intervalo	Correlação
0,00	Ausente
0,01 a 0,19	muito fraca
0,20 a 0,39	fraca
0,40 a 0,69	moderada
0,70 a 0,89	forte
0,90 a 0,99	muito forte
1,00	perfeita

Todas as informações relativas as correlações entre as variáveis podem ser explicitamente representadas por meio de uma matriz, denominada de matriz de correlação (R). A diagonal principal dessa matriz consiste em valores que são todos iguais a um, pois cada variável é perfeitamente correlata consigo mesma. Os elementos que estão fora da diagonal representam a correlação entre os pares de todas as variáveis. A tabela 4.3.2 mostra uma possível representação da matriz de correlação. No contexto deste trabalho, os índices que estão em **negrito** possuem correlação significativa entre as variáveis.

Tabela 4.4: Representação da matriz de correlação entre 5 variáveis [17].

	V1	V2	V3	V4	V5
V1	1				
V2	0,29	1			
V3	-0,55	0,85	1		
V4	0,75	-0,80	0,28	1	
V5	0,42	-0,50	0,90	-0,60	1

A tabela 4.3.2 apresenta somente metade da matriz de correlação completa, pois a correlação da variável V2 com a variável (0,85) é iguala correlação da variável V3 com a variável V2, elas satisfazem a propriedade de comutatividade. Portanto, a matiz completa é simétrica em relação a diagonal principal, ou seja, uma metade é o "reflexo da outra.

Em geral, a correlação indica a força e a direção do relacionamento entre as variáveis, mas não esclarece sobre os motivos desse relacionamento. Logo, a existência de correlação não implica em causalidade, pois podem existir outros fatores que influenciam sobre a verdadeira natureza da relação. Logo, A causalidade ocorre quando existe uma relação entre dois eventos consecutivos, sendo que o segundo evento é uma consequência do primeiro, ou seja, a alteração gerada na variável dependente é diretamente causada pela variável independente. Logo, as variáveis não estão simplesmente relacionadas, mas ligadas por uma relação de causa e efeito.

Capítulo 5

Materiais e Métodos

5.1 Amostras de Óleos Vegetais

Os insumos vegetais para a indústria de óleos podem ser divididas em 3 categorias: cereais, oleaginosas, leguminosas [55]. Os óleos de milho, arroz e trigo são encontrados na categoria de cereais [55]. Os óleos de amendoim e soja são enquadrados na categoria de leguminosas. Dentro da classe oleaginosa, estão incluídos os óleos de canola, linhaça, sementes de abóbora, castanha do Pará, noz-pecã, girassol, gergelim, abacate, macadâmia, palma, coco, oliva, algodão, entre outros [55] .

As matérias-primas utilizadas no presente trabalho são óleos vegetais comestíveis obtidos de 16 fontes diferentes. As propriedades físicas e químicas dos óleos vegetais refletem seus constituintes, especialmente sua composição de ácidos graxos. A seguir será descrito os tipos de óleos vegetais comestíveis que foram analisados e suas principais características.

- **Óleo de Abacate**

O abacate *Persea americana* Mill pertence à família *Lauraceae* e é um fruto nativo da América Central [85]. O abacateiro é considerado uma das plantas mais produtivas por unidade de área cultivada [85]. Um grande número de variedades de abacate é encontrado nas diversas regiões do território nacional, cujos frutos apresentam composição química muito variável [86].

O abacate é um fruto que se destaca por ser um alimento completo, pois o teor de proteína na polpa varia de 1 a 2%, o teor de óleo de 5 a 35% e o de açúcar de 3 a 8% [85].

O óleo de abacate, obtido por prensagem a frio da polpa do fruto, caracteriza-se por

apresentar teores elevados de ácidos graxos monoinsaturados (cerca de 60%), baixo teor de ácido graxo poli-insaturado (10%), teor relativamente elevado de ácido graxo saturado, principalmente o ácido palmítico [86]. Os principais ácidos graxos componentes dos triacilgliceróis são os ácidos oléico (36 - 72%), palmítico (15 - 30%), linoléico (6 - 18%), palmitotélico (5 - 12%) e linolênico (0,2 - 2,7%) [86, 87]. Além disso, esse óleo contém altos níveis de pigmentos (clorofila e carotenoides) que atuam como antioxidantes [51]. Entretanto, o alto teor de clorofila presente nesse óleo atua como um fotossensibilizador promovendo a oxidação (foto-oxidação), enquanto que os tocoferóis e os carotenoides são inibidores da oxidação [51].

O óleo de abacate é principalmente utilizado pela indústria farmacêutica e cosmética, mas também tem várias finalidades como alimentícia, pois ele tem propriedades físico-químicas semelhantes ao óleo de oliva [51, 86].

- **Óleo de Amendoim**

As sementes do amendoim são nutritivas, digestivas e apresentam um rendimento de 45% de óleo [10]. Através dessas sementes descascadas, sem película e sem embrião, se obtém o óleo de amendoim. Esse óleo é composto por uma mistura de ácidos graxos insaturados (cerca de 80%), com predominância do ácido oléico (50 - 60%), e ácidos graxos saturados (aproximadamente 20%), com concentração majoritária de ácido palmítico (6 - 12%) [10, 18]. O ácido araquídico (1,1 - 1,7%) é uma característica desse óleo vegetal e serve como parâmetro na identificação de adulteração em outros tipos de óleos vegetais, porque o ácido araquídico é insolúvel em álcool frio, diferentemente do ácido palmítico e esteárico [10, 18]. Outros ácidos graxos com cadeia carbônica longa, como o ácido eicosenóico (0,7 - 1,7%), o ácido behênico (2,1 - 4,4%) e o ácido lignocérico (1,1 - 2,2%) estão presentes nesse composto [87, 88].

O óleo de amendoim possui alta estabilidade oxidativa pois ele apresenta baixo teor de ácido linolênico e alta concentração de ácido oléico [59]. Além disso, esse óleo possui um elevado ponto de fumaça (cerca de 230°C), que o torna apropriado para uso como óleo para frituras [1, 51].

O óleo de amendoim possui cor amarelo pálido, odor e sabor suave [1]. Ele apresenta alta qualidade nutricional e tem alto teor de vitamina E [10]. Esse óleo é utilizado na culinária e tem aplicação na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia [1]. O óleo não refinado é utilizado como combustível, lubrificante e na indústria de sabões finos [1].

- **Óleo de Cártamo**

Carthamus tinctorius L., comumente chamado de cártamo ou de açafrão-bastardo, é uma planta extensivamente cultivada na Índia, no México, nos Estados Unidos da América, na Turquia e na China [89]. Essa planta tem uma raiz resistente, o que lhe permite prosperar em ambientes adversos (seca e estresse salino) e o Irã se destaca por possuir um amplo e rico germoplasma de cártamo devido às condições agrícolas e climáticas favoráveis [90].

De acordo com o estado de maturação das sementes da planta de cártamo, o teor de óleo nelas pode variar de 20 a 45% [91]. Além disso, essas sementes inteiras (com cascas) apresentam 8% de umidade, 14 - 15% de proteína, 2 - 7% de cinza e 32 - 40% de fibra bruta [92].

O cártamo é um dos melhores exemplos de safra com variabilidade na composição dos ácidos graxos do óleo obtido de suas sementes [92]. Por exemplo, o cártamo proveniente de Israel apresenta de 5 a 10% de ácido esteárico, enquanto que os genótipos mais frequentes possuem de 1 a 3% desse ácido [92].

O óleo cártamo pode ser extraído do açafrão, uma planta da família *Asteraceae*, por meio do método convencional de prensagem a frio [1]. No óleo de cártamo bruto, os triacilgliceróis são os constituintes majoritários perfazendo cerca de 92 - 99% [90]. Esse óleo, quando padrão, é constituído por, aproximadamente, 6 - 8% de ácido palmítico, 2 - 3% de ácido esteárico, 16 - 20% de ácido oléico e de 70 - 75% de ácido linoléico [87, 92]. Outros componentes como fosfolipídios (0,4 - 0,6%), ácidos graxos livre (1 - 2%), materiais insaponificáveis (0,6%) estão presentes em menor quantidade [90].

O óleo de cártamo possui coloração amarelo dourado, sabor suave e alta estabilidade oxidativa devido à ausência de ácido linolênico [1]. Fatores como a estabilidade durante os processos de cocção, baixo custo quando comparado a outros óleos (ex.: óleo de oliva) e seu elevado conteúdo de ácidos graxos essenciais (especialmente o ácido linoléico) tornam favorável o consumo deste produto [90]. Desse modo, o óleo de cártamo pode ser considerado como um alimento funcional e nutracêutico.

- **Óleo de Gergelim**

O gergelim pertence ao gênero *Sesamum*, família *Pedaliaceae*, e possuem 36 espécies, a maioria silvestres, sendo o *Sesamum indicum L.* a principal fonte do gergelim comercial [93].

A semente de gergelim apresenta alto teor de óleo (cerca de 52%), mais do que a maioria das sementes oleaginosas conhecidas, entretanto sua produção é muito inferior à das principais fontes de óleos, como a soja e a canola, provavelmente por dificuldades no cultivo da planta [1, 10, 94].

Na Ásia, o óleo de gergelim, também conhecido como óleo de sésamo, é obtido por meio de prensagem das sementes de gergelim torradas e é consumido sem passar por processo de refino [1, 94]. No ocidente, o óleo bruto é produzido a partir da prensagem contínua dos grãos oleaginosos ou pelo tradicional método de extração por solventes [94].

O óleo de gergelim é rico em ácidos graxos insaturados, contendo aproximadamente 47% de ácido oléico, 39% de ácido linoléico, que representa de 44 a 58% do seu peso, e baixo concentração de ácido linolênico (menos de 1%) [1, 10]. Em sua composição existem ainda os ácidos graxos saturados, onde destacam-se o ácido palmítico (7 - 12%) e o ácido esteárico (3,5 - 6%) [1, 10].

O óleo de gergelim é considerado um óleo caro e de alta qualidade, sendo um dos óleos vegetais que apresenta estabilidade química muito alta, apesar de seu alto grau de insaturação, em virtude da presença de lignanas, sesamolina e sesamina e de seus produtos de degradação, sesamol e sesamolinol, que são potentes antioxidantes [1, 95].

O óleo de gergelim é utilizado para fins alimentícios, principalmente na culinária oriental, para frituras, devido a elevada resistência à oxidação e é muito utilizado para fins cosméticos, farmacêuticos, em perfumes, massagens, aromaterapias e medicamentos veterinários [1, 10, 94].

- **Óleo de Linhaça**

A linhaça (*Linum usitatissimum* L) é um grão oleaginoso, de cor marrom ou amarelo dourado, rico em ácidos graxos poli-insaturados (especialmente o ácido α -linolênico) e, em menor quantidade, linoléico, além de conter teores significativos de proteínas vegetais, lignanas, fibra alimentar, ácidos fenólicos, flavonoides, vitaminas e minerais [96].

O óleo de linhaça, extraído das sementes de linhaça por prensagem a frio, é rico em $\omega - 6$ e $\omega - 3$ [97]. O óleo bruto de linhaça apresenta coloração âmbar escuro e forte odor característico, o que pode estar relacionado com seu alto grau de insaturação, cerca de 89%, sendo que pode apresentar de 52 a 54% de ácido linolênico, cerca de 17% de ácido linoléico e 20% de ácido oléico [10, 87]. Ele também apresenta de 5,7 a 7,0% de ácido

palmitico e de 3 a 4% de ácido esteárico [10,87]. Esse óleo contém baixa concentração de tocoferóis, o que o leva a ser muito susceptível a oxidação [1].

Existem duas variedades de linhaça para consumo humano, a linhaça marrom e a linhaça dourada [97]. Sua cor é determinada pela quantidade de pigmentos no revestimento externo da semente, sendo que essa quantidade é determinada por fatores genéticos e ambientais [97]. Existem evidências de que a linhaça marrom e a dourada são semelhantes em sua composição química, mas seus respectivos óleos apresentam diferenças em relação a estabilidade oxidativa [97]. Estudos realizados concluíram que o óleo da linhaça marrom apresenta maior conteúdo de ácido esteárico, maior teor de tocoferóis, maior capacidade antioxidante e maior estabilidade oxidativa [97]. Desse modo, o óleo de linhaça marrom apresentou qualidade superior ao óleo de linhaça dourada [97].

O óleo de linhaça é utilizado na fabricação de tintas, vernizes e resinas por ser muito secativo, devido ao alto teor de ácido linolênico [10]. Esse óleo vegetal possui alto grau de oxidação e polimerização térmica, desse modo ele não é indicado para preparação de alimentos quentes, pois a oxidação promove um sabor de ranço nos alimentos [1, 97]. Entretanto, o consumo de óleo de linhaça prensado a frio pode ser benéfico para o combate à halitose, regulação do sistema digestivo e é considerado uma alternativa para para o tratamento de portadores de diversas formas de deficiência lacrimal [98]. Além disso, esse óleo é rico em ácido α -linolênico, que por sua vez é precursor dos eicosanoides e desempenham papel importante nas membranas estruturais, especialmente no tecido nervoso e retina [98].

• Óleo de Prímula

A primula (*Oenothera L.*) é uma planta que pertence a família *Onagraceae* [99]. Essa planta, nativa da América do Norte, é um arbusto que cresce em regiões de clima frio e seco; seus frutos têm forma ovoide e contêm um grande número de sementes em seu interior [100]. Essas sementes possuem cerca de 15% de proteína, 24% de óleo e 45% de celulose [99].

O óleo pode ser extraído por prensagem a frio das sementes da planta e esse óleo tem atraído muito interesse por ter alto teor de ácido γ - linolênico (ω - 6), uma vez que esse ácido participa na síntese dos eicosanoides [101]. Além disso, estudos sugerem que o ácido γ - linolênico tem potencial para auxiliar no tratamento de condições reumáticas, artríticas, dermatite atópica, tensão pré-menstrual, menopausa e neuropatia diabética

[99–101].

O óleo de prímula apresenta de cerca de 98% de triacilgliceróis, com poucas quantidades de outros lipídios (ácidos livres, diacilgliceróis e fosfolípidios) e de 1 a 2% de compostos insaponificáveis, nas quais os esteróis e os tocoferóis são os mais importantes [102]

O perfil de ácidos graxos do óleo de prímula é caracterizado pelo alto teor de ácido γ - linolênico (8 - 14%) e de ácido linoléico (65 - 80%) [87, 99, 100]. Ele também possui os ácidos oléico (8,6 - 25%) e esteárico (1,5 - 3,5%), além de quantidades menores de outros ácidos graxos saturados e insaturados [87, 99, 100].

A estabilidade oxidativa do óleo de prímula obtido por prensagem a frio é considerada baixa, pois os teores de fosfolípidios e de antioxidantes naturais são baixos, enquanto que apresenta alto grau de insaturação [102].

O óleo de prímula é empregado na indústria de fármacos, de cosméticos e como suplemento dietético [51, 99].

• Óleo de Semente de Abóbora

A abóbora é o fruto da abóboreira, uma planta do gênero *Cucurbita* e membro da família *Cucurbitaceae* [103]. As abóboras são nativas das Américas e suas sementes possuem um elevado conteúdo proteico, de sais minerais, de compostos antioxidantes (vitamina E) e de lipídios [104]

A quantidade de óleo presente na semente de abóbora é de 40% a 60%, sendo que de 98 a 99% dos triacilgliceróis são compostos pelos ácidos graxos oléico (21,0 - 46,9%), linoleico (35,6 - 60,8%), palmítico (9,5 - 14,5%), e esteárico (3,1 - 7,4%) [51, 87, 103]. Outros ácidos graxos estão presentes nesse óleo, mas em concentrações muito baixas [51, 87, 103].

O óleo de semente de abóbora possui altos teores de vitamina E, principalmente de γ - e α - tocoferóis [51, 104]. Entretanto, sua estabilidade oxidativa é considerada baixa devido aos altos teores de ácido linoléico e pela presença do fotossensibilizador protoclorofila [51, 104].

O óleo da semente de abóbora tem aroma e coloração típica, ele é indicado para preparação de saladas, mas não pode ser usado em frituras e cozimentos pois possui substâncias altamente reativas que quando aquecidas geram a rancificação do aroma e, conseqüentemente, do óleo [51]. Esse óleo também é usado para fins medicinais, devido aos altos teores de ácidos graxos essenciais [51, 103].

• Óleo de Soja

A semente soja (*Glycine max*), também conhecida como feijão-soja, contém apenas 20% de lipídios, em média, e é rica em proteína [10]. Entretanto, a soja é a matéria-prima leguminosa mais importante para a indústria de óleos vegetais no Brasil [10]. O óleo de soja surgiu como um subproduto do processamento do farelo de soja e tornou-se um dos líderes mundiais no mercado de óleos [1]. Esse óleo é obtido da semente da planta de soja por extração com solvente ou por prensagem mecânica dos grãos [1].

O óleo de soja bruto é composto basicamente por triacilgliceróis (93,0 - 99,2%), fosfolipídios (3,7%), compostos insaponificáveis (1,3 - 1,6 %), esteróis (0,24%), tocoferóis (0,12%) e outros componentes minoritários [1,87].

No óleo de soja, os ácidos graxos insaturados representam 85% do total de lipídios (25% monoinsaturados e 60% poli-insaturados) e, aproximadamente 60% desses são constituídos pelos ácidos graxos essenciais, como o linoléico (35 - 60%) e linolênico (2 - 13%) [10,105]. Por sua vez, os ácidos graxos saturados compõe 25% da totalidade de lipídios, na qual o ácido palmítico está presente em uma concentração que varia de 9,7 a 13,3% [87]. Destaca-se que esse óleo tem baixa estabilidade oxidativa devido à sua composição de ácidos graxos [1].

O óleo de soja é ímpar em suas propriedades, sendo indicado para um vasto número de aplicações, tais como preparação de assados, margarinas, óleo para salada, maionese, etc. [10].

• Óleo de Algodão

O óleo de algodão, derivado das sementes de *Gossypium hirsutum* (americano) ou *Gossypium barbadense* (egípcio), é um subproduto na obtenção da fibra, ou seja, esse óleo é obtido das sementes do algodão e é considerado como um subproduto do cultivo do algodão [10,106]. A semente inteira contém de 15 a 24% de óleo e o caroço de 30 a 38% [106].

O óleo de algodão pode ser obtido mediante o emprego de diferentes processos, os quais podem ser químicos (extração com solventes), físicos (prensagem mecânica) ou uma combinação de ambos (extração mista) [106].

O óleo de algodão é típico dos óleos vegetais do grupo oléico/linoléico [106]. Ele contém uma mistura de ácidos graxos saturados (cerca de 30%) e insaturados (aproximadamente 70%) [10]. Esse óleo tem alto teor de ácido palmítico (21,4 - 26,9%), de ácido oléico (14,7 - 21,7 %), de ácido linoléico (46,7 - 58,3%) e baixo teor de ácido linolênico (menor do que

0,4%) [1,87]. Além disso, o óleo de algodão apresenta alta estabilidade oxidativa, pois ele é rico em antioxidantes, especialmente tocoferol [1,106].

O óleo de algodão possui coloração escura devido à presença de pigmentos, seu sabor não deteriora ou reverte em temperaturas elevadas, sendo indicado para frituras, e ele é caracterizado como um óleo superior [10]. Esse óleo também é usado no preparo de saladas ou como óleo de cozinha, assim como na indústria farmacêutica e de produtos cosméticos [1,10]. Ele também possui aplicação na indústria para produção de biodiesel, lubrificantes e graxas [1]. Além disso, o óleo de algodão bruto tem sido utilizado no combate às pragas nas lavouras, principalmente nas plantações de coco [107].

• Óleo de Arroz

O óleo de arroz, também denominado de óleo de farelo de arroz, pertencente a família das *gramíneas* e ele é obtido do farelo da planta de *Oryza sativa L.* através de processos tecnológicos adequados [55]. Esse óleo é um subproduto da indústria de beneficiamento de arroz, a qual separa farelo, a casca e o gérmen do endosperma do grão [10].

O farelo de arroz pode conter entre 12 - 18% de óleo, de modo que o grão de arroz possui apenas 0,8% de óleo [55]. Entretanto, essas porcentagens variam de acordo com o tipo de arroz, condições climáticas e método de beneficiamento [10].

Entre 90 - 96% dos lipídios componentes do óleo de arroz bruto são materiais saponificáveis (triacilgliceróis, monoacilgliceróis, diacilgliceróis, ácidos graxos livres e ceras) e de 3 a 5% são insaponificáveis (esteróis, tocoferóis e tocotrienóis) [1]. Esse óleo vegetal tem alta concentração de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados [1]. Dentre os ácidos graxos, destacam-se o ácido palmítico (16 - 28%), o ácido linoléico (16 - 36%) e ácido oléico (38 - 48%) [87].

Os benefícios associados ao óleo de farelo de arroz devem-se não somente à sua composição triacilglicerídica adequada, mas, principalmente, à fração insaponificável do óleo [108]. Além de altos níveis de tocoferóis, tocotrienóis e fitosteróis que conferem resistência à oxidação e deterioração, o óleo de farelo de arroz tem sua estabilidade aumentada devido à presença de um antioxidante ausente em outros óleos vegetais, o γ -orizanol, ao qual tem sido atribuído o efeito hipocolesterolêmico [109]. No óleo de arroz bruto, o teor de γ -orizanol varia de 1,5 a 2,9% [108,109].

O Óleo de Arroz tem sido considerado um óleo superior devido à suas propriedades químicas [10]. O seu baixo conteúdo de ácido linolênico aliado ao alto teor dos antioxidan-

tes (tocoferóis e orizanol) assegura-lhe alta estabilidade oxidativa, retardando a rancidez e aparecimento de sabores indesejáveis [10,108]. Esse óleo é considerado saudável e é adequado para frituras, pois é resistente à oxidação durante a cocção [10]. Ele também tem aplicação na indústria alimentícia, na fabricação de produtos hidrogenados, nas indústrias de saboaria, cosméticas e farmacêuticas [1].

- **Óleo de Chia**

A chia *Salvia hispanica L.* é uma semente rica em ácidos graxos $\omega - 3$, fibras e proteínas; além de outros nutrientes importantes, como antioxidantes [110]. A semente de chia contém de 25 a 40% de óleo e entre 18 - 30% de proteína [1].

A produção industrial de óleo de chia é realizada através de extração por prensagem a frio das sementes [1]. Como resultado da prensagem da chia, obtêm-se o óleo e a torta de chia [1].

O óleo de chia é rico em ácidos graxos poli-insaturados (aproximadamente 85%), sendo que o ácido α - linolênico apresenta cerca de 65%, o ácido linoléico 20% e o ácido oleico 5,4% [87,111]. Dentre os ácidos graxos saturados (em torno de 10%), o ácido palmítico (6,6%) e o ácido esteárico (3,1%) são os mais significativos [87,111].

O alto nível de ácidos graxos poli-insaturados nesse óleo, provavelmente, deve ser o principal responsável pela baixa estabilidade oxidativa, prevalecendo sobre os efeitos antioxidantes associados aos componentes bioativos (tocoferóis, polifenóis, carotenóides e fosfolipídios) presentes nesse óleo [111].

O óleo de chia é um material centenário que tem sido redescoberto hoje como potencial ingrediente para cosméticos e na indústria de alimentos [1]. Além disso, esse óleo é considerado como um alimento funcional, pois tem alto valor nutricional, na qual a maior parte de seus constituintes são os ácidos essenciais ($\omega - 3$ e $\omega - 6$) [1].

- **Óleo de Girassol**

o óleo de girassol é obtido a partir das sementes parcialmente descascadas da planta *Helianthus annuus* (girassol). Esse óleo é composto principalmente por triacilgliceróis (98,0 - 99,0%) e uma fração menor de fosfolipídios, tocoferóis, esteróis e ceras (todos os últimos são comumente referidos como uma "fração insaponificável") [18].

O óleo de girassol é constituído por uma pequena quantidade de ácidos graxos saturados (aproximadamente 10%), é rico em ácido linoléico (cerca de 70%) e, em geral, a porcen-

tagem de triacilgliceróis com quatro ou mais duplas ligações é superior a 80% [1]. Essa distribuição de triacilgliceróis é responsável pelo baixo ponto de solidificação do óleo de girassol (16 °C - 19 °C) e pela alta susceptibilidade a oxidação [112].

O óleo de girassol é um alimento funcional pois possui alta concentração de ácidos graxos essenciais e de vitamina E [12]. Esse produto possui diversas aplicações alimentícias (tempero de saladas, preparo de alimentos em geral e produção de margarina) e industriais (produção de biodiesel, lubrificantes e tintas de impressão à base de óleo vegetal) [1].

- **Óleo de Noz-pecã**

A noqueira-pecã (noz-americana), descrita também como pecan, possui nome científico *Carya illinoensis* e é uma espécie frutífera pertencente à família *Juglandaceae* [113]. Seu fruto é a noz-pecã (nozes), classificado como uma drupa seca (fruto seco oleaginoso) cuja amêndoa é considerada um alimento funcional, do grupo das oleaginosas, que apresenta composição predominantemente lipídica (cerca de 65 - 75%), além de outros componentes como as proteínas, as fibras e os sais minerais [113,114].

O óleo de noz-pecã pode ser obtido por prensagem a frio das amêndoas das nozes e seu teor de triacilgliceróis é de cerca de 96,6%, nos quais os ácidos graxos insaturados representaram pouco mais de 90% da composição total, enquanto que os saturados somam um percentual de 6,5% [51,87,115].

O perfil de ácidos graxos do óleo de noz-pecã é caracterizado por conter alta concentração de ácido oléico (48,7 - 77,8%), assim como de ácido linoléico (15,8 - 40%) e apresenta baixos teores de ácidos palmítico (3,3 - 11,3%), linolênico (0 - 3%) e esteárico (0,9 - 6%); traços de outros tipos de ácidos graxos podem fazer parte dessa distribuição de ácidos monocarboxílicos [51,87]. Apesar da sua composição de ácidos graxos, a estabilidade oxidativa do óleo de noz-pecã é considerada alta, pois ele contém altos teores de tocoferóis (α - γ - tocoferol) [51].

O consumo de óleo de noz-pecã é considerado benéfico para saúde, pois ele é rico em ácidos graxos insaturados contendo, principalmente, ácidos graxos monoinsaturados, e pode ser usado como substituto do óleo de oliva [116].

- **Óleo de Canola**

O óleo de canola é obtido de variedade relativamente nova de plantas do gênero *Brassica*, no qual é exigido que esse óleo tenha menos de 2% de ácido erúico e que os componentes

sólidos da semente contenham menos de 30 micromoles de glucosinolatos por grama, tendo em vista que esses compostos apresentam potencial de dano à saúde dos seres humanos [10].

O termo canola é, provavelmente, derivado de *CANadian Oil Low Acid* que designa cultivo criado para ter baixo teor de ácido erúico. As plantas das quais se extraem o óleo de canola foram obtidas a partir do melhoramento (retrocruzamento e seleção) de uma linhagem da planta de colza [10,18].

O óleo de canola é composto por triacilgliceróis (94,4 - 99,1%) e apresenta baixo conteúdo de ácidos graxos saturados (2,5 a 6,5% de ácido palmítico e 0,8 a 3,0% de ácido esteárico) [10]. Entretanto, contém alto teor de ácidos graxos monoinsaturados (53 a 70% de ácido oléico) e poli-insaturados (15 a 30% de ácido linoléico e de 5 a 13% de ácido linolênico) [10].

O óleo de canola possui estabilidade limitada principalmente pela presença de ácido linolênico, clorofila e outros componentes minoritários que possuem alta reatividade, como traços de ácidos graxos com mais de três insaturações [1].

O óleo de canola é muito usado em saladas, frituras e em formulação de margarinas [10].

• Óleo de Semente de Uva

Vitis vinifera é uma espécie de videira, também conhecida como parreira, cultivada para produção de vinho, cujo o fruto é a uva [51]. Após a produção do vinho, os resíduos de biomassa (cascas, sementes e hastes das uvas) podem ser reutilizados para produção de produtos, pois eles são ricos em lipídios e compostos bioativos [117,118].

O conteúdo lipídico da semente de uva varia de 6 a 20% [119]. Além disso, ela possui também cerca de 35% de fibras, 11% de proteínas, 7% de água, 3% de sais minerais e, aproximadamente, 29% de componentes minoritários, como fitosteróis [117–119].

O óleo de semente de uva obtido por prensagem a frio é rico em ácidos graxos essenciais, especialmente o ácido linoleico, e em compostos bioativos, como os tocoferóis, os tocotrienóis, ácidos fenólicos e caratenóides [1,51]. O conteúdo lipídico desse óleo é caracterizado por 90% de ácidos graxos insaturados (poli-insaturados e monoinsaturados) e de 10% de ácidos graxos saturados, além de componentes bioativos [118]. O perfil de ácidos graxos dos triacilgliceróis é composto pelos ácidos linoleico (58 - 78%), oléico (3 - 15%), palmítico (2 - 8%) e esteárico (2 - 6,8%) [87,118]. Ademais, outros ácidos graxos estão presentes em pequenas quantidades.

A estabilidade oxidativa do óleo de semente de uva é considerada baixa devido ao alto teor de ácido linoleico, que por sua vez que é muito susceptível a sofrer oxidação [120].

O óleo de semente de uva apresenta cor amarelo esverdeado, sabor agradável, odor suave característico e é altamente nutritivo [117]. Esse óleo é utilizado na indústria de cosméticos, farmacêutica, de tintas e de alimentos [117]. Na culinária, o óleo de semente de uva é usado na preparação de refeições sofisticadas, em saladas, massas e molhos [117].

5.1.1 Princípio de Funcionamento

As amostras dos óleos vegetais virgens foram adquiridas diretamente da empresa Pazze Alimentos - Natural Bio Gourmet.

5.1.2 Metodologia Utilizada

Neste trabalho foram utilizados amostras de 16 tipos de óleos vegetais comestíveis. O processo de extração por prensagem a frio foi empregado para obtenção dos óleos brutos e, então, eles foram armazenados em frascos de vidros âmbar (com volumes de 30 mL e 10 mL), protegidos da luz, calor e umidade, em temperatura ambiente.

5.2 Índice de Estabilidade Oxidativa

Os óleos e as gorduras sofrem alterações significativas quando expostos, por um dado período de tempo, a uma atmosfera rica em oxigênio e em calor [121]. A auto-oxidação ou a foto-oxidação são processos químicos que ocorrem devido a esses fatores. Esses dois tipos de oxidação são responsáveis pelas alterações de odores, de sabores e perda de valor nutricional; além da formação de polímeros potencialmente tóxicos, sendo esses problemas mais relevantes para os óleos alimentícios [121, 122]. Nesse contexto, a estabilidade oxidativa é considerada um parâmetro primordial de qualidade dos óleos, no qual o índice de estabilidade oxidativa é um parâmetro que permite avaliar a estabilidade dos óleos vegetais.

Para avaliar a estabilidade oxidativa, ou a suscetibilidade à oxidação, o óleo é submetido a teste de oxidação acelerada, sob condições padronizadas e um ponto final é escolhido, no qual se observam sinais de deterioração oxidativa [95].

O termo índice de estabilidade à oxidação, também conhecido como período de indução, é definido como o tempo necessário para se iniciem os processos de oxidação, com formação de compostos voláteis, que alteram a condutividade elétrica da água, ou seja, é o tempo gasto desde o início do teste até a elevação súbita da condutividade (figura 5.1) [121, 123]. O período de indução é um parâmetro comparativo muito aplicado para o controle de qualidade de matérias-primas, sendo muito útil para avaliação de diferentes tipos de óleos e de biodiesel, bem como para a determinação da eficiência de aditivos antioxidantes [122].

Os resultados de vários estudos interpretaram o índice de estabilidade oxidativa como um parâmetro comparativo, entretanto, atualmente existe grande interesse em correlaciona-lo com o tempo de vida-de-prateleira dos óleos vegetais [95].

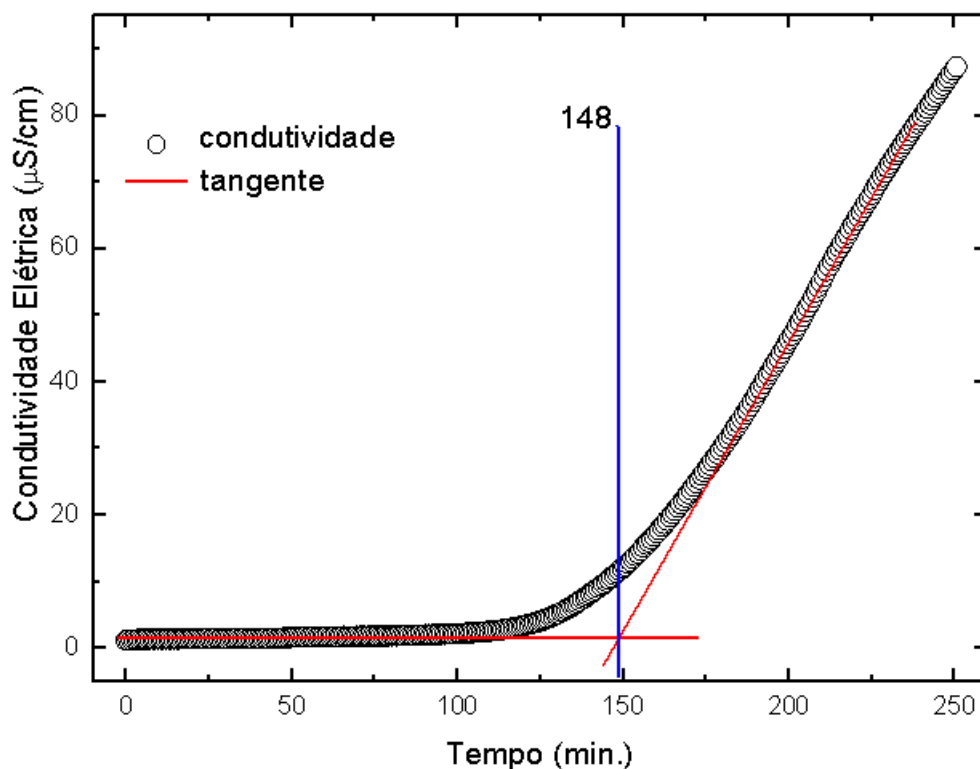


Figura 5.1: Curva que representa a estabilidade oxidativa pelo método Rancimat indicando o ponto de indução [17].

Conforme observado na figura 5.1, a curva da condutividade passa por um súbito aumento onde se tem o período de indução (PI), no qual se inicia o processo de reação de oxidação e formação de voláteis devido à decomposição dos produtos da oxidação [122]. Esse processo pode ser dividido em duas fases, na qual a região inicial da curva (a primeira fase) ocorre a formação de radicais livres e as reações são lentas, enquanto que na segunda fase as reações são rápidas. Dessa forma, o ponto de indução exprime o início do processo de propagação da reação de oxidação, onde acima deste ponto, percebe-se um acelerado aumento na taxa de oxidação, da absorção de oxigênio e da formação de voláteis [10, 121]. O ponto de indução é obtido pela interceptação das retas tangenciais à curva, ou seja, do início do teste e da inclinação da curva.

5.2.1 Princípio de Funcionamento

O Rancimat é o método oficial usado para avaliar a estabilidade oxidativa de óleos vegetais, preconizado pelas normas EN 14112 [121, 124]. Nesse método, a avaliação do teor de ácidos

voláteis é feita por condutometria, ou seja, a análise se baseia no registro das variações da condutividade elétrica da água deionizada que retém os ácidos de baixo peso molecular [10].

A determinação da estabilidade oxidativa baseada no aumento da condutividade elétrica foi originalmente desenvolvido por Hadorn e Zurcher em 1974, utilizando o equipamento denominado Rancimat 617 [95]. Nesse aparelho, o fluxo ar passa através de um óleo (mantido sob aquecimento em temperatura que varia de 100 a 140 °C). Em seguida, ele borbulha em água deionizada, arrastando os ácidos carboxílicos voláteis gerados do processo de oxidação, que se solubilizam, aumentando a condutividade elétrica da água (figura 5.2) [10].

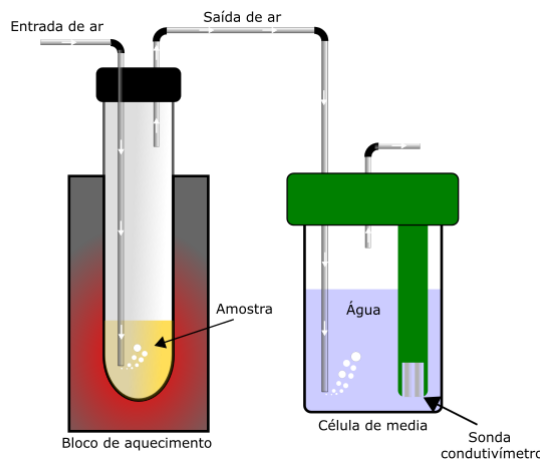


Figura 5.2: Esquema de funcionamento do Rancimat [17].

A partir da curva de condutividade elétrica *vs* tempo constroem-se duas retas que se interceptam num ponto que corresponde, na escala do tempo, ao período de indução ou índice de estabilidade oxidativa (figura 5.1). O Rancimat apresenta o resultado já calculado do período de indução, expresso em horas [95]. Quanto maior o valor do tempo de indução, maior é a estabilidade térmica da amostra.

5.2.2 Metodologia Utilizada

Com o objetivo de estudar a estabilidade oxidativa, ou a suscetibilidade à oxidação, dos óleos vegetais virgens empregou-se a técnica de oxidação acelerada.

Os índices de estabilidade oxidativa foram obtidos por meio do método Rancimat, na qual foi utilizado o equipamento Rancimat (Metrohm, modelo 892), figura 5.3, em conformidade com o padrão oficial estabelecido pelo Comitê Europeu de Estandarização para determinação da estabilidade oxidativa em teste acelerado, EN 14112 [124].

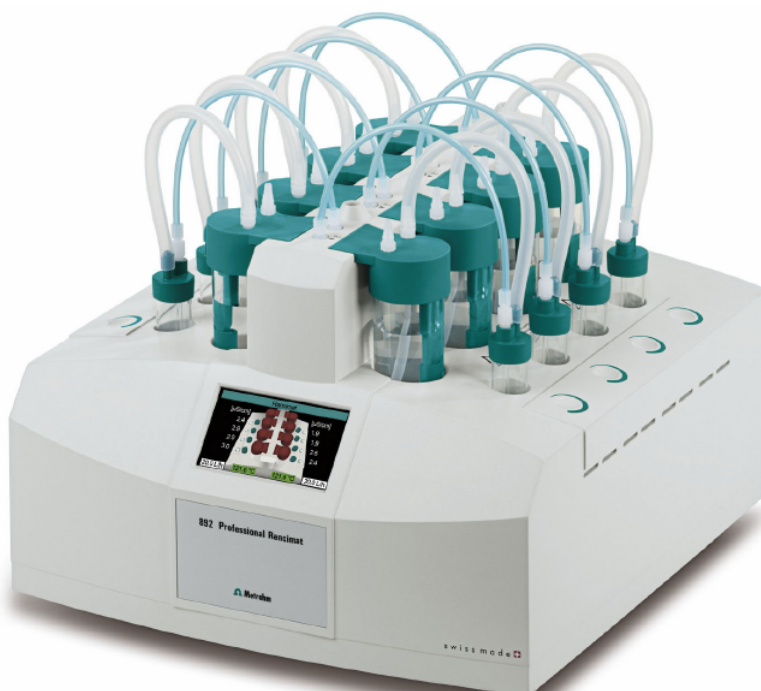


Figura 5.3: Equipamento Rancimat utilizado para obtenção dos índices de estabilidade oxidativa [125].

As medidas realizadas nas amostras de óleos vegetais consistiram em um fluxo de ar com vazão constante de 20 L/h passando através do vaso de reação, que continha 5 gramas de óleo mantido a uma temperatura constante de 120 °C. Os compostos voláteis que foram liberados na água deionizada durante o processo de oxidação, resultou no aumento da condutividade elétrica da água. Essas mudanças das condutividades elétricas da água foram monitoradas e obteve-se a curva da condutividade em função do tempo (h). A partir dessa curva, o período de indução foi determinado. Para o processo de termo-oxidação dos óleos vegetais, um novo conjunto de amostras de óleos vegetais foi submetido as condições supracitas. Entretanto, neste caso, elas ficaram um tempo três vezes maior do que o índice de estabilidade oxidativa obtido para os óleos virgens, que é diferente para cada amostra.

5.3 Determinação de Ácidos Graxos

A quantificação dos ácidos graxos é importante não só para determinação da qualidade e valor nutricional dos alimentos, mas também para atender a obrigatoriedade da rotulagem nutricional, quanto à declaração de gordura saturada e de gordura *trans*, ou ainda para os casos de alegação de propriedades funcionais dos ácidos graxos [126].

A aplicação dos óleos está intimamente ligada à composição dos triacilgliceróis e dos ácidos graxos. Tendo em vista que existem ácidos graxos com comprimento de cadeia e grau de saturação variados, o que atribui uma inerente complexidade aos óleos vegetais, é necessário qualificar e quantificar esses compostos por meio de técnicas de separação. Nesse sentido, a técnica de cromatografia é uma das mais utilizadas para a determinação qualitativa e quantitativa das misturas de ácidos graxos, uma vez que essas informações são importantes para confirmação da autenticidade e detecção de adulteração [127].

A palavra cromatografia é de origem grega (*kromatos* - cor; *graphos* - escrita) e foi usada pela primeira vez em 1906, pelo botânico russo Mikhail S. Tswett, para descrever a separação de pigmentos de plantas em zonas de cores distintas, figura 5.4 [127]. Logo, a cromatografia pode ser definida como um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura através da distribuição dos elementos dessa mistura entre duas fases que estão em "contato íntimo" [127]. Assim, é possível identificar os compostos (por comparação com padrões previamente existentes), purificação de compostos (separando-se as substâncias indesejáveis), análises qualitativas e quantitativas [127]. Cabe destacar que nos processos cromatográficos estão sempre envolvidas duas fases, sendo que uma se locomove através de uma outra.

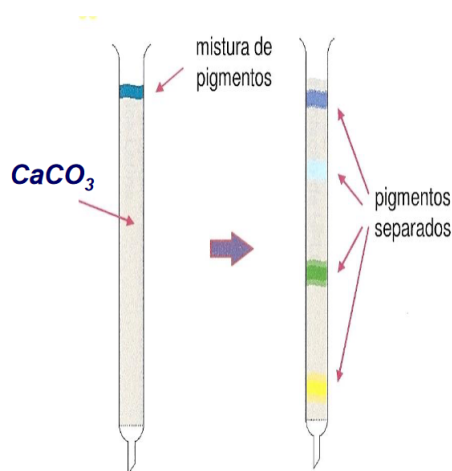


Figura 5.4: Representação da separação de pigmentos observado pelo botânico Michael Tswett [adaptado de [128]].

A classificação da cromatografia pode ser feita pela fase móvel empregada, considerando o estado físico da fase móvel. Assim, quando a fase móvel é um gás, ela é chamada de cromatografia gasosa. Atualmente, a cromatografia gasosa tem se tornado a principal técnica para separação e análise de compostos voláteis ou semi-voláteis [128]. Ela tem sido usada nos estudos de líquidos, gases e sólidos, nas quais materiais orgânicos e inorgânicos podem ser analisados [128].

5.3.1 Princípio de Funcionamento

Para a análise por cromatografia gasosa é necessária uma etapa prévia de tratamento das amostras (óleos vegetais virgens e óleos termodegradados) para conversão dos ácidos graxos em esteres metílicos de ácidos graxos (do *inglês fatty acid methyl esters* - FAME). Esse tratamento permite romper as ligações químicas dos ácidos graxos esterificados obtendo-se diversas moléculas e, ao mesmo tempo, convertê-los em um derivado que permite que a análise seja realizada em temperatura mais baixa em relação aos ácidos graxos originais e, ainda, apresentam uma grande disponibilidade de padrões existentes no mercado para sua identificação [126].

Existem diversos métodos para a produção dos FAME. Neste trabalho, a transesterificação dos ácidos graxos e o método de Hartman e Lago foram empregados para a obtenção dos FAME. Para transesterificação, que é uma reação química reversível, dos óleos vegetais virgens utiliza-se um catalisador (base ou ácido) e um agente transesterificante (álcool, geralmente metanol) para que a reação aconteça [126]. Nesse processo, ocorre o rompimento das ligações químicas que formam os triacilgliceróis e os produtos formados são gliceróis (ou glicerinas) e uma mistura de esteres metílicos. Já o método Hartman e Lago consiste em duas etapas (saponificação e esterificação), na qual resulta em metilação lipídica total [126]. O método de metilação de Hartman e Lago é um dos mais utilizados no Brasil, pela sua simplicidade, rapidez (sem utilizar altas temperaturas) e baixo custo [126].

Após o preparo das amostras, realiza-se a cromatografia gasosa. Essa técnica permite a separação de misturas cujos constituintes sejam voláteis, ou semi-voláteis. Basicamente, a cromatografia gasosa consiste na introdução da amostra (líquida ou gasosa) através de um sistema de injeção aquecida, onde a amostra é rapidamente vaporizada, em um fluxo de um gás adequado, denominado de fase móvel ou gás de arraste [127]. Esse fluxo de gás com a amostra vaporizada passa por um tubo contendo a fase estacionária (líquida ou sólida) dentro da coluna cromatográfica, onde ocorre a separação da mistura [127]. Em seguida, os analitos separados fluem pelo detector, cuja resposta é observada em um computador [127]. A figura 5.5 mostra

um diagrama esquemático da cromatografia gasosa.

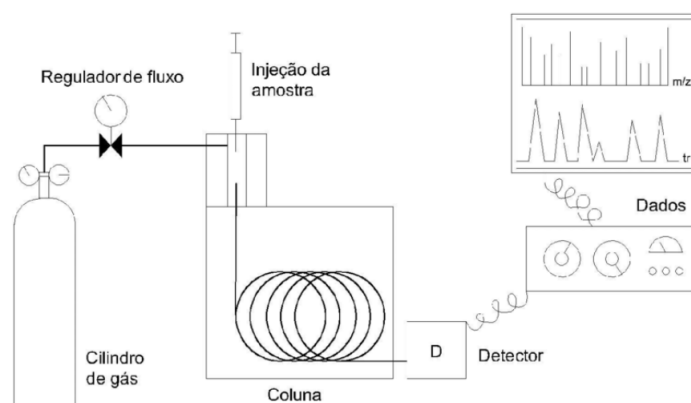


Figura 5.5: Diagrama esquemático da cromatografia a gás [adaptado de [129]].

A maioria das análises é realizada em colunas capilares estreitas e compridas, feitas de sílica fundida e recobertas com poli-imida, um plástico que pode resistir até 350 °C para suportar e proteger a coluna da umidade atmosférica [127]. As colunas capilares oferecem maior resolução, menores tempos de análise e maior sensibilidade do que as colunas empacotadas, mas elas têm menos capacidade de amostra [127]. O gás de arraste da fase móvel deve ser inerte para não reagir com a amostra, assim como não pode reagir com nenhuma superfície do instrumento [127]. Além disso, o gás deve ser isento de impurezas que possam degradar a fase estacionária e ele deve ser compatível com o detector. Para o detector de ionização em chamas, utiliza-se o gás hélio ou nitrogênio [127]. No caso do detector de ionização em chamas (FID, do inglês *Flame Ionization Detection*), o eluato (substância que sai da coluna cromatográfica) é queimado em uma mistura de H_2 e O_2 [127]. Na ausência de analito, a chama não conduz corrente elétrica. Quando os analitos eluídos são queimados em uma chama de H_2 e O_2 , ocorre a formação de íons e, assim, a chama passa a conduzir corrente elétrica, que por sua vez é convertida em uma diferença de potencial que é amplificada, filtrada para remoção de ruídos e, finalmente, convertida em sinal digital [127]. O detector FID pode ser considerado universal para realização das análises, pois majoritariamente as substâncias analisadas por cromatografia gasosa são orgânicas e, assim, promovem a seletividade para as substâncias que contêm ligações $C-H$ em sua estrutura química [127].

5.3.2 Metodologia Utilizada

A composição em ácidos graxos foi obtida por meio das análises dos perfis dos esteres metílicos de ácidos graxos. Para a síntese dos FAME, dois procedimentos foram feitos: (i) transesterificação alcalina, realizada em temperatura ambiente, dos óleos vegetais virgens usando hidróxido de potássio como catalisador e o metanol como agente transesterificante; (ii) para os óleos termodegradados foi empregado o método de Hartman e Lago para produção dos FAMA.

Após a preparação prévia das amostras, os perfis dos esteres metílicos de ácidos graxos foram obtidos por meio da cromatografia gasosa acoplada a um detector de ionização por chama. O cromatógrafo utilizado (Perkin Elmer, Claurus 680) estava equipado com uma coluna de sílica fundida (Select FAME CP-7420, Agilent Technologies), dimensões: 100 m x 0,25 mm i.d, 0,25 μm de filme fino (fase estacionária). O parâmetros de operação estabelecidos foram: temperatura inicial da coluna de 80 °C por 1 min; então, uma rampa de aquecimento com 20 °C min^{-1} até atingir a temperatura de 160 °C e, em seguida, de 160 °C a 198 °C com taxa de 1 °C/min. Após esse período, a temperatura foi de 198 °C para 250 °C com taxa de 5 °C/min, totalizando 58 minutos de corrida cromatográfica. O fluxo do gás de arraste (Hélio) foi de 1,1 mL/min e as amostras foram injetadas no modo *Slit*, com proporção de 1:100. Os esteres metílicos de ácidos graxos foram identificados por comparação entre o tempo de retenção das amostras de constituintes e os padrões de esteres metílicos de ácidos graxos (Sigma, St. Louis, MO). Os valores médios do tempo de retenção e as porcentagens das áreas de pico foram automaticamente calculados por *software* (Perkin Elmer, TotalChrom).

5.4 Espectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier

Tendo em vista a inerente complexidade dos óleos vegetais, muitas técnicas instrumentais (por exemplo a cromatografia) empregadas para avaliações de autenticidades e de qualidades consomem muito tempo, são caras e exigem trabalho-intensivo [4]. Portanto, tem existido um crescente interesse em métodos analíticos mais simples, rápidos e confiáveis para avaliar os atributos dos alimentos [4].

Os métodos espectroscópicos (por exemplo, a espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier - FTIR) têm sido extensivamente empregados em análises de produtos alimentícios porque eles, frequentemente, necessitam de pouco tempo para preparação das amostras, fornecem análises rápidas e *online*, possuem o potencial de realizar multiplicas medidas em uma única amostra, caracterizando um método não destrutivo, reduzem os gastos com reagentes, assim como com amostra, e podem possuir equipamentos portáteis, o que permite análise em campo [81].

Considerá-se que o estudo da espectroscopia tenha começado com os experimentos do Sr. Isaac Newton (1643 - 1727) sobre a dispersão da luz em seus componentes, ou seja, em vários comprimentos de onda com auxílio de um prisma [4]. Diversos outros estudos foram realizados posteriormente, mas foi August Beer (1825 - 1863) quem propôs uma relação linear entre a absorbância e a concentração, de modo que desde então essa teoria tem sido a base para a determinação quantitativa de substâncias por medidas de absorbância ou transmitância na região do visível e do ultravioleta (UV).

Por sua vez, em 1880 Albert Abraham Michelson (1852 - 1931) desenvolveu um interferômetro relativamente simples que era usado para estudar a velocidade da luz [130]. Então, mais de meio século depois começou a usar-se o interferômetro de Michelson como um espectrômetro, sendo que em 1949 o astrofísico Peter Fellgett (1922 - 2008) aplicou o interferômetro para estudar a luz proveniente de corpos celestes e, assim, calculou o primeiro espectro com transformada de Fourier [130]. Logo, o avanço mais significativo da espectroscopia no infravermelho surgiu como o resultado da introdução dos espectrômetros por transformada de Fourier, superando as limitações encontradas com os instrumentos dispersivos [79].

Nesse contexto, a espectroscopia pode ser definida como uma técnica baseada na interação da radiação eletromagnética na região do infravermelho na forma de espalhamento, reflexão,

absorção ou transmissão com a substância analisada (por exemplo, óleos vegetais) [131]. O espectro na região do infravermelho médio refere-se a transições vibracionais e rotacionais nas ligações das moléculas na região de 200 a 4.000 cm^{-1} , onde tem sua utilização, em parte, voltada para a caracterização de compostos orgânicos [100]. A transformada de Fourier, por sua vez, consiste em uma transformação de um sinal complexo com diversos componentes anarmônicos no domínio do tempo em um sinal no domínio das frequências ou do comprimento de onda [132]. Atualmente, a espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier tem sido usada para analisar qualitativamente os compostos orgânicos, uma vez que os modos característicos de vibração de cada grupo funcional provocam o aparecimento de bandas no espectro infravermelho em frequências específicas que também são influenciadas pela presença de grupos funcionais próximos (acoplamentos) [133]. Logo, um espectro infravermelho geralmente contém mais informação do que apenas valores de posição ou de absorção de alguns picos, atuando como uma impressão digital de uma dada amostra quando utilizado integralmente [133]. Assim, a análise dos espectros infravermelho fornecem informações sobre quais moléculas estão presentes, por meio da identificação das ligações moleculares. Além disso, a espectroscopia FTIR é uma excelente ferramenta para análise qualitativa porque a intensidade de absorção das bandas no espectro é proporcional à concentração [133].

A FTIR é uma técnica adequada para analisar os óleos pois, uma vez que os espectros de infravermelho dos óleos vegetais sejam similares, eles apresentam algumas dessemelhanças que permitem ao pesquisador diferenciá-los e, desse modo, obter um espectro formado por um conjunto de linhas específicas (uma espécie de impressão digital) para cada óleo vegetal. Logo, a FTIR permite identificar materiais desconhecidos, contaminações, estimar a degradação, quantificar os componentes da mistura e auxiliar nas avaliações de autenticidades e de qualidades desses compostos orgânicos. [131].

5.4.1 Princípio de Funcionamento

A radiação eletromagnética, a luz, é uma forma de energia cujo o comportamento é descrito pelas propriedades das ondas e das partículas [134]. A radiação eletromagnética consiste em oscilação do campo elétrico e magnético que se propagam ao longo de um caminho linear e com velocidade constante [134]. As oscilações nos campos elétricos e magnéticos são perpendiculares entre si e à direção de propagação da onda [134]. A figura 5.6 mostra um exemplo de radiação eletromagnética. Normalmente, a radiação eletromagnética não é polarizada, com as oscilações

dos campos elétricos e magnéticos presentes em todos os planos possíveis perpendiculares à direção de propagação [134].

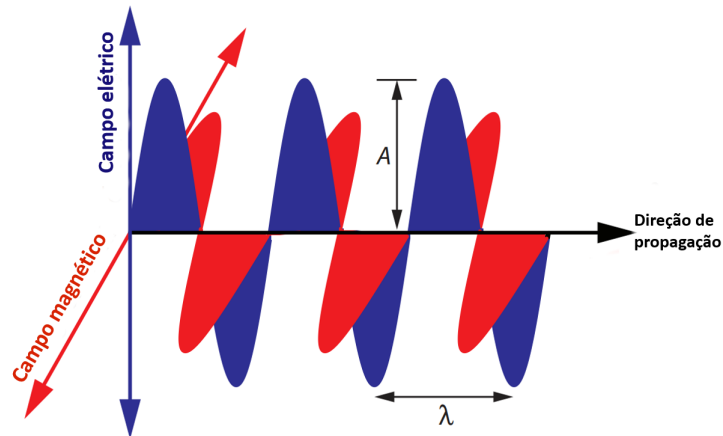


Figura 5.6: Radiação eletromagnética plano-polarizada mostrando a oscilação do campo elétrico (em azul), a oscilação do campo magnético em (vermelho), a amplitude (A) e o comprimento de onda (λ) [adaptado de [134]].

Devido ao fato da existência de um número muito grande de ondas eletromagnéticas, estabeleceu-se o que ficou conhecido como o espectro eletromagnético, na qual ele foi dividido em 7 regiões e duas sub-regiões (AM e FM), conforme a figura 5.7 mostra. Essas divisões são referentes aos diferentes comprimentos de onda (λ) e as frequências, sendo que cada uma dessas categorias possui propriedades específicas. Logo, ao conjunto de todas as frequências de comprimento de onda chamou-se de espectro eletromagnético.

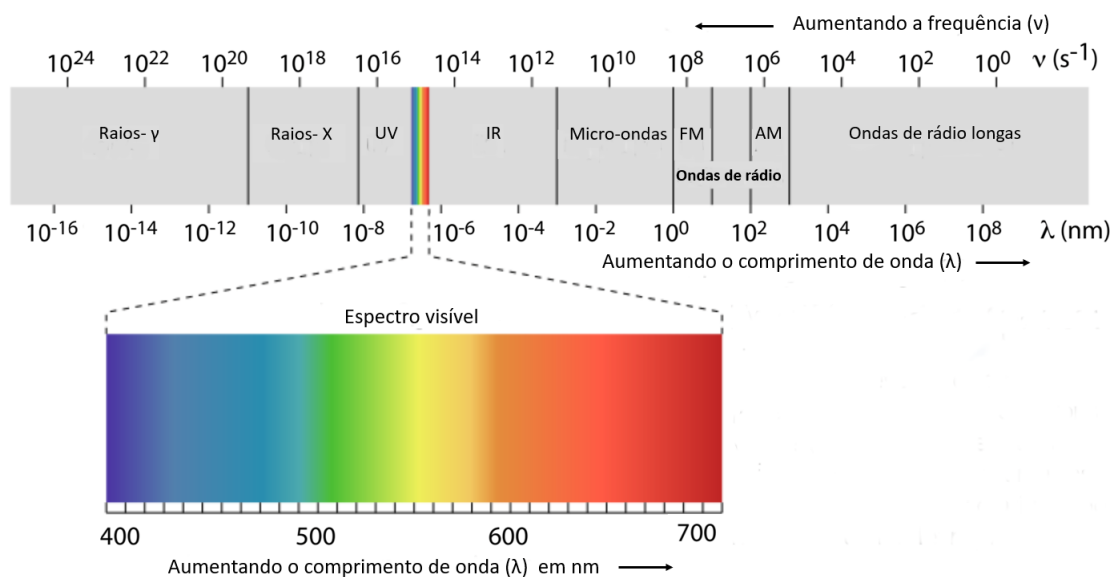


Figura 5.7: O espectro eletromagnético mostrando as fronteiras entre as suas diferentes regiões. A inserção colorida mostra o espectro visível [adaptado de [132]].

Conforme a figura 5.7 mostra, o comprimento de onda é inversamente proporcional à frequência por meio da relação $\nu = \frac{c}{\lambda}$, em que c é a velocidade da luz. Além disso, a energia é diretamente proporcional à frequência, $E = h\nu$, em que h é a constante de Planck [134]. Dessa última equação, pode-se ver qualitativamente que a radiação de energia mais alta corresponde à região de raios-X do espectro, onde a energia pode ser grande o suficiente para quebrar as ligações das moléculas. Na outra ponta do espectro eletromagnético, as radiofrequências apresentam energias muito baixas.

A radiação infravermelha é uma das categorias do espectro eletromagnético e ela é produzida por ondas de frequências próximas ao espectro visível, logo abaixo da região associada a luz vermelha. A maioria dos compostos que possuem ligações covalentes absorvem várias frequências de radiação eletromagnética na região do infravermelho do espectro eletromagnético [134]. Essa região envolve comprimentos de onda maiores do que aqueles associados à luz visível, mas menores do que aqueles associados a micro-ondas. Normalmente, as transições vibracionais e rotacionais das moléculas estão situadas na região do infravermelho médio, sendo que nessa parte do espectro existe uma faixa espectral (de 700 a 1200 cm^{-1}) conhecida como região de impressão digital, ou "*fingerprint*", em que pequenas diferenças na estrutura e na constituição de uma molécula resultam em mudanças significativas nas intensidades ou perfis das bandas de absorção e, por isso, são usadas como parâmetros de identificação ou distinção entre compostos [100].

Nas moléculas, os átomos podem se mover uns em relação aos outros gerando deformações e, assim, os comprimentos das ligações podem variar ou um átomo pode sair do plano de vibração, caracterizando os modos normais de vibração [135]. Os tipos mais simples de movimento vibracional em uma molécula, ativos no infravermelho que dão origem às absorções, são chamados de deformação axial (vibração de estiramento) e deformação angular (vibração de dobramento). Contudo, outros tipos mais complexos de estiramento e dobramento são também ativos. As ilustrações a seguir mostram os modos normais de vibração para um grupo.

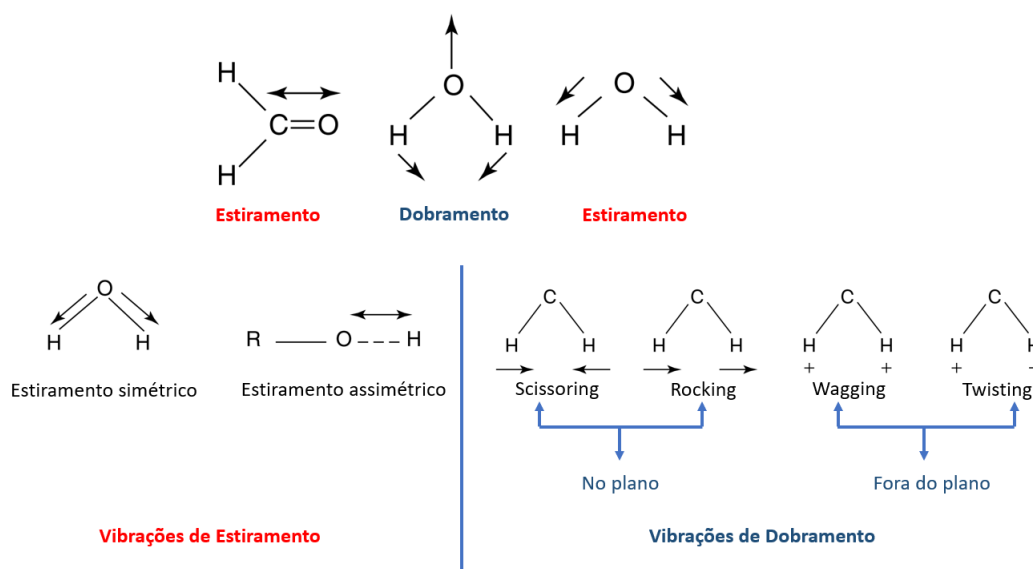


Figura 5.8: Diferentes tipos de vibrações [adaptado de [135]].

Conforme mostrado na figura 5.8, as vibrações podem envolver uma mudança no comprimento da ligação (estiramento) ou no ângulo de ligação (dobramento) [135]. Algumas ligações podem "esticar" em fase ao longo da ligação (estiramento simétrico) ou fora de fase (estiramento assimétrico) [135]. As vibrações de dobramento também contribuem para a formação do espectro infravermelho e, nesse caso, podemos considerar a molécula sendo cortada por um plano através dos átomos de hidrogênio e do átomo de carbono [134]. Assim, os hidrogênios podem se mover na mesma direção no plano (simétrica) ou em direções opostas fora do plano (assimétrica).

Em geral, vibrações de estiramento assimétrico ocorrem em frequências mais altas do que vibrações de estiramento simétrico; além disso, vibrações de estiramento ocorrem em frequências mais altas do que vibrações de dobramento [134]. Os termos *scissoring*, *wagging*, *rocking* e *twisting* são comumente usados na literatura científica para descrever faixas do infravermelho nos quais ocorrem certos tipos de deformações vibracionais e cada tipo de deformação está relacionada a um número de onda diferente no espectro, no qual pode-se identificar a molécula a partir do tipo de vibração que ela apresenta [134].

A espectroscopia no infravermelho é uma técnica baseada nas vibrações dos átomos das moléculas e ela registra os diferentes tipos de vibrações que ocorrem nas ligações dos átomos de acordo com energia absorvida [79]. Comumente, o espectro infravermelho é obtido pela passagem da radiação infravermelha através da amostra e determinando a fração da radiação incidente que é absorvida em uma determinada energia, ou seja, a componente da radiação incidente tem um componente com frequência correspondente a uma transição entre dois níveis vibracionais de modo que o grupo funcional absorve em uma frequência característica [135]. A energia em

cada pico que aparece no espectro de absorção corresponde a frequência de vibração da parte molecular da amostra [135].

Para uma molécula apresentar absorção no infravermelho, ela deve possuir uma característica específica, por exemplo: o momento de dipolo da molécula deve mudar durante a vibração [135]. Essa é a regra de seleção para a espectroscopia no infravermelho [135]. Nesse contexto, as interações da radiação infravermelha com a matéria podem ser entendidas em termos das alterações nos dipolos das moléculas associadas com as vibrações e rotações [135]. Logo, para uma vibração dar origem a absorção de radiação infravermelho é necessário causar uma mudança no momento de dipolo da molécula e quanto maior for essa alteração, maior será a banda absorção [135]. Assim, a interação da radiação IR com uma molécula somente é possível se a componente do vetor campo elétrico, ou magnético, oscilar com a mesma frequência do momento de dipolo molecular, ocorrendo a absorção da radiação e a formação da banda de absorção, que será proporcional a essa mudança [79]. Cabe destacar que o momento de dipolo é determinado pela configuração nuclear, quando a molécula vibra, o momento de dipolo pode sofrer alteração.

O instrumento que obtém o espectro de absorção no infravermelho de um composto é chamado de espectrômetro de infravermelho, ou espectrofotômetro. Neste trabalho foi empregado o espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier, pois a técnica de transformada de Fourier é uma das mais utilizadas pelos espectroscopistas na região do infravermelho [79]. Dentre as vantagens de sua utilização, destacam-se a rápida aquisição dos espectros de absorção (tempo da ordem de segundos), por não danificar a amostra e pelo pouco volume de amostra necessário.

A espectroscopia FTIR é baseada nos conceitos de interferência da radiação entre dois feixes para formar um padrão chamado interferograma, que é um sinal complexo produzido devido a uma mudança do caminho entre os dois feixes e ele contém todas as frequências que formam o espectro IR [134]. Um interferograma é, essencialmente, um gráfico de intensidade *versus* o tempo (um espectro no domínio temporal). Entretanto, uma operação matemática conhecida como transformada de Fourier pode separar as frequências das absorções individuais contidas no interferograma, produzindo um espectro virtualmente idêntico ao obtido com um espectrômetro dispersivo [134].

O interferômetro mais comum usado na espectroscopia FTIR é um interferômetro de Michelson, mostrado na figura 5.9, que consiste em dois espelhos planos perpendicularmente dispostos entre si, na qual um deles pode se mover em uma direção ao longo de um eixo perpendicular ao seu próprio plano [79]. Esse interferômetro é um dispositivo que pode dividir um feixe de radiação

em duas trajetórias perpendiculares entre si e, então, recombina-los após uma diferença de caminho óptico ter sido provocada, manipulando a energia enviada à amostra e resultando em um padrão de interferência [79].

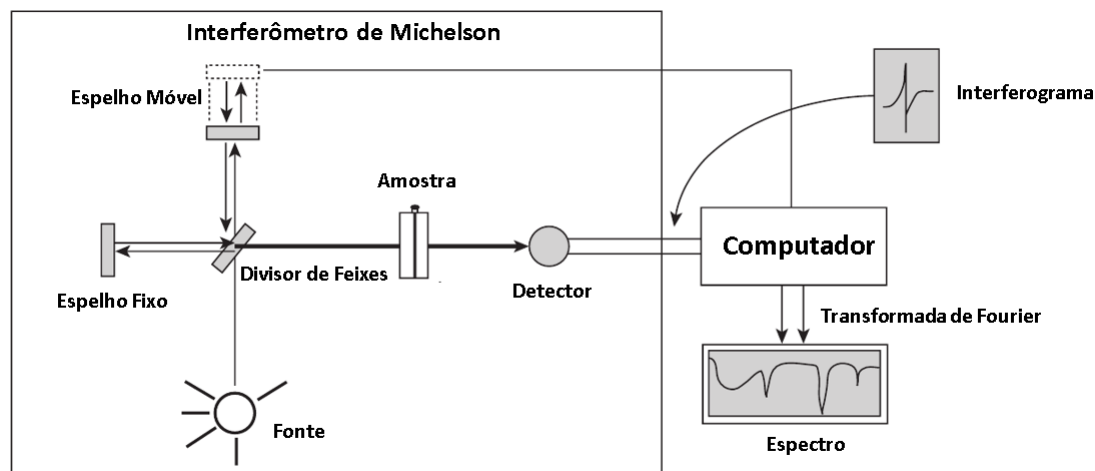


Figura 5.9: Diagrama esquemático de um espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier [adaptado de [134]].

Conforme mostrado na figura 5.9, a radiação proveniente de uma fonte é dividida em dois feixes perpendiculares, cada um correspondendo idealmente a 50% do original, no divisor de feixes (*beam splitter*). Então, um feixe é desviado por um ângulo de 90° , vai para um espelho fixo e é refletido de volta para o divisor de feixes [134]. O outro feixe, que não sofre desvio, vai para um espelho que se move e é também refletido para o divisor de feixes [134]. O movimento do espelho faz variar a trajetória do segundo feixe e quando os dois feixes se encontram no divisor de feixes, eles se recombina; mas as diferenças de caminhos dos dois feixes causam interferências tanto construtivas como destrutivas [134]. Assim, o feixe recombinado contendo esses padrões de interferência dá origem ao interferograma [134].

O feixe gerado pela combinação dos dois feixes produzidos pelo divisor de feixes atravessa, então, a amostra. Quando faz isso, a amostra absorve de forma simultânea todos os comprimentos de onda (frequências) normalmente encontrados em seu espectro infravermelho [134]. O sinal do interferograma modificado que chega ao detector contém informações sobre a quantidade de energia absorvida em cada comprimento de onda (frequência) [134]. O computador compara o interferograma modificado com o interferograma produzido por um feixe de laser de referência para obter um padrão de comparação. O interferograma final contém toda a informação de um sinal de domínio temporal, um sinal que não pode ser lido pelo homem [134]. O processo matemático chamado transformada de Fourier deve ser realizado pelo computador para extrair as frequências individuais que foram absorvidas e, então, reconstruir e desenhar o gráfico que

reconhecemos como um típico espectro infravermelho, conforme a figura 5.10 mostra.

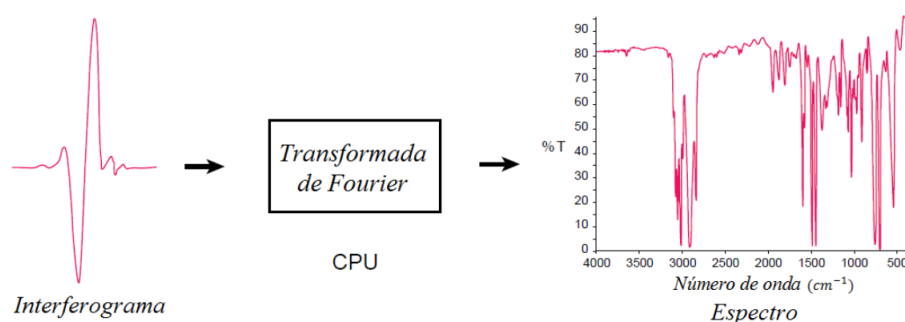


Figura 5.10: Processo de obtenção do espectro de transmissão utilizando como ferramenta a transformada de Fourier [79].

O parâmetro chamado de número de onda ($\tilde{\nu}$), muito utilizado em espectroscopia vibracional, pode ser definido por $\tilde{\nu} = \frac{\nu}{c}$ e sabendo que $\nu = \frac{c}{\lambda}$, obtemos $\tilde{\nu} = \frac{\nu}{c} = \frac{1}{\lambda}$, na qual a dimensão de $\tilde{\nu}$ é m^{-1} . Para uma fonte contínua (várias frequências), o interferograma pode ser representado pela integral

$$I(\delta) = \int_{-\infty}^{\infty} B(\tilde{\nu}) \cos(2\pi\tilde{\nu}\delta) d\tilde{\nu}, \quad (5.1)$$

que é uma transformada de Fourier cosseno, de forma que a relação entre o interferograma e o espectro é dada pela sua inversa, no qual pode ser escrita como

$$B(\tilde{\nu}) = \int_{-\infty}^{\infty} I(\delta) \cos(2\pi\tilde{\nu}\delta) d\delta. \quad (5.2)$$

Sabendo que $I(\delta)$ é uma função par, podemos reescrever a equação 5.2 como

$$B(\tilde{\nu}) = 2 \int_0^{\infty} I(\delta) \cos(2\pi\tilde{\nu}\delta) d\delta. \quad (5.3)$$

Em geral, para se obter o espectro de um composto, é necessário antes obter o interferograma de fundo [134]. Então, esse interferograma é submetido a uma transformada de Fourier, que produz o espectro de fundo. Em seguida, coloca-se a amostra no feixe e obtém o espectro resultante da transformada de Fourier no interferograma, o qual contém as bandas de absorção do composto e o de fundo [134]. O *software* subtrai automaticamente o espectro de fundo do espectro da amostra, produzindo o espectro do composto analisado [134].

5.4.1.1 Refletância Total Atenuada (ATR)

Dentre os métodos de análise que utilizam os espectrofotômetros que operam com transformada de Fourier, existem aqueles que possuem acessórios para espectroscopia de reflexão atenuada, ou refletância total atenuada (ATR). Esses equipamentos têm revolucionado o processo de análise de amostras sólidas e líquidas, pois eles proporcionam obtenções de espectros no infravermelho de forma limpa, porque permitem obter maiores precisões de medições, melhores relações sinal/ruído, além de apresentarem maiores facilidades e agilidades nas aquisições dos dados da amostras, o que simplifica a medição das substâncias [136].

Essa técnica é baseada no fenômeno de reflexão interna total com a passagem de um feixe de radiação de um meio mais denso (cristal de ATR), com índice de reflexão superior ao da amostra, para um meio menos denso (amostra), induzindo a reflexão interna total da radiação incidente, a qual é atenuada e penetra na amostra como uma onda evanescente, como ilustrado na figura 5.11 [136].

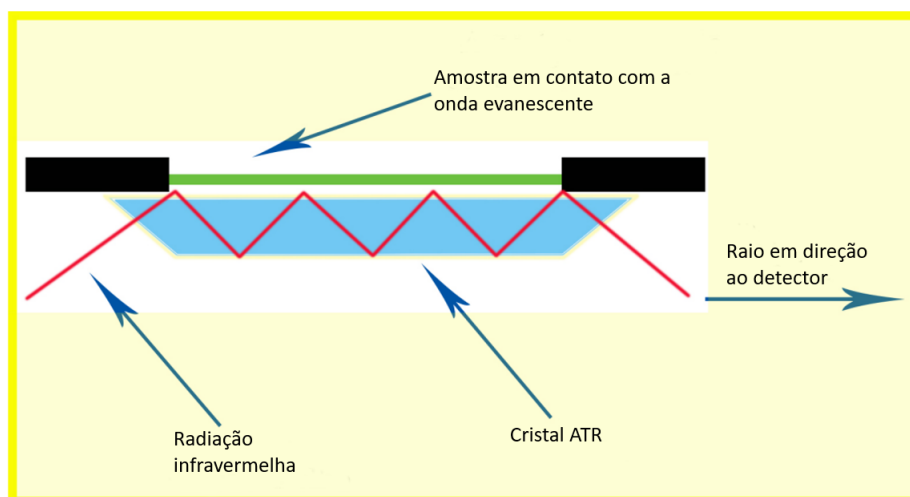


Figura 5.11: Esquema de funcionamento do ATR-FTIR [adaptado de [137]].

No ponto de refletância total interna, os feixes infravermelhos de entrada e de saída ocupam o mesmo volume, gerando interferência construtiva [137]. Assim, a amplitude do feixe aumenta exatamente naquele ponto e isso resulta em luz infravermelha infiltrando no espaço acima da superfície do cristal, na região da amostra [137]. Essa quantidade de radiação que atravessa o cristal e passa para a amostra é denominada de onda evanescente, na qual parte dela é absorvida pela amostra (atenuando a intensidade do feixe infravermelho que é sentido pelo detector) formando o espectro de absorção [137].

A penetração da radiação na amostra é particular a cada comprimento de onda e depende do

índice de refração da amostra, do índice de refração do elemento de reflexão interna e do ângulo de incidência da radiação [136]. Logo, a profundidade de infiltração da onda evanescente está diretamente ligada à amplitude das bandas de absorção do espectro. Assim, quanto maior o valor da profundidade de penetração, mais energia é absorvida pela amostra e maior a banda gerada [137].

O feixe penetra uma fração de comprimento de onda para além da superfície refletora e quando o material que absorve seletivamente a radiação está em contato com a superfície refletora, o feixe perde energia no comprimento de onda em que o material absorve [135]. Então, a radiação atenuada resultante é medida e usada pelo espectrofotômetro como uma função de comprimento de onda, dando assim as características espectrais de absorção da amostra [135].

5.4.2 Metodologia Utilizada

Para análise de infravermelho foi utilizado o espectrômetro de infravermelho FTIR (Spectrum 400, Perkin Elmer) com acessório de refletância total atenuada universal (UATR-FTIR). Todos os espectros foram obtidos na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras.

5.5 Análise Reológica - Viscosidade Dinâmica

No nosso cotidiano a propriedade da viscosidade é muito presente, ela pode ser observada quando ocorre o escoamento de fluidos em canais ou canalizações. Heráclito costumava dizer que "tudo flui" (no grego "*panta rhei*") e esse conceito filosófico pode ser empregado para entendermos a ciência da reologia, soma dos radicais gregos *rhêo* (fluxo) e *logos* (estudo de), que pode ser definida como a ciência que estuda o escoamento e as deformações da matéria [138,139]. Portanto, ela é um ramo da Física relacionado com a mecânica dos corpos deformáveis envolvendo fenômenos de elasticidade, viscosidade e plasticidade, estando inteiramente ligada a estabilidade física do material [140].

Existe uma estreita relação entre a viscosidade dos óleos e a temperatura. Geralmente, o aumento da temperatura dos óleos vegetais causa a redução da viscosidade, sendo que pode ser muito útil estabelecer exatamente o valor da viscosidade de um óleo vegetal como resultado do seu aquecimento [3]. Outra característica dos óleos vegetais é que a viscosidade aumenta quando cresce o comprimento da cadeia do ácido graxo e decresce ligeiramente com o aumento do grau de insaturações, pois a hidrogenação provoca um pequeno aumento na viscosidade [10,140,141]. As propriedades reológicas desses materiais dependem de muitos fatores, incluindo temperatura, taxa de cisalhamento, concentração, pressão, propriedades químicas, aditivos e catalisadores; além de estarem diretamente relacionados à posição da insaturação, presença de ramificações e à orientação da molécula [140,141]. Cabe ressaltar que a presença de isomeria, especificamente na configuração *trans*, promove um incremento na linearidade na cadeia graxa, o que pode favorecer interações intermoleculares, fazendo com que as propriedades físicas desses compostos se assemelhem ao correspondente saturado, apresentando maior viscosidade [141].

5.5.1 Princípio de Funcionamento

Sr. Isaac Newton (1643 - 1727), em seus estudos sobre a mecânica dos fluidos, percebeu que quando um fluido está contido entre duas placas (uma placa móvel submetida a uma força tangencial, F_t , e outra placa fixa), um gradiente de velocidade na direção transversal ao escoamento se estabelece no fluido, conforme mostra a figura 5.12 [142,143].

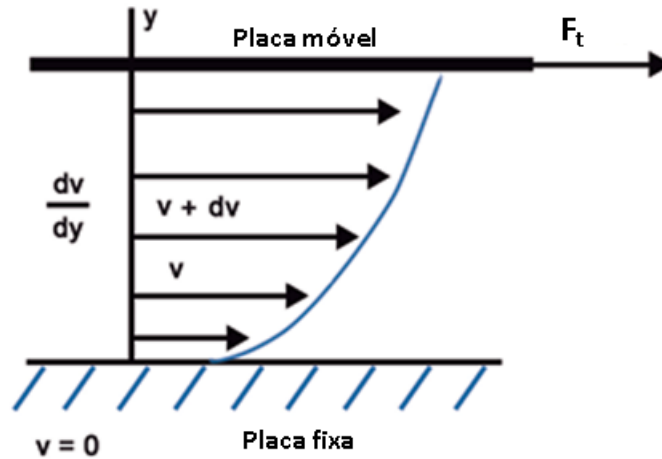


Figura 5.12: Gradiente de velocidade do fluido [adaptado de [143]].

A força tangencial é chamada de tensão de cisalhamento (τ) e ela é definida como a força de cisalhamento por unidade de área entre dois planos paralelos de líquidos em movimento relativo, enquanto que o gradiente de velocidade ($\frac{dv}{dy}$) é denominado de taxa de cisalhamento (γ) entre os planos [143]. Sr. Isaac Newton constatou que a tensão de cisalhamento é proporcional ao gradiente de velocidade (variação de velocidade na direção de y) e, assim, definiu-se a lei de Newton para a viscosidade (em uma dimensão), conforme mostra a equação 5.4 [142–144]. Os fluidos que obedecem a essa lei são chamados de fluidos newtonianos, ao passo que aqueles que não se sujeitam a ela são chamados de fluidos não newtonianos [142–144].

$$\tau \propto \gamma \propto \frac{dv}{dy} \quad (5.4)$$

Tendo em vista a existência de uma tensão de cisalhamento e de um gradiente de velocidade (taxa de cisalhamento), figura 5.12 e equação 5.4, consequentemente se estabelece uma transferência de momento linear, proporcional ao gradiente, entre as faces adjacentes do fluido [143]. Essa relação funcional é intermediada por uma constante de proporcionalidade que é uma característica do meio material, que pode atenuar ou exacerbar essa relação [143]. Sr. Isaac Newton interpretou que a constante de proporcionalidade relacionada aos fluidos por ele estudado representava uma maior ou menor dificuldade ao escoamento deles e, a essa particularidade do material, deu-se o nome de viscosidade (η), ou coeficiente de viscosidade [142]. Então, a vis-

cosidade pode ser definida como a propriedade que indica a maior ou menor dificuldade do fluido escoar (escorrer) e essa grandeza é a propriedade reológica mais conhecida dos fluidos e a única que caracteriza os fluidos newtonianos [145]. Então, com a introdução da constante de proporcionalidade na equação 5.4 temos:

$$\tau = \eta \cdot \gamma = \eta \cdot \frac{dv}{dy}, \quad (5.5)$$

na qual a viscosidade (η) pode ser denominada de viscosidade dinâmica ou viscosidade absoluta [3].

A viscosidade dinâmica está relacionada com a fricção interna de um fluido, que é causada pelo atrito das camadas, quando uma é deslocada em relação a outra [145]. Por isso, quanto maior o atrito entre as camadas, maior será a força necessária para causar o deslocamento do fluido (cisalhamento) [145]. Logo, o estudo da viscosidade determina a força necessária para seu cisalhamento, sendo que fluidos mais viscosos (como os óleos saturados) requerem a aplicação de maior força do que os fluidos menos viscosos (por exemplo, os óleos poli-insaturados) para causar o deslocamento deles [145].

A viscosidade pode ser estudada analisando a tensão de cisalhamento e da taxa de cisalhamento.

$$\gamma = \frac{\partial v}{\partial y} = \frac{\text{velocidade diferencial}}{\text{espessura diferencial}} \quad \text{taxa de cisalhamento} \quad (5.6)$$

$$\tau = \frac{F}{A} = \frac{\text{Força}}{\text{Área}} \quad \text{tensão de cisalhamento} \quad (5.7)$$

$$\eta = \frac{\tau}{\gamma} = \frac{\frac{F}{A}}{\frac{\partial v}{\partial x}} \quad \text{viscosidade ou coeficiente de viscosidade} \quad (5.8)$$

A taxa de cisalhamento, equação 5.6, é influenciada pela velocidade angular e a geometria do *spindle*. Sendo assim, o arranjo experimental utilizado é influente na veracidade dos dados obtidos, na qual é fundamental a escolha correta do *spindle*, ou eixo, e da velocidade e/ou

torque utilizados [145].

O equipamento utilizado para medir a viscosidade de fluidos e de líquidos é chamado de viscosímetro. Logo, esse instrumento mede a resistência do material à deformação causada pela aplicação de uma força ou tensão [145]. Basicamente, o viscosímetro consiste em um tubo no qual é inserida a amostra do líquido que se deseja medir a viscosidade. Então, o tubo é girado com uma velocidade angular constante por meio de um motor elétrico *spindle* e, simultaneamente, o fluxo do líquido é monitorado através de sensores que medem força e pressão [145]. O *spindle* é uma parte essencial do equipamento, pois ele fica em contato direto com o fluido a ser testado. No caso de viscosímetros rotativos, na qual o *spindle* é girado por um motor com velocidade controlada, a resistência do líquido ao movimento do *spindle* é medida e usada para calcular a viscosidade. Cabe destacar que o arranjo experimental e o tipo de *spindle* são fatores importantes, pois o acionamento rotacional do *spindle* simula um fluxo contínuo do fluido, sendo que cada *spindle* é específico para determinado tipo de material [145].

Uma vez feito que o arranjo experimental foi definido, é necessário determinar o comportamento do fluido em questão. Sabendo que a viscosidade dinâmica é dada pela equação 5.8, e é distinta dependendo do material em estudo, pois possuem diversas características específicas, pode-se observar a variação da tensão de cisalhamento em relação à taxa de cisalhamento. Assim, quando a relação tensão/taxa de cisalhamento é linear, o fluido possui comportamento newtoniano. Caso contrário, o fluido é não-newtoniano [145].

5.5.2 Metodologia Utilizada

As medidas de viscosidade dinâmica das amostras foram realizadas usando um reômetro (Brookfield, DV-III Ultra) acoplado a um controlador de temperatura (Brookfield, modelo TC-602P). A aquisição de dados se deu por meio do software *Rheocal v3.3 Build 49.1* e, posteriormente, houve a exportação deles para um editor de planilha eletrônica. O reômetro DV-III proporciona dados de viscosidade com 99% de precisão e todas as análises foram realizadas em triplicata. Foi utilizado o método de tensão de cisalhamento controlado com pratos paralelos (35mm de diâmetro), com taxas de cisalhamento na faixa de 5 a 55 s^{-1} (com intervalo de 5 s^{-1}) sob condições de cisalhamento constante.

5.6 Densidade

Os óleos vegetais possuem grande importância na indústria de alimentos, de cosméticos e farmacêuticas. Nesse sentido, existem consideráveis estudos que têm documentado as propriedades físicas desses materiais, uma vez que elas refletem o grau de pureza e qualidade deles. Dessa forma, a determinação de valores confiáveis para a densidade pode ser útil para prever com eficiência e o comportamento do óleo quando submetido a condições diversas.

A densidade absoluta (ou densidade, ou ainda massa específica) de um corpo homogêneo é dada pela razão entre sua massa (M) e seu volume (V), a uma dada temperatura de referência. Logo, a densidade é uma propriedade importante para se definir equipamentos de manuseio de óleos e gorduras, pois ela pode ser considerada um parâmetro de controle de processo, uma vez que ela fornece uma estimativa da razão sólido-líquido da gordura (índice de gordura sólida ou teor de sólidos) [10, 146].

A força de atração entre as moléculas e a sua capacidade de empacotamento determina a densidade, a viscosidade e outras propriedades físico-químicas [10]. Os triacilgliceróis que contêm ácidos graxos insaturados ou ramificados têm menor capacidade de empacotamento do que aqueles que contêm ácidos graxos saturados e de cadeias lineares [10]. Por isso, possuem menor densidade. As gorduras são mais densas no estado sólido do que no estado líquido e mostram contração de volume durante a solidificação e maior expansão na fusão [10]. Em geral, a densidade e a viscosidade de um fluído, seja newtoniano (os óleos vegetais, por exemplo) ou não newtoniano, é fortemente dependente da natureza físico-química dele e da temperatura. Nesse sentido, a densidade é uma propriedade física essencial que atua influenciando no comportamento dos óleos vegetais. Dessa forma, ela é uma característica essencial para garantir qualidade, eficiência e segurança dos óleos vegetais em diferentes aplicações, pois a densidade pode afetar a solubilidade e a reatividade dos óleos vegetais [10].

5.6.1 Princípio de Funcionamento

O densímetro digital é um instrumento destinado para a mediação da densidade de líquidos sem auxílio de balança. A concepção do densímetro se baseia no princípio de Arquimedes (flutuabilidade) [147]. Em geral, o densímetro é um instrumento prático, cuja precisão e facilidade de uso são suas características.

O densímetro digital (modelo DMA 5000, Anton Paar) tem seus princípios de funcionamento

baseados em métodos de densimetria que utilizam a oscilação em um tubo de medição [147]. Esse tipo de equipamento opera segundo o princípio de oscilação de um tubo ressonante. O equipamento possui um tubo oscilatório em U (de medição), que contém a amostra, e ele é projetado para vibrar com uma frequência específica [147]. Quando a amostra é inserida no tubo, a massa do líquido afeta a frequência de oscilação.

A relação entre a massa da amostra e a frequência permite calcular a densidade com alta precisão, uma vez que o instrumento conta com um sensor que registra a frequência de oscilação e um microprocessador que converte essas informações em valores de densidade, na qual o processo é feito em temperatura controlada [147]. Esse princípio de medição é baseado no sistema massa-mola, devido ao fato de inserir a amostra em um recipiente com capacidade de oscilação (tubo oco, de vidro, em forma de U) e que é estimulado eletronicamente para oscilar harmonicamente a menor amplitude possível [145].

5.6.2 Metodologia Utilizada

As medidas de densidade foram realizadas em função da temperatura, em triplicata, utilizando um densímetro digital (modelo DMA 5000, Anton Paar), cuja precisão de leitura no valor da densidade é de $0,000005 \text{ g.m}^{-3}$.

Inicialmente, foi realizada a limpeza da célula do equipamento com de tolueno e com acetona, assim como a sua calibração. O procedimento de limpeza foi feito após a execução de cada medida das amostras.

Para as execuções das medidas, uma seringa foi preenchida com 3.0 mL de cada amostra e ela foi conectada ao canal de entrada do densímetro. Então, o pistão da seringa foi pressionado de forma contínua e lenta para que não houvesse formação de bolhas no interior do capilar durante a realização das medidas. Após a amostra percorrer toda a parte interna do equipamento, as medidas puderam ser iniciadas. A densidade de cada óleo foi medida em intervalos de 2°C , na faixa de temperatura de 20°C a 90°C .

Capítulo 6

Resultados

6.1 Índice de Estabilidade Oxidativa

Conforme descrito na seção 4.2, as 16 amostras de óleos vegetais foram submetidas aos testes de oxidação acelerada, sob condições padronizadas. Os períodos de indução obtidos são apresentados na tabela 6.1.

Tabela 6.1: Índice de estabilidade oxidativa dos óleos vegetais virgens.

Amostras	Símbolo	OSI horas
Óleo de abacate	OV1	8,55
Óleo de amendoim	OV2	19,35
Óleo de cártamo	OV3	8,73
Óleo de gergelim	OV4	14,13
Óleo de linhaça marrom	OV5	5,64
Óleo de prímula	OV6	6,15
Óleo de semente de abóbora	OV7	9,60
Óleo de soja	OV8	6,18
Óleo de algodão	OV9	12,87
Óleo de arroz	OV10	10,56
Óleo de chia	OV11	1,77
Óleo de girassol	OV12	7,35
Óleo de linhaça dourada	OV13	4,62
Óleo de noz pecã	OV14	3,87
Óleo de canola	OV15	4,77
Óleo de semente de uva	OV16	8,40

Conforme mostrado na tabela 6.1, os valores referentes aos períodos de indução são diversos, variando de, aproximadamente, 2 horas à 19 horas. Nesse intervalo, o óleo de chia possui o menor valor (1,77 h), enquanto que o óleo de amendoim está no outro extremo (19,35 horas). Oito amostras de óleos vegetais possuem índices de estabilidade oxidativa compreendidos entre 5 e 10 horas. As variações dos índices de estabilidade oxidativa das amostras podem ser atribuídas às diferenças nas composições em ácidos graxos entre as matérias-primas. O óleo de amendoim, por exemplo, é constituído por 8 tipos de ácidos graxos, no qual existe a predominância de um ácido graxo monoinsaturado (66%). O óleo de chia, por sua vez, é composto, majoritariamente, por ácidos graxos tri-insaturados (46,8%) e bi-insaturados (21,4%) e, assim, o período de indução para essa amostra é baixo. Cabe destacar que os ácidos graxos tri-insaturados, especialmente o ácido linolênico, são considerados como parâmetros de degradação significativos, porque as duplas ligações e os carbonos alílicos são suscetíveis a oxidarem.

6.2 Viscosidade Dinâmica

As medidas de viscosidade dinâmica, uma propriedade de fluxo, foram realizadas nas amostras de óleos vegetais virgens e nos óleos termo-oxidados. Os dados obtidos experimentalmente são mostrados na tabela 6.2.

Tabela 6.2: Viscosidade dinâmica dos óleos vegetais (OV) e termodegradados (OD).

Amostras	Símbolo	Viscosidade dinâmica (cP)	
		OV	OD
Óleo de abacate	O1	66,52	258
Óleo de amendoim	O2	76,87	1140
Óleo de cártamo	O3	68,52	302
Óleo de gergelim	O4	67,69	970
Óleo de linhaça marrom	O5	51,15	240
Óleo de prímula	O6	63,01	233
Óleo de semente de abóbora	O7	63,47	482
Óleo de soja	O8	59,05	234
Óleo de algodão	O9	66,13	765
Óleo de arroz	O10	64,87	562
Óleo de chia	O11	48,84	69,6
Óleo de girassol	O12	64,47	297
Óleo de linhaça dourada	O13	50,79	156
Óleo de noz pecã	O14	54,01	125
Óleo de canola	O15	67,23	167
Óleo de semente de uva	O16	62,15	421

Conforme mostrado na tabela 2.2.6, As amostras de óleo de amendoim virgem e termo-oxidado apresentam os maiores valores para a viscosidade dinâmica. Essa alta viscosidade pode ser atribuída a sua composição rica em em ácidos graxos monoinsaturados, sugerindo que os comprimento das cadeias carbônicas dessas amostras apresentam valores intermediários aos SFA's e PUFA's, com 18 átomos de carbono na estrutura. Os menores valores da viscosidade dinâmica

são atribuídos ao óleo de vagem e termo-oxidado de chia. Nesse caso, os óleos são formados majoritariamente por ácidos graxos poli-insaturados na configuração *cis* e, assim, o alinhamento das moléculas é dificultado gerando menor viscosidade para o material. Os óleos virgens de prímula, de semente de abóbora e semente de uva possuem valores intermediários de viscosidade. Isso pode ser justificado pois eles possuem uma considerável concentração de ácidos graxos bi-insaturados, nas quais as insaturações contribuem para os valores obtidos para esse parâmetro. Em relação aos óleos termo-oxidados, pode-se concluir que as amostras de óleo de semente de uva e do óleo da semente de abóbora possuem valores intermediários, pois eles são constituídos majoritariamente por ácidos graxos monoinsaturados e bi-insaturados.

6.3 Densidade

A tabela mostra os valores da densidade obtidos para cada óleo vegetal.

Tabela 6.3: Dados experimentais da densidade dos óleos vegetais virgens.

Concentração de FAME's nas amostras de óleos vegetais virgens (%)																
T°	abacate	amendoim	cártamo	gergelim	linhaça marrom	prímula	semente de abóbora	soja	algodão	arroz	chia	girassol	linhaça dourada	noz pecã	canola	semente de uva
20	0,91836	0,9138	0,91664	0,91792	0,92606	0,91965	0,91903	0,92099	0,91881	0,91915	0,92739	0,91881	0,92586	0,92381	0,91816	0,92003
26	0,91429	0,90975	0,91259	0,91385	0,92197	0,91558	0,91497	0,91691	0,91473	0,91508	0,92329	0,91474	0,92176	0,91972	0,91409	0,91595
32	0,91023	0,90569	0,90853	0,90979	0,91788	0,91152	0,91092	0,91284	0,91067	0,91102	0,91919	0,91068	0,91768	0,91565	0,91002	0,91189
38	0,90618	0,90165	0,90448	0,90574	0,9138	0,90747	0,90687	0,90878	0,90661	0,90697	0,91511	0,90663	0,91361	0,91158	0,90597	0,90784
44	0,90213	0,89762	0,90044	0,90171	0,90972	0,90343	0,90283	0,90473	0,90256	0,90293	0,91104	0,90259	0,90954	0,90752	0,90192	0,90379
50	0,8981	0,89359	0,8964	0,89768	0,90566	0,8994	0,8988	0,90068	0,89852	0,8989	0,90698	0,89856	0,90549	0,90347	0,89788	0,89975
56	0,89408	0,88958	0,89238	0,89366	0,90161	0,89538	0,89478	0,89665	0,89448	0,89488	0,90293	0,89454	0,90145	0,89943	0,89386	0,89573
62	0,89006	0,88557	0,88836	0,88965	0,89756	0,89136	0,89076	0,89262	0,89046	0,89086	0,89888	0,89053	0,89741	0,8954	0,88984	0,89172
68	0,88564	0,89353	0,88736	0,88676	0,8886	0,88644	0,88685	0,89484	0,88652	0,89338	0,89137	0,88582	0,88771	0,89137	0,88582	0,88771
74	0,88205	0,87758	0,88035	0,88164	0,88949	0,88336	0,88276	0,88459	0,88243	0,88286	0,89081	0,88252	0,88936	0,88736	0,88182	0,8837
80	0,87805	0,87359	0,87635	0,87765	0,88547	0,87937	0,87877	0,88059	0,87843	0,87887	0,88678	0,87853	0,88534	0,88335	0,87782	0,87971
86	0,87407	0,86961	0,87236	0,87367	0,88146	0,87538	0,87478	0,87659	0,87444	0,87488	0,88277	0,87455	0,88134	0,87934	0,87383	0,87572
90	0,87141	0,86696	0,8697	0,87101	0,87878	0,87273	0,87213	0,87393	0,87178	0,87223	0,88009	0,87189	0,87867	0,87668	0,87117	0,87306

A figura apresenta as medidas de densidades das amostras de óleos vegetais virgens.

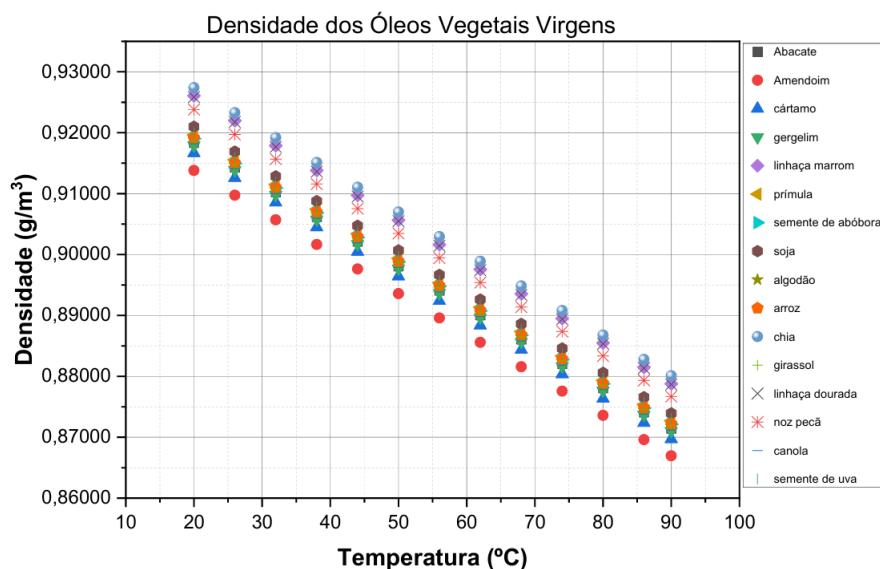


Figura 6.1: Comportamento da densidade em função da temperatura para as diferentes amostras de óleos vegetais virgens.

Conforme mostrado na figura 6.1, para o intervalo de temperatura analisado, a redução da temperatura provoca um aumento da densidade. A densidade decresce linearmente com o aumento da temperatura para todas as amostras de óleos vegetais virgens, isso ocorre porque as moléculas que formam os óleos vegetais tendem a se afastarem umas das outras em resposta ao aumento de energia térmica.

6.4 Cromatografia Gasosa

Através da técnica da cromatografia em fase gasosa foi possível quantificar os esteres metílicos de ácidos graxos contidos nas amostras de óleos vegetais virgens e nos óleos termo-oxidados. Tendo em vista que as amostras são constituídas por misturas de ácidos graxos com diferentes comprimentos das cadeias carbônicas, assim como diversos graus de insaturações, as concentrações de esteres metílicos de ácidos graxos dos óleos foram divididas em três grupos (ácidos graxos saturados - SFA, ácidos graxos monoinsaturados - MUFA e ácidos graxos poli-insaturados PUFA) a fim de otimizar a análise da correlação entre as composições das amostras e as suas propriedades físicas.

A tabela 6.4 mostra a distribuição dos FAME's que compõem as amostras de óleos vegetais virgens.

Tabela 6.4: Composição em ácidos graxos dos óleos vegetais.

Concentração de FAME's nas amostras de óleos vegetais virgens (%)								
Óleo	C16	C16:1	C18	C18:1n9c	C18:2n6c	C18:3n3	C20:1	Outros
Óleo de abacate	11,1	0,0	3,0	34,3	46,6	1,6	0,0	3,4
Óleo de amendoim	7,5	0,0	2,8	66,0	12,6	4,6	1,3	5,2
Óleo de cártamo	6,7	0,0	3,3	55,6	24,9	6,8	0,0	2,7
Óleo de gergelim	10,9	0,0	4,0	40,6	40,9	0,0	0,0	3,6
Óleo de linhaça marrom	6,5	0,0	4,4	26,9	17,3	43,3	0,0	1,6
Óleo de prímula	9,1	0,0	4,3	27,7	51,8	4,7	0,0	2,4
Óleo de semente de abóbora	9,5	0,0	4,2	29,3	50,9	3,9	0,0	2,2
Óleo de soja	9,3	0,0	4,8	28,1	39,2	16,5	0,0	2,1
Óleo de algodão	16,7	0,0	4,2	24,5	50,0	2,7	0,0	1,9
Óleo de arroz	11,5	0,0	4,2	28,7	48,3	5,3	0,0	2,0
Óleo de chia	6,8	0,0	3,8	19,6	21,4	46,8	0,0	1,6
Óleo de girassol	8,2	0,0	4,0	34,0	47,8	3,9	0,0	2,1
Óleo de linhaça dourada	6,8	0,0	5,1	23,4	19,7	43,6	0,0	1,4
Óleo de noz pecã	7,9	0,0	3,4	20,3	42,6	23,7	0,0	2,1
Óleo de canola	6,0	2,6	3,6	53,9	16,5	13,7	1,1	2,6
Óleo de semente de uva	11,0	0,0	4,5	25,4	48,1	8,6	0,0	2,4

Conforme mostrado na tabela 6.4, os resultados obtidos por cromatografia gasosa mostram a predominância de ácidos graxos com cadeias longas, como os ácidos palmítico (C16), oleico

(C18:1n9c), linoleico (C18:2n6c) e linolênico (C18:3n3). Observa-se que o ácido palmitoleico ($\omega - 7$) está presente unicamente no óleo de canola, enquanto que o ácido gadoleico (C20:1) foi identificado nos óleos de amendoim e de canola.

O perfil da distribuição obtido por GC-FID, exposto na tabela 6.4, permite agrupar esses resultados em função do grau de insaturação, pois as propriedades físicas dos óleos vegetais dependem desse parâmetro. Sendo assim, os FAME's foram representados por três classes (SFA, MUFA e PUFA).

Tabela 6.5: Composição em ácidos graxos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e poli-insaturados (PUFA) dos óleos vegetais.

Óleos virgens			
Óleo	SFA (%)	MUFA (%)	PUFA (%)
Óleo de abacate	14,0	34,3	49,9
Óleo de amendoim	11,5	67,3	19,2
Óleo de cártamo	10,0	55,6	31,7
Óleo de gergelim	14,8	40,6	40,9
Óleo de linhaça marrom	10,9	26,9	60,6
Óleo de prímula	13,3	27,7	56,5
Óleo de semente de abóbora	13,8	29,3	54,8
Óleo de soja	14,2	28,1	55,7
Óleo de algodão	20,9	24,5	52,7
Óleo de arroz	15,7	28,7	53,6
Óleo de chia	10,6	19,6	68,2
Óleo de girassol	12,2	34,0	51,8
Óleo de linhaça dourada	11,9	23,4	63,2
Óleo de noz pecã	11,4	20,3	66,4
Óleo de canola	10,8	57,5	30,2
Óleo de semente de uva	15,6	25,4	56,7

A partir dos resultados mostrados na tabela 6.4 pode-se afirmar que 12 amostras de óleos vegetais virgens são constituídas majoritariamente por PUFA's e essa característica confere menor estabilidade oxidativa devido à presença de duas ou mais insaturações na cadeia carbônica. Por outro lado, 3 amostras (os óleos amendoim, de cartamo e de canola) possuem os MUFA's como componentes predominantes, que apresentam maior estabilidade quando comparados aos

PUFA's. Cabe destacar que o óleo de gergelim tem uma composição balanceada entre os MUFA's e PUFA's, 41% e 41%, respectivamente; o que pode indicar maior resistência a processos de degradação.

Os resultados da composição dos FAME's e da composição percentual de cada óleo termo-oxidado que foram obtidos por GC-FID estão mostrados na tabela 6.4.

Tabela 6.6: Composição em ácidos graxos dos óleos vegetais termo-oxidados.

Concentração de FAME's nas amostras de óleos termo-oxidados (%)									
Óleo termo-oxidado	C16	C16:1	C18	C18:1n9c	C18:2n6c	C18:3n3	C20	C20:1	Outros
Óleo de abacate	17,7	2,0	3,3	44,4	30,1	1,0	0,0	0,0	0,0
Óleo de amendoim	13,4	0,0	4,9	69,9	0,9	0,0	1,7	1,3	5,4
Óleo de cártamo	7,2	1,1	4,0	67,0	13,9	2,8	0,7	0,0	0,7
Óleo de gergelim	17,3	0,0	6,1	51,6	20,3	0,0	0,0	0,0	1,0
Óleo de linhaça marrom	8,0	0,0	5,2	31,1	17,0	36,5	0,0	0,0	0,0
Óleo de prímula	11,7	0,0	5,3	32,5	44,6	3,0	0,0	0,0	0,7
Óleo de semente de abóbora	13,8	0,0	5,9	37,2	37,9	1,7	0,0	0,0	0,8
Óleo de soja	12,0	0,0	6,0	32,9	35,3	11,3	0,0	0,0	0,0
Óleo de algodão	27,7	0,0	5,9	30,0	28,3	0,7	0,0	0,0	0,7
Óleo de arroz	17,6	0,0	6,2	37,3	33,8	2,0	0,0	0,0	0,8
Óleo de chia	6,9	0,0	3,8	20,1	21,5	45,7	0,0	0,0	0,0
Óleo de girassol	11,0	0,0	5,1	40,7	38,0	2,0	0,0	0,0	0,8
Óleo de linhaça dourada	8,2	0,0	5,9	26,3	19,4	38,4	0,0	0,0	0,0
Óleo de noz pecã	9,2	0,0	3,8	22,2	42,2	20,8	0,0	0,0	0,0
Óleo de canola	7,1	3,0	4,1	57,4	14,2	9,9	0,0	0,0	0,0
Óleo de semente de uva	15,0	0,0	5,8	30,8	40,3	4,8	0,0	0,0	0,7

A partir dos dados expostos na tabela 6.4, pode-se inferir que as amostras de óleos termo-oxidados são formadas majoritariamente por esteres metílicos de ácidos graxos cujas cadeias carbônicas variam de 16 a 18 átomos de carbono, caracterizando ácidos graxos com cadeias longas. A principal fonte de ácido graxo monoinsaturado nas 16 amostras é o ácido oleico (C18:1n9c), em que os óleos termo-oxidados de amendoim e de cártamo apresentam 69,9 e 67 %, respectivamente. Identificou-se que o ácido linoleico (C18:2n6c) é o ácido graxo poli-insaturado que está presente em quantidades apreciáveis nas amostras, sendo que o óleo prímula termo-oxidado possui a maior concentração (44,6 %) desse componente. Ainda com base no resultados apresentados, pode-se afirmar que os ácidos palmítico (C16) e o ácido esteárico (C18) são os principais representantes dos ácidos graxos saturados em todas as amostras analisadas, na qual

o óleo termo-oxidado de algodão tem a maior concentração de C16 (27,7 %).

A partir dos dados da tabela 6.4, foi possível estimar as concentrações de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados das amostras de óleos vegetais termo-oxidados, como a tabela 6.4 mostra.

Tabela 6.7: Composição em ácidos graxos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e poli-insaturados (PUFA) de óleos termo-oxidados.

Óleos termo-oxidados			
Óleo termo-oxidado	SFA (%)	MUFA (%)	PUFA (%)
Óleo de abacate	21,0	46,4	31,1
Óleo de amendoim	22,1	71,2	4,2
Óleo de cártamo	11,9	68,1	16,7
Óleo de gergelim	23,4	51,6	21,3
Óleo de linhaça marrom	13,2	31,1	53,5
Óleo de prímula	17,0	32,5	48,4
Óleo de semente de abóbora	19,8	37,2	40,4
Óleo de soja	17,9	32,9	46,7
Óleo de algodão	34,3	30,0	29,0
Óleo de arroz	23,8	37,3	36,5
Óleo de chia	10,7	20,1	67,2
Óleo de girassol	16,2	40,7	40,9
Óleo de linhaça dourada	14	26,3	57,8
Óleo de noz pecã	13,0	22,2	63,0
Óleo de canola	12,4	61,6	24,1
Óleo de semente de uva	20,9	30,8	45,8

Com base nos dados da tabela 6.4, é possível afirmar que a concentração de ácidos graxos saturados varia em um intervalo de 10,7 a 34,3 %, de modo que o óleo de algodão termo-oxidado apresenta a maior quantidade de SFA; enquanto que o óleo de chia termo-oxidado está no outro extremo. Identificou-se que as amostras termo-oxidadas são ricas em ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados, nas quais os MUFA's variam de 22,2 (óleo de noz pecã termo-oxidado) a 71,2 % (óleo de amendoim termo-oxidado). Os PUFA's, por sua vez, estão na faixa de 4,2 (óleo de amendoim termo-oxidado) a 63,0 % (óleo de noz pecã termo-oxidado).

A partir dos dados obtidos por cromatografia gasosa para as amostras de óleos vegetais virgens

e termo-oxidados, foi elaborado a tabela 6.4, que mostra as variações das concentrações dos compostos antes e após o processo de termo-oxidação, de modo que o desvio percentual dos SFA, MUFA's e PUFA's foi calculado para cada uma das amostras.

Tabela 6.8: Composição em ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados de óleos vegetais virgens e termo-oxidados.

Óleo	Óleos virgens			Óleos termo-oxidados			Desvio percentual (%)		
	SFA	MUFA	PUFA	SFA	MUFA	PUFA	SFA	MUFA	PUFA
Óleo de abacate	14,0	34,3	49,9	21,0	46,4	31,1	50%	35%	-38%
Óleo de amendoim	11,5	67,3	19,2	22,1	71,2	4,2	92%	6%	-78%
Óleo de cártamo	10,0	55,6	31,7	11,9	68,1	16,7	19%	22%	-47%
Óleo de gergelim	14,8	40,6	40,9	23,4	51,6	21,3	58%	27%	-48%
Óleo de linhaça marrom	10,9	26,9	60,6	13,2	31,1	53,5	21%	16%	-12%
Óleo de prímula	13,3	27,7	56,5	17,0	32,5	48,4	28%	17%	-14%
Óleo de semente de abóbora	13,8	29,3	54,8	19,8	37,2	40,4	43%	27%	-26%
Óleo de soja	14,2	28,1	55,7	17,9	32,9	46,7	26%	17%	-16%
Óleo de algodão	20,9	24,5	52,7	34,3	30,0	29,0	64%	22%	-45%
Óleo de arroz	15,7	28,7	53,6	23,8	37,3	36,5	52%	30%	-32%
Óleo de chia	10,6	19,6	68,2	10,7	20,1	67,2	1%	3%	-1%
Óleo de girassol	12,2	34,0	51,8	16,2	40,7	40,9	33%	20%	-21%
Óleo de linhaça dourada	11,9	23,4	63,2	14,0	26,3	57,8	18%	12%	-9%
Óleo de noz pecã	11,4	20,3	66,4	13,0	22,2	63,0	14%	9%	-5%
Óleo de canola	10,8	57,5	30,2	12,4	61,6	24,1	15%	7%	-20%
Óleo de semente de uva	15,6	25,4	56,7	20,9	30,8	45,8	34%	21%	-19%

De acordo com o apresentado na tabela 6.4 verifica-se que após a termo-oxidação houve uma considerável redução na concentração de PUFA's na maioria das amostras, indicando a ocorrência de hidrogenação nas moléculas de ácidos graxo e, conseqüentemente, a redução das insaturações. A concentração de SFA, por outro lado, aumentou em todas as amostras, de forma que pode-se concluir que a termo-oxidação levou a conversão de PUFA's e MUFA's em SFA, pois os processos degradativos geram os rompimentos das duplas ligações entre os átomos de carbono dos ácidos graxos que formam os triacilglicerois dos óleos. Em relação as concentrações de MUFA's, pode-se inferir que o processo de termo-oxidação dos óleos vegetais acarretou no aumento das concentrações dos ácidos graxos monoinsaturados, na qual o óleo de abacate termo-oxidado é a amostra mais representativa desse processo.

6.5 Espectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier com Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR)

Estudos espectroscópicos utilizando a técnica de espectroscopia FTIR-ATR foram conduzidos nas 16 amostras de óleos vegetais virgens, assim como para as amostras de óleos termo-oxidados. O conjunto de espectros de infravermelho das amostras de óleos vegetais virgens são apresentados na figura 6.2.

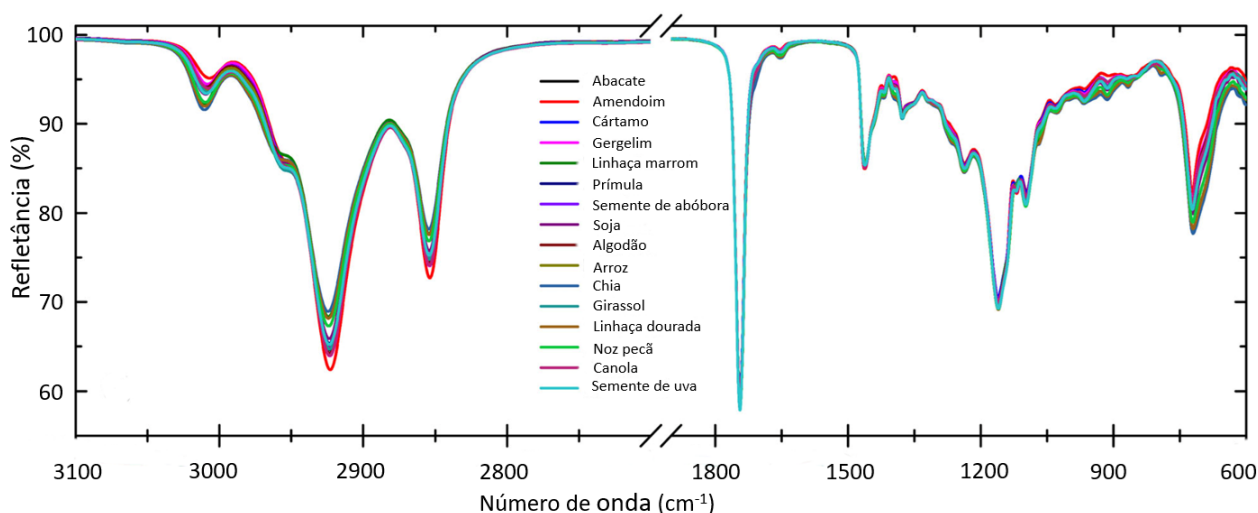


Figura 6.2: Espectros de refletância FTIR das 16 amostras de óleos vegetais virgens.

Como evidenciado na figura 6.2, os espectros das amostras são semelhantes. Os resultados obtidos no intervalo mostram que a banda próxima de 3008 cm^{-1} é atribuída à vibração de alongamento das ligações duplas cis oleofínicas e em 2952 cm^{-1} à vibração de alongamento assimétrica do grupo metil. As bandas em 2924 cm^{-1} e 2852 cm^{-1} são relativas as vibrações assimétricas e simétricas do grupo metila, respectivamente. O pico intenso em 1744 cm^{-1} é devido a vibração do grupo carbonila e em 1464 cm^{-1} com banda *scissoring* (dobramento no plano) do grupo metila. Além disso, em 1236 , 1160 , 1120 e 1096 cm^{-1} pode ser atribuído ao acoplamento vibracional do grupo $C - O$ e em 724 cm^{-1} à vibração *rocking* (dobramento no plano) do grupo metila e vibrações de dobramento fora do plano das olefinas. A região entre 1800 e 600 cm^{-1} é identificada como sendo a impressão digital *fingerprint* das amostras de óleos, pois pequenas alterações estruturais na constituição dos grupos funcionais das moléculas resultam em mudanças significativas nos perfis das bandas. Logo, essa região pode ser usada como parâmetro de identificação e distinção entre compostos.

Os espectros de refletância das 16 amostras de óleos vegetais termo-oxidados é mostrado na figura 6.3.

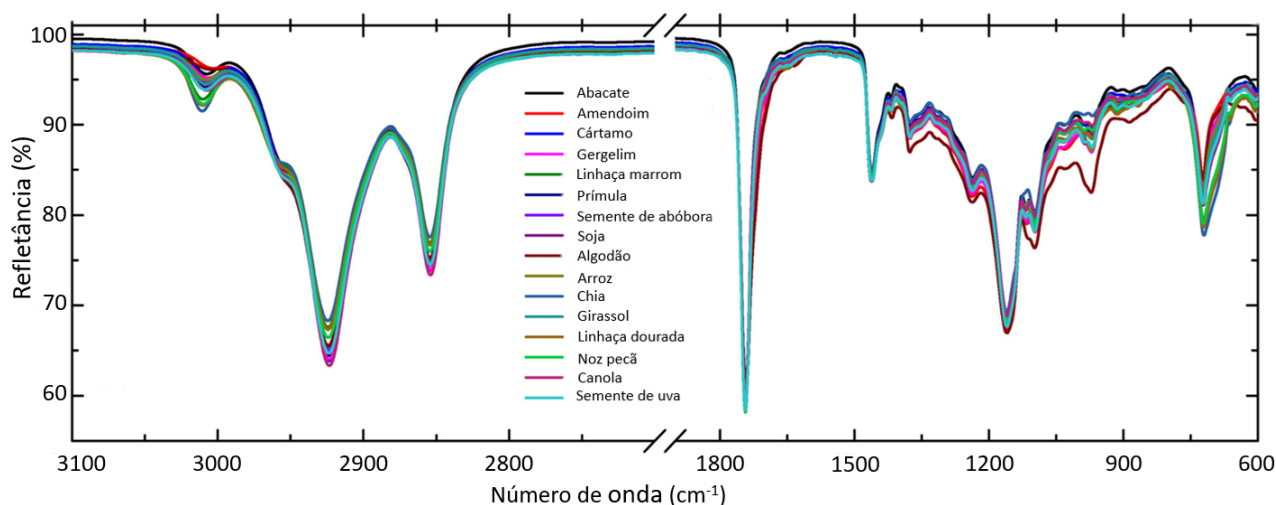


Figura 6.3: Espectros de refletância FTIR das 16 amostras de óleos vegetais termo-oxidados.

Conforme mostrado na figura 6.3, existem regiões em que os espectros são similares e intervalos em que eles apresentam diferentes intensidades nas bandas espectrais, especialmente entre 600 e 1800 cm^{-1} (impressão digital das amostras). A banda de intensidade centrada em 1653 cm^{-1} está relacionada as vibrações das ligações duplas entre os átomos de carbono e é proporcional ao quantidade de ácidos graxos insaturados [148]. As bandas centrada em 3008 cm^{-1} e 722 cm^{-1} estão associadas com as vibrações do grupo metila; enquanto que as bandas centradas em 2923 cm^{-1} e 2853 cm^{-1} estão relacionadas com as vibrações simétricas e assimétricas do grupo CH_2 [148]. A banda centrada em 1744 cm^{-1} está relacionada com as vibrações do grupo carbonila $\text{C}=\text{O}$ e em 1646 cm^{-1} está associada com vibrações *scissoring* do grupo metileno ($-\text{CH}_2-$) [148]. Vibrações acopladas do grupo $\text{C}-\text{O}$, dos ésteres, foram identificadas em 1236, 1160, 1120 e 1096 cm^{-1} [148].

6.6 Análise de Componentes Principais

O uso da FTIR combinada com técnicas quimiométricas foi usada a fim de obter uma associação entre a região da impressão digital dos espectros com as composições químicas das amostras, pois a natureza dessa região é complexa e a análise quimiométrica pode auxiliar a interpretá-la. Assim, com o uso da Análise de Componentes Principais é possível distinguir as amostras e suas propriedades físicas. Nesse contexto, como as amostras possuem a mesma matriz (triacilgliceróis), a ACP foi empregada usando o *Scikit-learn*, que é uma biblioteca de aprendizado de máquina de código aberto para a linguagem de programação Python. Os dados foram pré-tratados pelo método da primeira derivada (correção da linha da base) usando o *Numpy*, uma biblioteca de código aberto para linguagem de programação Python.

As figuras 6.4 e 6.5 mostram os diagramas de dispersões nos dois primeiros eixos, componentes principais PC1 e PC2, resultantes da ACP. Os números (de 1 a 16) representam as amostras de óleos virgens e termo-oxidados: 1 - abacate, 2 - amendoim, 3 - cártamo, 4 - gergelim, 5 - linhaça marrom, 6 - prímula, 7 - semente de abóbora, 8 - soja, 9 - algodão, 10 - arroz, 11 - chia, 12 - girassol, 13 - linhaça dourada, 14 - noz pecã, 15 - canola e 16 - semente de uva.

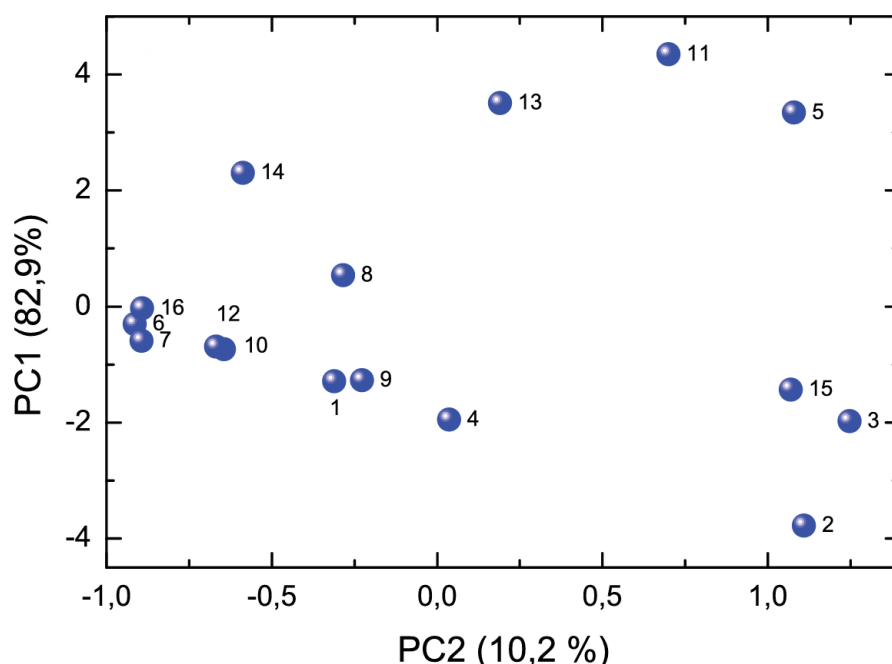


Figura 6.4: Diagrama de dispersão das amostras de óleos vegetais virgens.

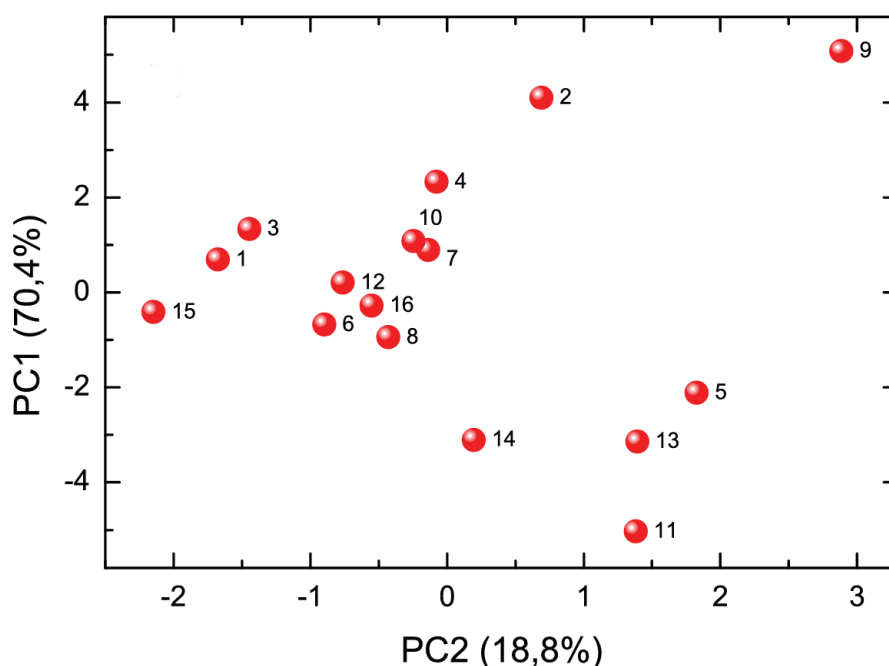


Figura 6.5: Diagrama de dispersão das amostras de óleos vegetais termo-oxidados.

Conforme as figuras 6.4 e 6.5 mostram, as componentes principais (PC1 e PC2) que explicam as variâncias para os espectros de FTIR antes e após o processo de oxidação térmica são 82,9% e 10,2% , 70,4% e 18,8%, respectivamente. A partir dos valores da variância explicada, representada pelas PC1 e PC2, é possível afirmar que essas componentes são suficientes para distinguir as amostras. Por exemplo, com base na figura 6.4 é possível identificar dois grupos distintos; o primeiro grupo é formado pelas amostras 6, 7 e 16 (prímula, semente de abóbora e semente de uva) e o segundo pelas amostras 2, 3 e 15 (amendoim, cártamo e canola). O primeiro grupo possui composição em PUFA similares (57%, 55% e 57%), enquanto que o segundo grupo apresenta valores próximo para os MUFA (28%, 29% e 25%). Além disso, a comparação entre os gráficos de dispersão (antes e após a termo-oxidação) permite inferir que houve uma mudança significativa no comportamento entre as amostras, na qual o processo de oxidação térmica gerou resultados diferentes para cada amostra de óleo vegetal. Não obstante, as propriedades físicas das amostras sofreram alterações por causa da termo-oxidação e as amplitudes dessas transformações são diferentes. Isso pode ser interpretado como um aumento/diminuição nos valores das variâncias das propriedades físico-químicas de um conjunto de amostras (antes e após a termo-oxidação). Essa mudança é detectada nos espectros de FTIR e refletida nas variâncias explicadas por cada componente principal. Logo, conforme observado nas figuras 6.4 e 6.5, a PC1 decresce de 82,9% para 70,4% e a PC2 aumenta de 10,2% para 18,8%, respectivamente.

6.7 Análise de Correlação

Com o objetivo de verificar a relação entre a concentração relativa dos ácidos graxos (MUFA, PUFA e SFA), as propriedades físicas (índice de estabilidade oxidativa e viscosidade dinâmica) e aos valores das componentes principais (PC1 e PC2), foi realizado um estudo da correção entre esses parâmetros. Assim, foi elaborado a tabela 6.9 com as informações sobre as componentes principais (PC1 e PC2), viscosidade dinâmica, o índice de estabilidade oxidativa (OSI) e composição de ácidos graxos (MUFA, PUFA e STA) da amostras.

Tabela 6.9: Componentes principais, viscosidade dinâmica, índice de estabilidade oxidativa e composição em ácidos graxos obtidos antes e após o processo de oxidação térmica.

Amostra		Antes da Oxidação térmica							Após oxidação térmica					
		PC1	PC2	Viscosidade	OSI	SFA	MUFA	PUFA	PC1	PC2	Viscosidade	SFA	MUFA	PUFA
				cP	h	%	%	%			cP	%	%	%
1	abacate	-1,29	-0,31	67	9	14	34	50	0,69	-1,68	258	21	46	31
2	amendoim	-3,78	1,11	77	19	12	67	19	4,10	0,69	1140	22	71	4
3	cártamo	-1,98	1,25	69	9	10	56	32	1,33	-1,45	302	12	68	17
4	gergelim	-1,95	0,04	68	14	15	41	41	2,32	-0,07	970	23	52	21
5	linhaça marrom	3,34	1,08	51	6	11	27	61	-2,11	1,83	240	13	31	54
6	prímula	-0,30	-0,91	63	6	13	28	57	-0,68	-0,90	233	17	33	48
7	semente de abóbora	-0,59	-0,89	63	10	14	29	55	0,89	-0,14	482	20	37	40
8	soja	0,54	-0,28	59	6	14	28	56	-0,94	-0,43	234	18	33	47
9	algodão	-1,27	-0,23	66	13	21	25	53	5,08	2,89	765	34	30	29
10	arroz	-0,74	-0,64	65	11	16	29	54	1,08	-0,24	562	24	37	37
11	chia	4,35	0,70	49	2	11	20	68	-5,03	1,38	70	11	20	67
12	girassol	-0,69	-0,67	64	7	12	34	52	0,20	-0,76	297	16	41	41
13	linhaça dourada	3,51	0,19	51	5	12	23	63	-3,13	1,39	156	14	26	58
14	noz pecã	2,31	-0,59	54	4	11	20	66	-3,11	0,19	125	13	22	63
15	canola	-1,43	1,07	67	5	11	58	30	-0,41	-2,15	167	12	62	24
16	semente de uva	-0,03	-0,89	62	8	16	25	57	-0,27	-0,55	421	21	31	46

Com base nos dados da abela 6.9, o coeficiente de correlação foi obtido para cada amostra. A figura 6.6 apresenta os valores dos coeficientes de correlação no formato de um mapa de calor, nas quais os valores próximos a 1 indicam relações diretamente proporcionais (cor vermelha) e valores próximos a -1 indicam relações inversamente proporcionais (cor azul). As letras -b e -a indicam que os valores foram obtidos das amostras antes e após o processo de termo-oxidação, respectivamente.

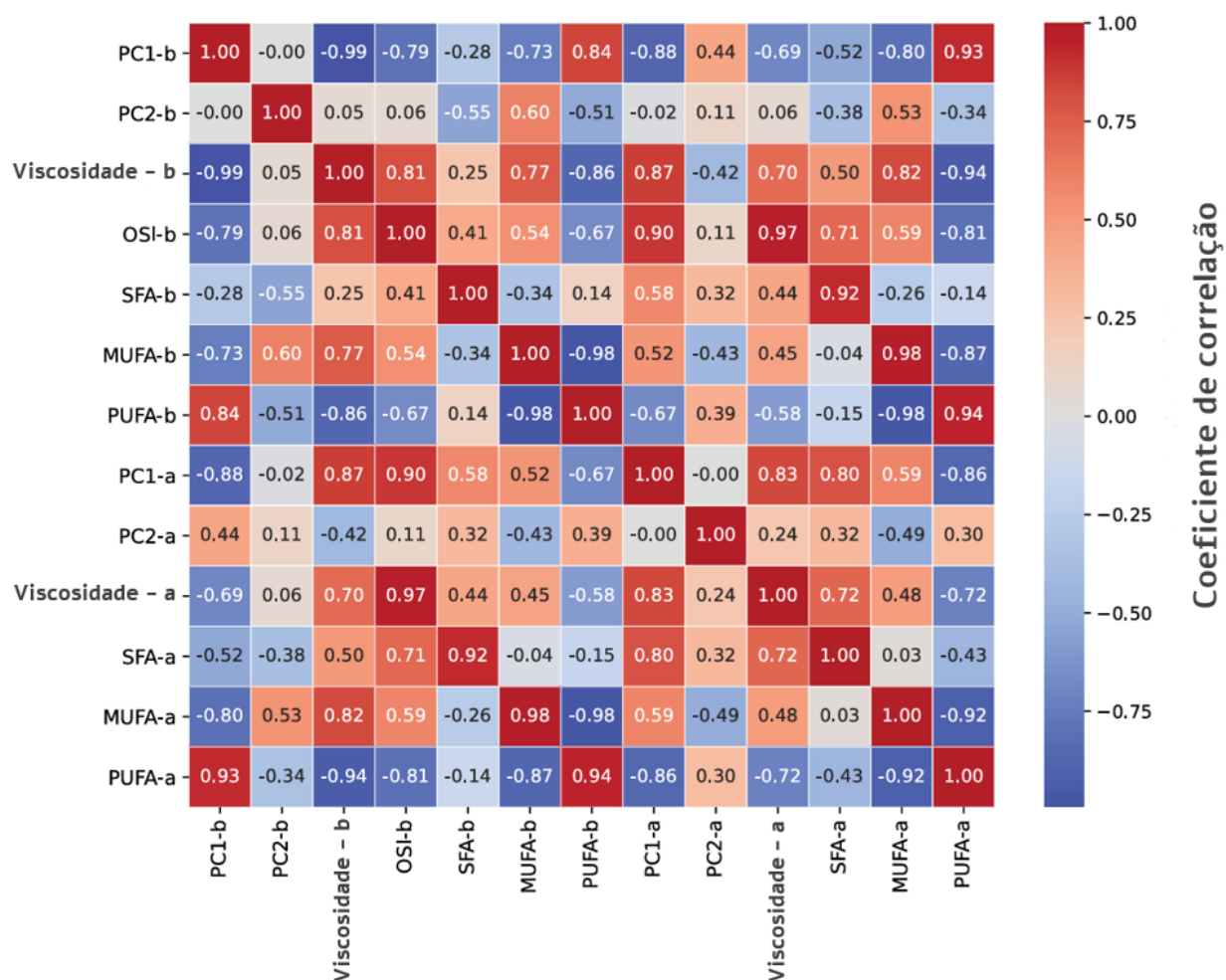


Figura 6.6: Coeficientes de correlação entre as PC's, as concentrações relativas de PUFA, MUFA e STA, os índices de estabilidade oxidativa e as viscosidades, dinâmicas antes e após o processo de termo-oxidação.

Analisando os dados mostrados na figura 6.6 é possível inferir que os resultados obtidos antes da termo-oxidação (-b) das amostras possuem forte correlação entre a viscosidade dinâmica (viscosidade antes da termo-oxidação) e PC-b (-0,99), OSI (0,81) e PUFA-b (-0,86). Logo, quanto maior for o valor da viscosidade dinâmica dos óleos virgens, menor será o valor dos PUFA's para essas amostras, resultando em um número menor de insaturações (ligações duplas) que estariam suscetíveis à reação de oxidação. Logo, essas amostras apresentam um valor alto para o índice de estabilidade oxidativa e, assim, a correlação entre a viscosidade dinâmica-b e o índice de estabilidade oxidativo (081) pode ser justificada. A correlação entre a viscosidade-b e os PUFA's (-0,86) é influenciada pela presença de duplas ligações na configuração *cis*, pois essas insaturações diminuem a linearidade das cadeias carbônicas e reduzem a tendência de empacotamento das moléculas de triacilgliceróis, aumentando a fluidez da amostra. As insaturações podem ser detectadas nos espectros FTIR e, assim, o valor do coeficiente de

correlação entre os PUFA-b e a PC1-b (0,84) é aceitável porque a PC1 retrata as informações sobre o número de insaturações contidas no espectro. Logo, as concentrações PUFA's e MUFA's afetam diretamente os valores da viscosidade e, dessa forma, influenciam a estabilidade oxidativa das amostras, que podem ser estudadas por meio dos espectros FTIR. As correlações entre os resultados obtidos antes e após o processo de termo-oxidação são evidenciadas na figura 6.6. Em vista disso, a componente principal antes do processo de termo-oxidação (PC1-b) tem alta correlação com os ácidos graxos poli-insaturados após o processo de termo-oxidação, PUFA-a, (0,93). A explicação para essa relação direta de proporcionalidade consiste no fato de que a PC1-b representa a quantidade de ácidos graxos presentes nas amostras; assim, quanto maior for a concentração de ácidos graxos poli-insaturados antes da oxidação térmica, maior é a concentração de PUFA-a. Por outro lado, existe uma relação inversamente proporcional entre os ácidos graxos poli-insaturados antes da oxidação térmica (PUFA-b) e os ácidos graxos monoinsaturados após a oxidação térmica (MUFA-a), na qual o coeficiente de correlação vale -0,98. Uma possível explicação para esse comportamento é que o aquecimento das amostras de óleos vegetais virgens gera o rompimento das insaturações nos PUFA's e, assim, os MUFA's são formados.

Capítulo 7

Conclusão

O presente trabalho permite concluir que as composições dos ácidos graxos dos óleos vegetais virgens e termo-oxidados analisados neste trabalho observou-se que os resultados obtidos por cromatografia gasosa mostram a predominância de ácidos graxos com cadeias longas, como os ácidos oleicos (C18:1n9c), linoleico (C18:2n6C) e linolênico (C18:3n3c). Além disso, foi identificado a presença de ácido palmitoleico ($\omega - 7$) está presente unicamente no óleo de canola, enquanto que o ácido gadoleico (C20:1n9c) foi identificado nos óleos de amendoim e de canola.

Em relação aos valores dos índices de estabilidade oxidativa dos óleos vegetais virgens pode-se afirmar que eles são característicos de cada óleo vegetal, pois suas propriedades variam de acordo com a planta de origem dos óleos.

No que se refere às densidades das amostras analisadas, observou-se que não houve variação significativa no valor desse parâmetro para as diferentes amostras e ela apresenta comportamento linear com a variação da temperatura. Os valores das densidades são considerados adequados, levando em consideração os valores de referencia das agencias reguladores.

Os resultados obtidos da viscosidade dinâmica permitem inferir que todas a amostras apresentam comportamento reológico característicos dos fluídos newtonianos.

Com relação aos espectros FTIR-ATR pode-se concluir que as amostras de óleos virgens possuem características semelhantes, nas quais os espectros estão sobrepostos. Para as amostras de óleos vegetais termo-oxidados, observou-se que eles têm características espectrais similares, mas existem diferenças nas intensidades dos picos entre as amostras. Assim, com uso da técnica de espectroscopia FTIR foi possível monitorar a evolução química induzida pelo processo de termo-oxidação (que gerou formação de novos compostos) assim como observar a evolução

espectral das amostras analisadas.

A análise de componentes principais, uma técnica estatística multivariada, permitiu distinguir as amostras, pois esse sistema multivariado com informações correlacionadas puderam ser representadas por um gráfico bidimensional em que contém todas as informações de interesse, reduzindo os dados sem perder as informações. Nesse contexto, somente dois componentes principais foram suficientes para explicar as variâncias dos dados.

Em relação à viscosidade dinâmica das amostras é um parâmetro físico que sofre muita alteração por termo-oxidação, pois os ácidos graxos poli-insaturados são susceptíveis aos processos oxidativos, especialmente com o aumento da temperatura. Nesse sentido, existe forte correlação entre os ácidos graxos poli-insaturados antes da oxidação e os ácidos graxos monoinsaturados após a termo-oxidação das amostras, pois a reação de termo-oxidação transforma parte dos ácidos poli-insaturados em ácidos graxo monoinsaturados; além de formar produtos secundários.

Foi observado forte correlação entre a componente principal antes da termo-oxidação (PC1-b) com os ácidos graxos poli-insaturados após a termo-oxidação. Isso ocorre porque a componente principal PC1 foi obtida a partir das informações dos espectros FTIR das amostras e esses dados espectrais refletem as estruturas moleculares dos materiais analisados. Dessa forma, é possível estabelecer uma conexão entre os espectros FTIR e a viscosidade dinâmica.

O uso da análise de componentes principais nos espectros FTIR manteve a associação entre os grupos vibracionais com ligação dupla (insaturações) e a viscosidade, que pode ser justificado por meio do valor do coeficiente de correlação entre a CP1 e a viscosidade dos óleos virgens.

Referências Bibliográficas

- [1] F. SHAHIDI. Edible oil and fat products: Edible oils. In *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, volume 2, chapter 2, 4, 5, 7, 9, 10, 11, 12, 13 e 14, pages 707–1367. John Wiley & Sons, Inc., 2nd edition, 2005.
- [2] NUNES C. A. *Tecnologia de óleos e gorduras para engenharia de alimentos*. UFLA, Lavras, 2013.
- [3] G. C. CARVALHO. *Composição de ácidos graxos em óleos vegetais obtida por cromatografia gasosa e sua correlação com propriedades térmicas, reológicas, espectroscópicas e outras propriedades físico-químicas*. PhD thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, – Programa de Pós-Graduação em Química, Natal, 2019.
- [4] L. M. L. FRANCA, A.; NOLLET. *Spectroscopic methods in food analysis*. Taylor & Francis Group, Flórida, 2018.
- [5] R. J. SOUZA, A. M.; POPPI. Experimento didático de quimiometria para análise de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I. *Química Nova*, 35(1), 2012.
- [6] ASHURST P. R.; DENNIS M.J. *Food Authentication*. Chapman & Hall, Londres, 1996.
- [7] R. G. BRERETON. *Chemometrics data driven extraction for science*. John Wiley & Sons, Bristol, 2018.
- [8] L. J. ABDI, H.; WILLIAMS. Principal component analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2(4), 2010.
- [9] MCMURRY J. *Fundamentals of organic chemistry*. Books/Cole, Belmont, 7 edition, 2011.
- [10] N. JORGE. *Química e tecnologia de óleos vegetais*. Cultura Acadêmica, São Paulo, 2009.

- [11] RAMALHO H. F.; SUAREZ P. A. Z. The chemistry of oils and fats and their extraction and refining processes. *Revista Virtual de Química*, 5(1):2–15, 2013.
- [12] R. C. NEUMAN JR. *Organic Chemistry*. Chapman & Hall, Riverside, 2013.
- [13] NELSON D.L.; COX M. M. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. Artmed, Porto Alegre, 6th edition, 2014.
- [14] AKOH C. C.; MIN D. B. *Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology*. Marcel Dekker, New York, 2nd edition, 2002.
- [15] MARTIN C. A.; ALMEIDA V. V.; RUIZ M. R.; VISENTAINER J. E. L.; MATSHUSHITA M.; SOUZA N. E.; VISENTAINER J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: Importância e ocorrência em alimentos. *Revista de Nutricao*, 19(6):761–770, 2006.
- [16] BARTHELMESS A. *Química Orgânica*. Semeador, Curitiba, 1968.
- [17] A. BAZACHI. *Autoria própria*. UEM, Maringá, 2023.
- [18] F. D. GUNSTONE. *Fatty acid and lipid chemistry*. Chapman & Hall, London, 1 edition, 1996.
- [19] C. SCRIMGEOUR. *Chemistry of Fatty Acids*. In: SHAHIDI, F. *Baileys's Industrial Oil & Fat Products: Specialty Oils & Oil Products*, volume 1. Wiley- Interscience, New Jersey, 6 edition, 2005.
- [20] LIMA F. E. L.; MENEZES T. N.; TAVARES M. P.; SZARFARC S. C.; FISBERG R. M. Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: Uma Revisão. *Revista de Nutrição*, 13(2):73–80, 2000.
- [21] World Health Organization. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Consultation. diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Technical Report 916, World Health Organization, 2003.
- [22] MICHA R.; MOZAFFARIAN D. Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: a fresh look at the evidence. *Lipids*, 45:893 – 905, 2010.
- [23] RAPOSO H. F. Efeito dos ácidos graxos n-3 e n-6 na expressão de genes do metabolismo de lipídeos e risco de aterosclerose. *Revista de Nutrição*, 23(5):871–879, 2010.

- [24] BARBOSA K. B. F.; VOLP A. C. P.; RENHE I. R. T.; STRINGHETA P. C. Ácidos graxos das séries ômega 3 e 6 e suas Implicações Na saúde humana. *Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr*, 32(2):129–145, 2007.
- [25] V. M. H HIMELSTEIN. *Aplicação do método de controle de gordura trans no processo produtivo de refeições – CGTR*. PhD thesis, Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2014.
- [26] J. A. NETTLETON. *Omega-3 fatty acids and health*. Chapman & Hall, Londres, 1995.
- [27] WEINTRAUB M.S.; ZECHNER R.; BROWN A.; EISENBERG S.; BRESLOW J.L. Dietary polyunsaturated fats of the w-6 and w-3 series reduce postprandial lipoprotein levels. *The Journal of Clinical Investigation*, 82(6):1884–1893, 1988.
- [28] KASTORINI C. M.; MILIONIS H. J.; ESPOSITO K.; GIUGLIANO D.; GOUDEVENOS J. A.; PANAGIOTAKOS D. B. The effect of mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *Journal of the American College of Cardiology*, 57(11):1299–1313, 2011.
- [29] ALONSO A.; RUIZ-GUTIERREZ V.; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ M. A. Monounsaturated fatty acids, olive oil and blood pressure: Epidemiological, clinical and experimental evidence. *Public Health Nutrition*, 9(2):251–257, 2006.
- [30] MENTE A.; KONING L.; SHANNON H. S.; ANAND S. S. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease. *Archive International Medicine*, 169(7):659–669, 2009.
- [31] W. S. A. NETO. Um breve levantamento bibliográfico sobre os ácidos graxos ômega-3 e suas características. Universidade Federal de Uberlândia, 7 2019. Trabalho de Conclusão de Curso.
- [32] GARÓFOLO A.; PETRILLI A. S. Balanço entre ácidos graxos ômega-3 e 6 na resposta inflamatória em pacientes com câncer e caquexia. *Revista de Nutrição*, 19(5):611–621, 2006.
- [33] A. C. O. CARVALHO. Características físico-químicas de óleos vegetais comestíveis puros e adulterados. Universidade Estadual do Norte Fluminense, 7 2017. Monografia.
- [34] PERINI J. A. L. et al. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. *Revista de Nutrição*, 23(6):1075–1086, 2010.

- [35] A. H. LICHTENSTEIN. Dietary trans fatty acids and cardiovascular disease risk: past and present. *Current Atherosclerosis Reports*, 16(433):1–7, 2014.
- [36] Institute of Shortening and Edible Oils. Food fats and oils. Technical report, Institute of Shortening and Edible Oils, 2016.
- [37] FERLAY A.; BERNARD L.; MEYNADIER A.; MALPUECH-BRUGÈRE C. Production of trans and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. *Biochimie*, 141:107–120, 2017.
- [38] STENDER S.; ASTRUP N.; DYERBERG J. Ruminant and industrially produced trans fatty acids: health aspects. *Food & nutrition research*, 52(1):1–9, 2008.
- [39] S. BANNI. Conjugated linoleic acid metabolism. *Current opinion in lipidology*, 13(3):261–266, 2002.
- [40] European Food Safety Authority. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *European Food Safety Authority Journal*, 8(3), 2010.
- [41] J.M. FUNCK L. G.; BARRERA-ARELLANO D.; BLOCK. Ácido linoleico conjugado (CLA) e sua relação com a doença cardiovascular e os fatores de risco associados. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 56(2):123–134, 2006.
- [42] NESTEL P.; NOAKES M.; BELLING B.; MCARTHUR R.; CLIFTON P.; JANUS E.; ABBEY M. Plasma lipoprotein lipid and lp[a] changes with substitution of elaidic acid for oleic acid in the diet. *Journal of Lipid Research*, 33(7), 1992.
- [43] BLANCO A.; BLANCO G. Lipids. In *Medical Biochemistry*, volume 1, chapter 5, pages 99–119. Academic Press, 1st edition, 2017.
- [44] j. D WEETE. *Lipid Biochemistry of Fungi and Other Organisms*. Springer, Boston, 1980.
- [45] ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução da diretoria colegiada - rdc n°481, de 15 de março de 2021. dispõe sobre os requisitos sanitários para óleos e gorduras vegetais, 2021. **Diário Oficial da União**.
- [46] AUED-PIMENTEL S.; TAKEMOTO E.; KUMAGAI E. E.; CANO C. B. Determinação da diferença entre o valor real e o teórico do triglicerídeo ECN 42 para a detecção de adulteração em azeites de oliva comercializados no Brasil. *Química Nova*, 31(1), 2008.

- [47] Pecuária e Abastecimento (Brasil) MAPA Ministério da Agricultura. Instrução normativa nº1, de 01 de fevereiro 2012, 2012. **Diário Oficial da União**.
- [48] Pecuária e Abastecimento Ministério da Agricultura. Portaria nº 419, 26 de agosto de 2010. regulamento técnico dos azeites de oliva e dos óleos de bagaço de oliva, 2010. **Diário Oficial da União**.
- [49] ÇAKALOGLU B.; OZYURT V.; OTLES S. Cold press in oil extraction. A review. *Ukrainian Food Journal*, 7(4), 2018.
- [50] RABONATO L. C.; AMARAL R. D. A.; OLIVEIRA R. S.; FERRARI A. R.; MORGANO M. A. Obtenção de óleo, farinha e biodiesel etílico a partir de prensagem a frio de amêndoas de girassol. *Energia na Agricultura*, 32(3), 2017.
- [51] MOREAU R. A.; KAMAL-ELDIN A. Avocado oil. In *Gourmet and Health-Promoting Specialty Oils*, volume 1, chapter 2, pages 73 – 125. AOCS Press, 1st edition, 2009.
- [52] MIELKE, T. Oil world. Disponível em: <https://www.oilworld.biz/>. Acesso em: 04 abril 2021, 2023.
- [53] ZENEBON O.; SADOCCO N.; TIGLEA P. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2008.
- [54] FERREIRA E. S.; SILVEIRA C. S.; LUCIEN V. G.; AMARAL A. S. Caracterização físico-química da amêndoa, torta e composição dos ácidos graxos majoritários do óleo bruto da castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K). *Brazilian Journal of Food and Nutrition*, 17(2), 2006.
- [55] L. N. ROSA. Avaliação de propriedades físicas e químicas de óleos vegetais comestíveis empregando-se análise multitabelas. Master's thesis, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, – Programa de Pós-Graduação Tecnologia de Alimentos, Campo Mourão, 2017.
- [56] REDA S. Y.; CARNEIRO P. I. B. Óleos e gorduras: aplicações e implicações. *Revista Analytica*, 1(27), 2007.
- [57] M. FANI. Tipos e efeitos da rancidez oxidativa em alimentos. *Food Ingredients Brasil*, 1(29), 2014.
- [58] SANTOS R. C.; FREIRE R. M. M.; LIMA L. M.; ZAGONEL G. F. ; COSTA B. J. Produtividade de grãos e óleo de genótipos de amendoim para o mercado oleoquímico. *Revista Ciência Agronômica*, 43(1):72–77, 2012.

- [59] GERD J.; HARDY C.; FEHR W.; WHITE P. J. Frying performance of no-trans, low-linolenic acid soybean oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(6):557–563, 2012.
- [60] J. M. A. ARAÚJO. *Química de alimentos: teoria e prática*. UFV, Viçosa, 4th edition, 2008.
- [61] FILHO A. B. M; VASCONCELOS M. A. S. *Química de Alimentos*. UFRPE, Recife, 2011.
- [62] M. B. DANTAS. *Blendas de biodiesel: propriedades de fluxo, estabilidade térmica e oxidativa e monitoramento durante armazenamento*. PhD thesis, Universidade Federal da Paraíba, – Programa de Pós-Graduação em Química, João Pessoa, 2010.
- [63] S. WANG, C.; ERHAN. OStudies of thermal polymerization of vegetable oils with a differential scanning calorimeter. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 76(10), 1999.
- [64] M. FORINA. Fundamenta per la chimica analitica. Disponível em: <http://www.sisnir.org/sisnir/download/fondamenta-per-la-chimica-analitica>. Acesso em: 04 dezembro 2021.
- [65] M. M. C. FERREIRA. *Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações*. UNICAMP, Campinas, 2015.
- [66] M. J. ADAMS. *Chemometrics in Analytical Spectroscopy*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1995.
- [67] K.; FILZMOSER P. VARMUZA. *Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics*. CRC Press, Boca Raton, 2008.
- [68] R. G. BRERETON. *Chemometrics data analysis for the laboratory and chemical plant*. John Wiley & Sons, England, 2002.
- [69] A. C. OLIVIERI. *Introduction to Multivariate Calibration: a practical approach*. Springer, Boston, 2018.
- [70] L. VICINI. *Análise multivariada da teoria à prática*. Universidade Federal de Santa Maria, 2005. Monografia.

- [71] A. C. RENCHER. *Methods of multivariate analysis*. John Wiley & Sons, New York, 2nd edition, 2009.
- [72] J. F.; BLACK B.; BABIN B. ANDERSON R. E.; TATHAM R. L. HAIR. *Análise Multivariada de Dados*. Bookman, Porto Alegre, 6th edition, 2009.
- [73] A. C. RENCHER. *Multivariate statistical inference and application*. John Wiley & Sons, New York, 2nd edition, 1998.
- [74] G. RAYKOV, T.; MARCOULIDES. *An Introduction to Applied Multivariate Analysis*. Routledge, New York, 1st edition, 2008.
- [75] A. C. P. MAGALHAES, M. N.; LIMA. *Noções de probabilidade e estatística*. Edusp, São Paulo, 4th edition, 2002.
- [76] R. TODESCHINI. *Introduzione alla chemiometria*. EdiSES, Napoli, 1st edition, 1998.
- [77] C. N. C. CORGOZINHO. *Utilização de técnicas espectrofluorimétricas e quimiométricas na análise de biodiesel e de suas misturas com óleo diesel*. PhD thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, – Departamento de Química, Belo Horizonte, 2009.
- [78] M. M. C.; ANTUNES A. M.; MELGO M. S.; VOLPE L. O. P FERREIRA. Quimimetria I: calibração multivariada, um tutorial. *Química Nova*, 22(5), 1999.
- [79] T. P. RODRIGUES. *Espectroscopia vibracional, técnicas fototérmicas e quimiométricas para caracterização físico-química de diesel e combustíveis alternativos*. PhD thesis, Universidade Estadual de Maringá, – Programa de Pós-Graduação em Física, Maringá, 2017.
- [80] R. G. BRERETON. *Chemometrics for pattern recognition*. John Wiley & Sons, Bristol, 2009.
- [81] R. J.; DA-COL J. A.; DANTAS W. F. C. POPPI. Experimento didático de quimiometria para o mapeamento *pellets* farmacêuticos utilizando espectroscopia de imagem na região do infravermelho próximo e resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes: um tutorial., Parte IV. *Química Nova*, 41(3), 2018.
- [82] V. L. MARTINS. *Tratamento de dados em multiescala utilizando transformada Wavelet para localização de ponto de inflexão em curvas de análise por redissolução potenciométrica*. PhD thesis, Universidade Federal de Pernambuco, – Programa de Pós-Graduação em Química, Recife, 2005.

- [83] S. J. ORFANIDIS. *Introduction to signal processing*. Prentice Hall, New Jersey, 1995.
- [84] SCHOBER P.; BOER C.; SCHWARTE L.A. Correlation coefficients: appropriate use and interpretation. *Anesth Analg*, pages 1763–1768, 2018.
- [85] BUOSI G. M. Extração do óleo de abacate (*Persea americana Mill*) visando a produção de biodiesel e sua caracterização. Universidade Federal do Paraná, 12 2013. Monografia.
- [86] TANGO J. S.; CARVALHO C. G. L.; SOARES N. B. Caracterização física e química de frutos de abacate visando a seu potencial para extração de óleo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26(1), 2004.
- [87] D. FIRESTONE. *Physical and chemical characteristics of oils, fats, and waxes*. AOCS Press, Champaign, 3rd edition, 2013.
- [88] MYER R. O.; JOHNSON D. D.; KNAUFT D. A.; GORBET D. W.; BRENDemuHL J. H.; WALKER W. R. Effect of feeding high-oleic-acid peanuts to growing-finishing swine on resulting carcass fatty acid profile and on carcass and meat quality characteristics. *Journal of Animal Science*, 70(12):3734–3741, 1992.
- [89] HAN X.; CHENG L.; ZHANG R.; BI J. Extraction of safflower seed oil by supercritical CO₂. *Journal of Food Engineering*, 92(4), 2009.
- [90] VOSOUGHKIA M.; GHAVAMIB M.; GHARACHORLOO M.; SHARRIFMOGHAD-DASI M.; OMIDI A. M. Lipid composition and oxidative stability of oils in safflower (*Carthamus Tinctorius L.*) seed varieties grown in Iran. *Advances in Environmental Biology*, 5(5), 2011.
- [91] COŞGE B.; GÜRBÜZ B.; KIRALAN M. Oil content and fatty acid composition of some safflower (*Carthamus tinctorius L.*) varieties sown in spring and winter. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 1(3), 2007.
- [92] GECGEL U.; DEMIRCI M.; ESENDAL E.; TASAN M. Fatty acid composition of the oil from developing seeds of different varieties of safflower (*Carthamus tinctorius L.*). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(1), 2007.
- [93] ANTONIASSI R.; ARRIEL N. H. C.; GONÇALVES E. B.; FREITAS S. C.; ZANOTTO D. L.; BIZZO H. R. Influência das condições de cultivo na composição da semente e do óleo de gergelim. *Revista Ceres*, 60(3), 2013.

- [94] M. NAMIKI. Nutraceutical functions of fesame: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(7), 2007.
- [95] ANTONIASS R. Método de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 19(2), 2001.
- [96] A. C. MARQUES. Propriedades funcionais da linhaça *Linum usitatissimum* L. em diferentes condições de preparo e uso em alimentos. Master's thesis, Universidade Federal de Santa Maria, – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Santa Maria, 2008.
- [97] BARROSO A. K. M.; TORRES A. G.; BRANCO V. N. C.; FERREIRA A.; FINOTELLI P. V.; FREITAS S. P.; LEÃO M. H. M. R. Linhaça marrom e dourada: propriedades químicas e funcionais das sementes e dos óleos prensados a frio. *Revista Ciência Rural*, 44(1), 2014.
- [98] J. G LIRA. Avaliação microbiológica após a irradiação com plasma atmosférico em sementes de linhaça dourada. Master's thesis, Universidade do Vale da Paraíba, – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, São José dos Campos, 2017.
- [99] B.J.F. HUDSON. Evening primrose (*Oenothera* spp.) oil and seed. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(3), 1984.
- [100] F. B. SANTANA. Uso de espectroscopia no infravermelho médio e análise discriminante por quadrados mínimos parciais na determinação de adulterações em óleos de andiroba, prímula e rosa mosqueta. Master's thesis, Universidade Federal de Uberlândia, – Programa de Pós-Graduação em Química, Uberlândia, 2015.
- [101] PAZ M.; FERNANDEZ-ARCHE M. A.; ANGEL-MARITIN M.; GARCIA-GIMENEZ M. D. Phytochemical characterization of potential nutraceutical ingredients from Evening Primrose oil (*Oenothera biennis* L.). *Phytochemistry Letters*, 8(1), 2013.
- [102] W. W. CHRISTIE. The analysis of evening primrose oil. *Industrial Crops and Products*, 10(2), 1999.
- [103] J. C. CARVALHO. Avaliação da composição do óleo de semente de abóbora (*Cucurbita moschata* Duchesne) e moranga (*Cucurbita maxima* Duchesne). Master's thesis, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Uberlândia, 2013.

- [104] MALDONADE I. R.; LOZADA M. I. O.; OLIVEIRA L. L.; AMARO G. B. Estabilidade de oxidativa de óleos de sementes de cucurbitáceas, 2019. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 185.
- [105] FRIDAY O. Source, Extraction and Constituents of Fats and Oils. *Journal of Food Science & Nutrition*, pages 1–16, 2020.
- [106] VARÃO L. H. R.; SILVA T. A. L.; ZAMORA H. D. Z.; PASQUINI D. Óleo de algodão como matéria-prima para indústria brasileira de biodiesel. *Revista Brasileira de Energia*, 24(1):88–108, 2018.
- [107] TEODORO A. V; SILVA S.S.; VASCONCELOS J. F.; BOMFIM R. V. S.; SANTANA S. F.; FILHO J. G. S. Eficiência relativa do óleo bruto de algodão no controle do Ácaro-da-Necrose *Aceria guerreronis* em coqueiro. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - EMBRAPA*, pages 1–22, 2016.
- [108] M. S. SCAVARELLO, E. Recuperação de gama-orizanol da borra de neutralização de óleo de farelo de arroz. Master's thesis, Universidade Estadual de Campinas, – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 1997.
- [109] MOST M. M.; TULLEY R.; MORALES S.; LEFEVRE M. Rice bran oil, not fiber, lowers cholesterol in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 2005.
- [110] COELHO M. S; SALAS MELLADO M. M. Composição química, propriedades funcionais e aplicações tecnológicas da semente de chia (*salvia hispanica l*) em alimentos. *Brasilian Journal of Food Technology*, 17(4), 2014.
- [111] IXTAINA V.Y.; MARTINEZ M. L.; SPOTORNO V.; MATEO C. M.; MAESTRI D. M.; DIEHL B. W. K.; NOLASCO S. M.; TOMAS M. C. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(2), 2011.
- [112] MASUCHI M. H.; CELEGHINI R. M. S.; GONÇALVES L. A. G.; GRIMALDI R. Quantificação de TBHQ (terc butil hidroquinona) e avaliação da estabilidade oxidativa em óleos de girassol comerciais. *Química Nova*, 31(5):1053–1057, 2008.
- [113] R. MARCO. *Fenologia, xenia e irrigação na produção de frutos de noqueira-pecã*. PhD thesis, Universidade Federal de Pelotas, – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Pelotas, 2020.

- [114] L. L. SANTOS. Estudo da composição química e avaliação das atividades biológicas de *Carya illinoensis* (wangenh.) k. koch (*Juglandaceae*). Master's thesis, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2018.
- [115] T. ORO. Composição nutricional, compostos bioativos e vida de prateleira de noz e óleo prensado a frio de noz-pecã [*Carya illinoensis* (wangenh.) k. koch]. Master's thesis, Universidade Federal de Santa Catarina, - Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Florianópolis, 2007.
- [116] RIVERA-RANGEL L.; AGUILERA-CAMPOS K.; GARCIA-TRIANA A.; AYAL S. J.; CHAVEZ D.; HERNANDEZ-OCHOA L. Comparison of oil content and fatty acids profile of Western Schley, Wichita, and native pecan nuts cultured in Chihuahua, Mexico. *journal of lipids*, 2018(4781345), 2018.
- [117] SHINAGAWA F. B. *Avaliação da composição química de óleos brasileiros de semente de uva (Vitis vinifera L.) e seu efeito sobre parâmetros bioquímicos e inflamatórios em ratos*. PhD thesis, Universidade de São Paulo, – Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, São Paulo, 2015.
- [118] BAIL S.; STUEBINGER G.; KRIST S.; UNTERWEGER H.; BUCHBAUER G. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity). *Food Chemistry*, 108(3), 2008.
- [119] CREWS C.; HOUGH P.; GODWARD J.; BRERETON P.; LEES M.; GUIET S.; WINKELMANN W. Quantitation of the main constituents of some authentic grape-seed oils of different origin). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17), 2006.
- [120] MASZEWSKA M.; FLOROWSKA A.; DLUZEWSKA E.; WRONIAK M.; MARCINIAK-LUKASIAK K.; ZBIKOWSKA A. Oxidative Stability of Selected Edible Oils. *Molecules*, 23(7), 2018.
- [121] GUIMARÃES A. K. V. *Estudo do óleo de oiticica (Licania rigida, Benth) para obtenção de biodiesel e avaliação de suas propriedades como combustível*. PhD thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Natal, 2018.
- [122] CASTRO A.G. *Estudo da influência da curcumina na estabilidade oxidativa de biodieseis e óleos vegetais*. PhD thesis, Universidade Estadual de Campinas, – Instituto de Química, Campinas, 2013.

- [123] TELEKEN J. G.; CREMONEZ P. A.; FEROLDI M.; OLIVEIRA C. J.; MEIER T. R. W.; DIETER J.; PARISOTTO E. I. B. Período de indução de blendas de biodiesel de diferentes fontes graxas. *Review of Scientific Instruments*, 4(edição especial), 2015.
- [124] European Committee for Standardization. En 14112:2003 - fat and oil derivatives - fatty acid methyl esters (fame), determination of oxidation stability (accelerated oxidation test). Technical report, European Committee for Standardization, 2003.
- [125] Metrohm. Manual 892 professional racimat, 2020. Manual.
- [126] A. E. FARIA-MACHADO A F GUEDES A M M BIZZO H R ANTONIASSI, R.; WIHELM. Otimização do método Hartman e Lago de preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos. Embrapa, 2018.
- [127] D. C.; LUCY C. A. HARRIS. *Análise química quantitativa*. LTC, New York, 2017.
- [128] J. M. McNAIR, H. M.; MILLER. *Basic gas chromatography*. John Wiley & Sons, New Jersey, 2009.
- [129] Cassiana Montagner, Cristiane Vidal, Beatriz Vizioli, and Luiz Gomes. *Aspectos analíticos para a determinação de contaminantes ambientais no contexto da ecotoxicologia*, pages 381–414. 01 2021.
- [130] J. KAUPPINEN, J.; PARTANEN. *Fourier Transform in Spectroscopy*. Wiley-VCH, Berlim, 2001.
- [131] A. ROHMAN. Infrared spectroscopy for quantitative analysis and oil parameters of olive oil and virgin coconut oil: a review. *International Journal of Food Properties*, 20(7), 2017.
- [132] D. HARVEY. *Modern Analytical Chemistry*. McGraw-Hill, New York, 2008.
- [133] C F C HUANG C T SAMIOS D FERRÃO M F RUSCHEL. Análise exploratória aplicada a espectros de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR) de blendas de biodiesel/diesel. *Química Nova*, 37(5), 2014.
- [134] G. M.; KRIZ G. S.; VYVYAN J. R. PAVIA, D. L.; LAMPMAN. *Introduction to Spectroscopy*. Books/Cole, Belmont, 2009.
- [135] B. STUART. *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications*. Wiley, New York, 2004.

- [136] J. G. MAYER. Comparação da análise de ácidos graxos trans em biscoitos por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (ch-em) e por espectroscopia no infravermelho com transformada de fourier e reflectância total atenuada (ft-ir-atr). Master's thesis, Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Farmácia – Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde, Niterói, 2017.
- [137] E. L. SAVI. *Avaliação do estágio de oxidação do biodiesel e caracterização de blends diesel/biodiesel via métodos espectroscópicos*. PhD thesis, Universidade Estadual de Maringá, – Programa de Pós-Graduação em Física, Maringá, 2017.
- [138] E. H. O. LOPES. Degradação termo-oxidativa de óleos lubrificantes: caracterização termoanalítica e reológica. Master's thesis, Universidade Federal de Campina Grande, – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Campina Grande, 2007.
- [139] H. A.; HUTTON J. F.; WALTERS F.R.S. BARNES. *An introduction to rheology*. Elsevier, Netherlands, 1989.
- [140] L. P. S. C. GALVAO. Avaliação termoanalítica da eficiência de antioxidantes na estabilidade oxidativa do biodiesel de mamona. Master's thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, – Programa de Pós-Graduação em Química, Natal, 2007.
- [141] M. A. M. F. MELO. Avaliação das propriedades de óleos vegetais visando a produção de biodiesel. Master's thesis, Universidade Federal da Paraíba, – Programa de Pós-Graduação em Química, João Pessoa, 2010.
- [142] F. BRUNETTI. *Mecânica dos fluídos*. Pearson Prentice Hall, São Paulo, 2005.
- [143] A. S. FRANCISCO. *Fenômenos de transporte*. Cecierj, Rio de Janeiro, 2018.
- [144] R. W.; PRITCHARD P. J.; McDONALD A. T. FOX. *Introduction to fluid mechanics*. John Wiley & Sons, New York, 2011.
- [145] H. R. REGATIERI. *Estudo da termodegradação em biodiesel de soja e gordura animal*. PhD thesis, Universidade Tecnológica Federal de Paraná, – Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais, Medianeira, 2016.
- [146] L. A. ARAUJO. Estudos das propriedades físicas, químicas e termofísicas de óleos regionais e suas misturas. Master's thesis, Universidade Federal do Pará, Instituto de Tecnologia – Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belém, 2008.

- [147] B M FILHO J M M AFONSO J C OLIVEIRA. A densidade e a evolução do densímetro. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, 35(1), 2013.
- [148] M.D; CABO N GUILLEN. Characterization of edible oils and lard by fourier transform infrared spectroscopy. Relationships between composition and frequency of concrete bands in the fingerprint region. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74(10), 1997.