



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TERMO-OXIDATIVA
DO ÓLEO DAS SEMENTES DE QUIABO**
(Abelmoschus esculentus (L.) Moench)

MARIA LUCIA BRAGA DE CARVALHO

João Pessoa – PB

Novembro – 2011



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TERMO-OXIDATIVA
DO ÓLEO DAS SEMENTES DE QUIABO
(*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)**

Maria Lucia Braga de Carvalho

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Gouveia de Souza

Co-Orientador: Prof^a. Dr^a. Neide Queiroz

João Pessoa – PB

Novembro – 2011

C331a Carvalho, Maria Lucia Braga de.

Avaliação da estabilidade termo-oxidativa do óleo das sementes de quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) / Maria Lucia Braga de Carvalho. - - João Pessoa: [s.n.], 2011.

87 f. il.

Orientador : Antonio Gouveia de Souza.

Co-orientador : Neide Queiroz.

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCEN.


1. Química orgânica. 2. Óleo de quiabo. 3. Estabilidade termo-oxidativa. 4. Teste de estufa.

UFPB/BC

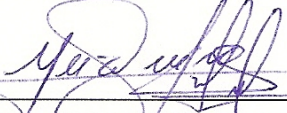
CDU: 547(043)

Avaliação da Estabilidade Termo-Oxidativa do Óleo das Sementes de Quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench).

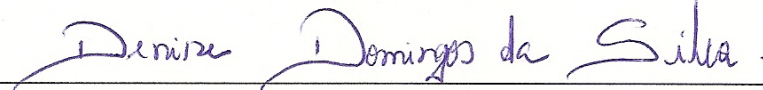
Aprovada pela banca examinadora:



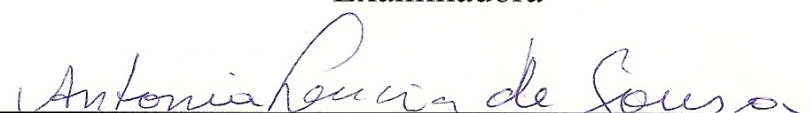
Prof. Dr. Antonio Gouveia de Souza
Orientador/Presidente



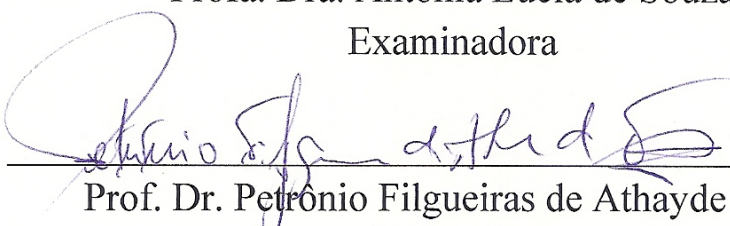
Profa. Dra. Neide Queiroz
2ª. Orientadora



Profa. Dra. Denise Domingos da Silva
Examinadora



Profa. Dra. Antonia Lúcia de Souza
Examinadora



Prof. Dr. Petronio Filgueiras de Athayde Filho
Examinador

A minhas filhas,
incondicionalmente amadas.

Ao companheiro de vida, baliza de serenidade,
com amor e admiração.

Ao Professor Dawy, meu amigo, a quem cabe dizer:
*“O homem que consegue fazer com que as coisas
difíceis pareçam fáceis, é um educador”.*
(Ralph Waldo Emerson)

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, força propulsora do universo, por ser a luz a me guiar em todos os momentos.

A todas as pessoas que são a minha referência de vida, em especial aos meus filhos e netos, Francier, Marina & Valentim, Hermes, Luísa & Joana; aos irmãos Antônio Carlos, Dulce e Joaquim Aristides; aos familiares “de coração”, Renata, Letícia e Sandra. Agradeço pelo incentivo, confiança e amor incondicional.

Ao Prof. Dr. Antonio Gouveia de Souza, orientador e coordenador do LACOM, pela amizade e apoio imensurável, pelo profissionalismo e por tornar possível a realização deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Neide Queiroz, pelas diretrizes fundamentais na orientação e por sua imprescindível colaboração em todas as etapas deste trabalho. Pelo acompanhamento realizado sempre com paciência e compreensão com as minhas dificuldades e pela disponibilidade do seu tempo, o maior dos meus agradecimentos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química, em especial Dr^a Antonia Lúcia de Souza, Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho, Dr^a Iêda Maria Garcia dos Santos, Dr. José Rodrigues de Carvalho Filho e Dr. Ary da Silva Maia, pela disponibilidade, sugestões e contribuição com seus conhecimentos.

Agradeço particularmente a Raul, Marileide, Marta Célia e Marta Maria, companheiros há muito tempo. Em especial, agradeço à Teta e Angela pela realização das análises de bancada; à Sarah e Andréa Suame, pelo auxílio na confecção dos gráficos; e a Guilherme, pela realização das análises de infravermelho.

A todos do LACOM, Nataly, Ana Flávia, Clediana, Suelanio, Anderson, Ielena, Verônica, Pedro, Iago, Rebeca, Tiago, Edivaldo, Abraão, Romero, Vanderlucy, Edilson, Aline, Kassandra, Jaqueline, Poliana, Christiano, Marco Aurélio, Augusto, Alex, Anderson Reis, Diego, Jandilson, João Jarllys, Jefferson, Arnayra, Kleber, Everton, Márcia, Danniely, Luzenir, Evaneide, Camyla, Widelene, Laís e D. Maria, presenças sempre animadoras em todos os momentos.

Ao LPBS, na pessoa do pesquisador Dr. Bruno Freitas Lira, pelo apoio. Agradeço em especial a Rogério, pelo auxílio na obtenção do óleo e por sua amizade.

Ao LQPN, na pessoa do Prof. Dr. Marçal de Queiroz Paulo, do técnico Douglas e dos alunos Min Fu e Raphael, pela ajuda na extração do óleo.

Ao Prof. Dr. Marcelo Sobral e ao técnico Alexsandro, da Central Analítica do CCEN, pela presteza na realização das análises de RMN ¹H e ¹³C.

Ao secretário da Pós-Graduação, Marcos Pequeno, gente de coração grande.

Ao Hermano, pela torcida. Agradeço a Deus sua amizade.

TALVEZ

"Talvez eu venha a envelhecer rápido demais.
Mas lutarei para que cada dia tenha valido a pena.
Talvez eu sofra inúmeras desilusões no decorrer de minha vida.
Mas farei com que elas percam a importância diante dos gestos de amor que encontrei.
Talvez eu não tenha forças para realizar todos os meus ideais.
Mas jamais irei me considerar um derrotado.
Talvez, em algum instante, eu sofra uma terrível queda.
Mas não ficarei por muito tempo olhando para o chão.
Talvez, um dia, o sol deixe de brilhar.
Mas então irei me banhar na chuva.
Talvez um dia eu sofra alguma injustiça.
Mas jamais irei assumir o papel de vítima.
Talvez eu tenha que enfrentar alguns inimigos.
Mas terei humildade para aceitar as mãos que se estenderão em minha direção.
Talvez, numa dessas noites frias, eu derrame muitas lágrimas.
Mas não terei vergonha por esse gesto.
Talvez eu seja enganado inúmeras vezes.
Mas não deixarei de acreditar que, em algum lugar, alguém merece a minha confiança.
Talvez, com o tempo, eu perceba que cometi grandes erros.
Mas não desistirei de continuar trilhando meu caminho.
Talvez, com o decorrer dos anos, eu perca grandes amizades.
Mas irei aprender que aqueles que realmente são meus verdadeiros amigos nunca estarão perdidos.
Talvez algumas pessoas queiram o meu mal.
Mas irei continuar plantando a semente da fraternidade por onde passar.
Talvez eu fique triste ao concluir que não consigo seguir o ritmo de uma música.
Mas então, farei com que a música siga o compasso dos meus passos.
Talvez eu nunca consiga enxergar um arco-íris.
Mas aprenderei a desenhar um, nem que seja dentro do meu coração.
Talvez, hoje, eu me sinta fraco.
Mas, amanhã, irei recomeçar, nem que seja de uma maneira diferente.
Talvez eu não aprenda todas as lições necessárias.
Mas terei a consciência de que os verdadeiros ensinamentos já estão gravados em minha alma.
Talvez eu me deprima por não ser capaz de saber a letra daquela música.
Mas ficarei feliz com as outras capacidades que possuo.
Talvez a vontade de abandonar tudo se torne a minha companheira.
Mas, ao invés de fugir, irei correr atrás do que almejo.
Talvez eu não tenha motivo para grandes comemorações.
Mas não deixarei de me alegrar com as pequenas conquistas.
Talvez eu não seja exatamente quem gostaria de ser.
Mas passarei a admirar quem sou.
Porque, no final, saberei que, mesmo com incontáveis dúvidas, eu sou capaz de construir uma vida melhor.
E se ainda não me convenci disso, é porque, como diz aquele ditado: "ainda não cheguei ao fim".

No final, não haverá nenhum "talvez" e sim a certeza ...
... de que a minha vida valeu a pena e eu fiz o melhor que podia".

Aristóteles Onassis

"Com apenas um passo, o melhor dia da sua vida pode estar por vir. Num instante, todas as energias negativas podem ser redirecionadas para algo positivo."

Título: Avaliação da estabilidade termo-oxidativa do óleo das sementes de quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)

Autor: Maria Lucia Braga de Carvalho

Orientadores: Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza

Prof^a. Dr^a. Neide Queiroz

Resumo

A crescente demanda por óleos vegetais criou a necessidade de se avaliar fontes oleaginosas alternativas para suprir esta procura. Como a oxidação é um fator crítico inerente aos óleos vegetais, este trabalho visou contribuir com dados de estabilidade térmica e oxidativa do óleo de quiabo, ainda não explorado comercialmente. Esta pesquisa investigou a estabilidade termo-oxidativa de amostras do óleo das sementes de quiabo, aditivadas ou não com o antioxidante *terc*-butil-hidroquinona (TBHQ), submetidas ao teste de Schaal a 60 °C por 10 dias. O processo oxidativo foi avaliado pelos parâmetros químicos índice de acidez (IA), índice de iodo (II), índice de peróxido (IP), absorvância específica (E), período de indução (PI), tempo de indução oxidativa (OIT) e temperatura de oxidação (OT). Os resultados mostraram que o valor de IA e II para amostras de óleo com e sem TBHQ, codificadas respectivamente OQT e OQ, não sofreu alteração após envelhecimento em estufa. No entanto, as amostras OQT apresentaram menor valor de IP e maior valor de PI e OIT do que as amostras OQ, mostrando maior estabilidade oxidativa. O valor de PI e OIT das amostras OQT se manteve constante em função do tempo sob aquecimento em estufa, diferentemente das amostras OQ, que apresentaram valor de PI e OIT decrescente e IP crescente. Com relação ao valor de E, este se manteve constante para as amostras OQT e aumentou em torno de 35 % para as amostras OQ. O aumento do valor de E foi um indicativo que houve a formação de dienos conjugados nas amostras sem antioxidante. Outro parâmetro utilizado na avaliação da estabilidade oxidativa do óleo de quiabo foi o monitoramento de bandas de absorção na região do infravermelho (IV), características de produtos da oxidação. Nos espectros de IV das amostras OQ e OQT não foram observadas mudanças na intensidade ou deslocamento nas bandas que podem sofrer modificações com a decomposição dos hidroperóxidos formados durante o teste de estufa. A temperatura *onset* de decomposição (T_{onset}) do óleo das sementes de quiabo, determinada por análise termogravimétrica, foi maior que para os óleos de girassol, soja e milho. Este parâmetro demonstrou maior estabilidade para o óleo de quiabo, fato atribuído à composição de ácidos graxos deste óleo. A composição em ácidos graxos, determinada por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa, indicou predominância do ácido linoléico (33,5 %), seguido do ácido palmítico (25,2 %) e ácido oléico (19,3%). O teor de ácido linoléico, um dos ácidos mais susceptíveis à oxidação, foi menor quando comparado com os óleos de soja, girassol e milho e o teor de ácidos graxos saturados (33,4 %) foi maior que para estes óleos comestíveis. O conjunto de resultados obtidos mostrou que o óleo das sementes de quiabo apresentou boa estabilidade térmica e oxidativa, sendo um indicativo de seu uso como óleo comestível e possível fonte de matéria-prima para biodiesel.

Palavras-chave: óleo de quiabo • estabilidade termo-oxidativa • teste de estufa

Title: Evaluation of the thermo-oxidative stability of okra seeds oil (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)

Author: Maria Lucia Braga de Carvalho

Advisers: Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza
Prof^a. Dr^a. Neide Queiroz

Abstract

The evaluation of thermo-oxidative stability is an essential factor for application of oil in the food industry. In addition, the increase consumption of vegetable oils requires the evaluation of alternative oil sources as feedstock for biodiesel production. This research investigated the thermo-oxidative stability of okra seeds oil (with and without antioxidant) submitted to the Schaal test at 60 °C for 10 days. The oxidation process was evaluated by chemical parameters acidity value (AV), iodine value (IV), peroxide value (PV), extinction value (E) for conjugated dienes, oxidation temperature (OT), induction period (IP) and oxidative induction time (OIT). The results showed that AV and IV values for oil samples with (OQT) and without (OQ) the antioxidant *tert*-butyl hydroquinone (TBHQ) do not changed after aging in oven. However, OQT samples showed lower PV value, higher IP and OIT values than OQ samples hence high oxidative stability. IP and OIT value for OQT samples remained constant as function of time under heating in oven. Differently OQ samples presented decreasing IP and OIT values and increasing IP value. Regarding to E value it remained constant for OQT samples and increased around 35 % for OQ samples. The increased value of E is an indication that there was formation of conjugated dienes in samples without antioxidant. These data demonstrated the importance of adding antioxidants to protect oil from oxidative degradation. Another parameter used for the purpose of evaluate the oxidative stability of oil has been monitoring the absorption bands in the infrared region, characteristic of oxidation products. Evaluation of infrared spectra of the OQ samples do not show changes in intensity or shifting in the bands that are altered with the decomposition of hydroperoxides formed in heating test. Through thermogravimetric analysis it was determined that the onset temperature decomposition (T_{onset}) okra oil was higher than for olive, sunflower, canola, soybeans and corn oils. This parameter shows more stability to the okra oil and it was attributed to the fatty acid composition of this oil. Fatty acid composition indicated predominance of linoleic acid (33.5 %) followed by palmitic acid (25.2 %) and oleic acid (19.3 %). It was found that content of linoleic acid, an acid more susceptible to oxidation, is lower when compared with soybean, sunflower and corn oils. It also gives a value of saturated fatty acids (33.4 %) higher than these edibles oils. The results obtained in this study showed that okra seeds oil has good thermal and oxidative stability, and an indication of its use as edible oil and potential source of feedstock for biodiesel.

Key words: okra oil • thermo-oxidative stability • oven test

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Molécula de um triacilglicerídeo (R1, R2, R3 = são unidades de ácidos graxos, podendo ser iguais ou diferentes)	18
Figura 3.2 Produção mundial de óleos vegetais 2010/11	20
Figura 3.3 Consumo mundial de óleos vegetais 2010/11	20
Figura 3.4 Fotos mostrando quiabeiro (A), frutos (B) e sementes secas (C)...	21
Figura 3.5 Estruturas químicas de compostos polifenólicos encontrados nas sementes de quiabo.	22
Figura 3.6 Esquema reacional do teste de iodo.	25
Figura 3.7 Esquema reacional da saponificação de triacilglicerídeos.....	26
Figura 3.8 Esquema reacional do teste de peróxido..	27
Figura 3.9 Esquema das principais reações ocorridas durante o processo de peroxidação lipídica.....	31
Figura 3.10 Representação esquemática das estruturas químicas dos isômeros dos antioxidantes tocoferol e tocotrienol.	33
Figura 3.11 Estruturas químicas de alguns antioxidantes sintéticos utilizados em óleos vegetais.	34
Figura 3.12 Esquema de funcionamento de um equipamento Rancimat e curva típica de condutividade elétrica para determinação do período de indução	36
Figura 3.13 Estabilidade oxidativa de diferentes matrizes avaliada pelo método PetroOxy.	37
Figura 3.14 Comparação entre os métodos para determinar a estabilidade oxidativa.	38
Figura 4.1 Sementes de quiabo usadas para extração do óleo antes (A) e após (B) trituração.....	39
Figura 4.2 Distribuição das amostras de óleo de quiabo na estufa de circulação de ar.	40
Figura 4.3 Ilustração de um viscosímetro.	44
Figura 5.1 Fotos de recipientes contendo amostras de óleo de quiabo no início da estocagem (A), após 2 dias (B) e após 10 dias (C). OQ = óleo de quiabo e OQT = óleo de quiabo aditivado com TBHQ.	49
Figura 5.2 Cromatograma do óleo de quiabo após reação de transesterificação com metanol.....	49
Figura 5.3 Cromatograma mostrando os 9 constituintes identificáveis presentes no óleo de quiabo após transesterificação com metanol.....	50
Figura 5.4 Formação de alguns produtos secundários da oxidação de radicais alcóxila de hidroperóxidos	55
Figura 5.5 Esquema reacional da hidrólise de triacilglicerídeos.....	55
Figura 5.6 Espectro de absorbância UV-vis de amostras de óleo de quiabo submetidas a aquecimento em estufa a 60 °C.	56
Figura 5.7 Espectro de absorbância UV-vis de amostras de óleo de quiabo aditivado com TBHQ e submetidas a aquecimento em estufa de ar a 60 °C. ...	57
Figura 5.8 Espectro de infravermelho para o óleo das sementes de quiabo... 59	59

Figura 5.9 Espectro de infravermelho das amostras de óleo de quiabo (sem TBHQ) antes e após envelhecimento em estufa. Em destaque a expansão da região entre 2970-3040 cm^{-1}	61
Figura 5.10 Espectro de infravermelho das amostras de óleo de quiabo (com TBHQ) antes e após envelhecimento em estufa.	61
Figura 5.11 Espectro de RMN ^1H do óleo de quiabo, usando TMS como padrão interno e CDCl_3 como solvente.	64
Figura 5.12 Espectro de RMN ^{13}C do óleo de quiabo usando a técnica APT e CDCl_3 como solvente.	65
Figura 5.13 Espectro de RMN ^{13}C do óleo de quiabo (região 20-35 ppm).	66
Figura 5.14 Espectro de RMN ^{13}C do óleo de quiabo (região 60-175 ppm)	67
Figura 5.15 Curvas de TGA/DrTGA do óleo quiabo em atmosfera de oxigênio e taxa de aquecimento de 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$	68
Figura 5.16 Curvas de TGA de amostras do óleo quiabo sem TBHQ em atmosfera de oxigênio e taxa de aquecimento de 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$	69
Figura 5.17 Curva de DTA do óleo de quiabo em atmosfera de oxigênio e taxa de aquecimento de 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$	69
Figura 5.18 Curvas de TGA de amostras do óleo quiabo com TBHQ em atmosfera de oxigênio e taxa de aquecimento de 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$	70
Figura 5.19 Gráfico comparativo do índice de peróxido das amostras de óleo de quiabo sem e com TBHQ envelhecidas em estufa.....	71
Figura 5.20 Gráfico comparativo da condutividade <i>versus</i> período de indução do óleo de quiabo sem antioxidante antes do teste em estufa.....	72
Figura 5.21 Gráfico comparativo do período de indução <i>versus</i> índice de peróxido das amostras de óleo de quiabo envelhecidas em estufa.	73
Figura 5.22 Correlação do período de indução com índice de peróxido das amostras de óleo de quiabo envelhecidas em estufa. (A) Ajuste linear; (B) Ajuste polinomial.....	73
Figura 5.23 Curvas PDSC dinâmicas do óleo de quiabo sem TBHQ antes e após o décimo dia de aquecimento a 60 $^\circ\text{C}$. Em destaque, as temperaturas de oxidação.	75
Figura 5.24 Curvas PDSC dinâmicas do óleo de quiabo com TBHQ antes e após o décimo dia de aquecimento a 60 $^\circ\text{C}$. Em destaque, as temperaturas de oxidação.	75
Figura 5.25 Curvas PDSC isotérmicas comparando a estabilidade oxidativa do óleo de quiabo antes e após o teste de estufa.	76
Figura 5.26 Curvas PDSC isotérmicas comparando a estabilidade oxidativa do óleo de quiabo com os óleos comestíveis de soja, girassol e milho.....	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 Ácidos graxos de alguns óleos comestíveis e óleo de quiabo.	23
Tabela 3.2 Parâmetros físico-químicos para alguns óleos comestíveis.....	24
Tabela 5.1 Composição química do óleo de quiabo.	50
Tabela 5.2 Propriedades físico-químicas do óleo de quiabo antes do teste de estufa.....	52
Tabela 5.3 Propriedades físico-químicas dos óleos envelhecidos em estufa a 60 °C.	53
Tabela 5.4 Valores de absorvidade específica para as amostras envelhecidas em estufa.....	58
Tabela 5.5 Posições espectrais e atribuições das bandas investigadas do óleo das sementes de quiabo	60
Tabela 5.6 Valores de período de indução para as amostras de óleo de quiabo submetidas ao teste em estufa.....	72
Tabela 5.7 Valores de tempo de indução oxidativa e temperatura de oxidação para as amostras de óleo de quiabo submetidas ao teste em estufa.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIOVE – Associação Brasileira de Indústrias de Óleos Vegetais
ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
AGL – Ácidos Graxos Livres
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOCS – American Oil Chemists' Society
APT – Attached Proton Test
ASTM – American Society for Testing and Materials
CDCl₃ – Clorofórmio Deuterado
CEN – Comité Européen de Normalisation
CG/EM – Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa
DTA – Análise Térmica Diferencial
E – Absortividade Específica
IA – Índice de Acidez
II – Índice de Iodo
IP – Índice de Peróxido
IV – Espectroscopia na Região do Infravermelho
OIT – Tempo de Indução Oxidativa
OQ – Óleo de Quiabo
OQT – Óleo de Quiabo com Antioxidante
OT – Temperatura de Oxidação
PDSC – Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada
PI – Período de Indução
RMN ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
TAG – Triacilglicerídeos
TBHQ – *terc*-butil-hidroquinona
TGA – Análise Termogravimétrica
TMS – Trimetilsilano
T_{onset} – Temperatura *onset* de decomposição
USDA – United States Department of Agriculture
USP – United States Pharmacopeia
UV-*vis* – Espectroscopia na Região do Ultravioleta-*visível*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVO GERAL	17
2.1 Objetivos Específicos	17
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1 Óleos Vegetais e Gorduras: uma Visão Geral	18
3.2 Produção e Consumo de Óleos Vegetais	20
3.3 Óleo de Quiabo	21
3.4 Análise de Óleos Vegetais	24
3.4.1 Propriedades físico-químicas	24
3.5 Estabilidade Térmica e Oxidativa de Óleos Vegetais	28
3.5.1 Estabilidade térmica	28
3.5.2 Estabilidade oxidativa.....	29
3.6 Processo Hidrolítico	29
3.7 Processo Oxidativo	29
3.8 Foto-oxidação	30
3.9 Auto-oxidação	31
3.10 Antioxidantes Usados em Óleos Vegetais	32
3.11 Métodos de Determinação da Estabilidade Térmica e Oxidativa	34
4 METODOLOGIA	39
4.1 Obtenção do Óleo de Quiabo	39
4.2 Envelhecimento do Óleo de Quiabo	40
4.3 Parâmetros Físico-Químicos do Óleo de Quiabo	41
4.3.1 Aspecto	41
4.3.2 Teor de umidade das sementes e do óleo	41
4.3.3 Massa específica.....	41
4.3.4 Índice de refração.....	41
4.3.5 Índice de iodo	42
4.3.6 Índice de saponificação	42
4.3.7 Índice de acidez.....	43
4.3.8 Índice de peróxido	43
4.3.9 Viscosidade cinemática a 40 °C	44

4.4 Composição Química do Óleo de Quiabo	45
4.4.1 Cromatografia gasosa	45
4.4.2 Espectroscopia na região do infravermelho	45
4.4.3 Espectroscopia na região do ultravioleta- <i>visível</i>	46
4.4.4 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C	46
4.5 Análise Termogravimétrica	46
4.6 Métodos Acelerados de Avaliação da Estabilidade Oxidativa	46
4.6.1 Calorimetria diferencial de varredura pressurizada	46
4.6.2 Método Rancimat	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 Umidade das Sementes e Extração do Óleo de Quiabo	48
5.2 Aspecto	48
5.3 Composição Química do Óleo de Quiabo	49
5.4 Caracterização Físico-Química do Óleo de Quiabo	51
5.4.1 Propriedades físico-químicas do óleo de quiabo antes teste de estufa... 51	
5.4.2 Propriedades físico-químicas do óleo de quiabo após teste de estufa.... 53	
5.5 Caracterização Espectroscópica do Óleo de Quiabo	56
5.5.1 Espectroscopia na região do ultravioleta- <i>visível</i>	56
5.5.2 Espectroscopia na região do infravermelho	59
5.5.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear ^1H e ^{13}C	63
5.6 Estabilidade Térmica por Análise Termogravimétrica	67
5.7 Estabilidade Oxidativa por Métodos Convencionais e Acelerados	70
5.7.1 Índice de peróxido	70
5.7.2 Método Rancimat	71
5.7.3 Calorimetria diferencial de varredura pressurizada	74
6 CONCLUSÃO	79
7 REFERÊNCIAS	81



Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1 Introdução

Os óleos vegetais são extraídos de diferentes plantas oleaginosas e utilizados principalmente como fonte de alimento e na produção de cosméticos, lubrificantes, tintas, fármacos e biodiesel, entre outros.

A alimentação ainda determina a maior parte da demanda por óleos vegetais no Brasil. Entretanto, o uso como matéria-prima para biodiesel aumentou na última década, tornando necessária a avaliação de fontes oleaginosas alternativas para suprir esta procura.

O quiabeiro, *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, é uma potencial fonte oleaginosa não-convencional com ciclo de produtividade rápido e custo de produção viável¹. Como fonte de alimento é uma hortaliça muito popular e apreciada na culinária brasileira. As sementes do fruto, o quiabo, fornecem proteínas e o teor de óleo é equiparado a oleaginosas como soja e algodão.

Um fator crítico inerente aos óleos vegetais é a sua auto-oxidação. Na indústria de óleos, a auto-oxidação é um problema porque afeta a qualidade sensorial e nutricional do óleo, além de aumentar a sua toxicidade devido à formação de produtos de oxidação. Esta qualidade está estritamente relacionada com os aspectos econômico, nutricional e de saúde².

No que se refere aos óleos comestíveis, parâmetros físico-químicos são estabelecidos para garantir a qualidade dos mesmos³. Com a finalidade de estabelecer valores comparativos, o óleo de quiabo foi analisado com relação à massa específica, índice de iodo, índice de peróxido, índice de saponificação, índice de acidez, índice de refração e viscosidade cinemática.

Vários métodos têm sido usados para avaliar a extensão da deterioração oxidativa, que está relacionada à quantidade de produtos de oxidação primários ou secundários. A fim de contribuir com dados de estabilidade térmica e oxidativa, o óleo das sementes de quiabo foi estudado utilizando métodos convencionais e acelerados de oxidação como Rancimat e Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada.

OBJETIVOS

2 Objetivo Geral

Avaliar a estabilidade térmica e oxidativa do óleo das sementes de quiabo (*Abelmoschus esculentus*) submetido ao envelhecimento em estufa por meio de procedimentos e técnicas analíticas.

2.1 Objetivos Específicos

- Realizar processo de obtenção do óleo das sementes de quiabo através de extração química com hexano;
- definir a composição de ácidos graxos do óleo de quiabo por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG/EM);
- determinar parâmetros físico-químicos do óleo bruto, tais como: teor de água, massa específica, índice de refração, viscosidade, índice de acidez, índice de iodo, índice de peróxido e índice de saponificação;
- estabelecer o perfil dos espectros de Infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ^{13}C) do óleo de quiabo;
- submeter amostras do óleo de quiabo com e sem antioxidante ao envelhecimento em estufa (teste de Schaal) na temperatura de 60 °C, durante 10 dias;
- investigar as alterações ocorridas no óleo de quiabo submetido ao teste de estufa por técnicas analíticas e espectroscópicas de Infravermelho e Ultravioleta-*visível* (UV-*vis*);
- avaliar o perfil da estabilidade térmica e oxidativa das amostras do óleo de quiabo por Análise Termogravimétrica (do inglês, TGA), Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada (do inglês, PDSC) e Rancimat.

**FUNDAMENTAÇÃO
TEÓRICA**

3 Fundamentação Teórica

3.1 Óleos Vegetais e Gorduras: uma Visão Geral

Óleos e gorduras são reconhecidos como um nutriente essencial para a dieta animal, constituindo a fonte mais concentrada de energia do gênero alimentício. Os lipídios, biomoléculas que possuem elevada solubilidade em solventes orgânicos e baixa solubilidade em água, são suplementos essenciais de ácidos graxos, precursores de hormônios importantes como as prostaglandinas. Os ácidos graxos são considerados os blocos construtores dos lipídios e constituem cerca de 90 % das gorduras nos alimentos⁴.

Entre os lipídios destacam-se os triacilglicerídeos (TAG), que possuem longas cadeias carbônicas ligadas a moléculas de glicerina, Figura 3.1. A hidrólise ácida dos triacilglicerídeos forma os ácidos graxos correspondentes e o álcool original, o glicerol⁵.

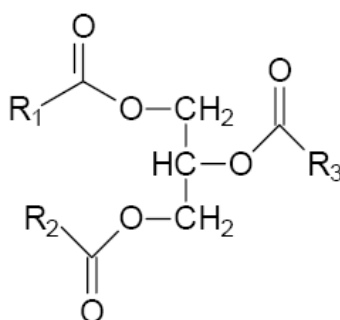


Figura 3.1 Molécula de um triacilglicerídeo (R1, R2, R3 = são unidades de ácidos graxos, podendo ser iguais ou diferentes).

Ácidos graxos saturados são cadeias de hidrocarbonetos com ligações simples entre cada átomo de carbono e tendem a elevar os níveis de LDL (colesterol de baixa densidade de lipoproteínas) no sangue. Os ácidos graxos insaturados, caracterizados por uma (mono-) ou mais (poli-) ligações duplas na cadeia carbônica, são encontrados principalmente nas plantas e em alimentos marinhos. *Cis* e *trans* são termos referentes ao arranjo das cadeias de carbono em relação à ligação dupla. Na configuração *cis* as cadeias se encontram no

mesmo lado da ligação dupla, resultando numa geometria dobrada e no arranjo *trans* as cadeias estão em lados opostos da dupla ligação, tornando a cadeia mais estendida⁶.

Os óleos vegetais apresentam os triacilglicerídeos como constituintes principais (> 95 %) e pequenas quantidades de mono- e diacilglicerídeos na sua composição. Os triacilglicerídeos são compostos predominantemente por ácidos graxos presentes na forma de ésteres de glicerol⁷.

Óleos vegetais como soja, girassol, oliva, arroz e gergelim possuem baixo teor de triacilglicerídeos saturados e as ligações duplas dos ácidos insaturados apresentam configuração *cis*⁸.

Os óleos de sementes vegetais podem ser obtidos por processos de prensagem (mecânico), extração por solvente (químico) ou pela combinação de ambos, prensagem-extração por solvente. A escolha do processo de extração depende das quantidades de óleo presente nas sementes e residual na torta, do grau admissível de desnaturação das proteínas, do capital de investimento disponível para o processo extrativo e das restrições impostas por leis ambientais relativas à emissão de poluentes orgânicos⁹.

A maioria das sementes oleaginosas requer algum tipo de limpeza e preparação antes da extração. A presença de material estranho reduz os rendimentos de óleo e de proteína, compromete a qualidade do óleo e aumenta o desgaste dos equipamentos, podendo danificá-los. Além disso, o processo de trituração das sementes facilita a obtenção de óleo pelo rompimento do tecido e das paredes das células e pelo aumento da área superficial¹⁰.

Após o processamento os óleos brutos obtidos contêm quantidades variáveis de outras substâncias tais como ácidos graxos, mono- e diglicerídeos, fosfatídios, esteróis, tocoferóis, hidrocarbonetos, clorofila, caroteno, além de traços de pesticidas ou de metais e materiais resinosos ou mucilaginosos. A quantidade destes componentes varia com o tipo, origem geográfica e sazonalidade da fonte oleaginosa e do processo extrativo do óleo. Sua presença interfere no processo de refino, além de causar escurecimento no óleo e desenvolvimento de sabor e odor (rancidez). O objetivo do refinamento é a remoção das substâncias indesejáveis presentes no óleo, reduzindo ao mínimo a alteração dos triglicerídeos e a perda dos constituintes do óleo¹¹.

3.2 Produção e Consumo de Óleos Vegetais

Na última safra (2010/11) foram produzidas 7,74 milhões de toneladas de óleos vegetais no Brasil, representando 5,3 % da produção mundial, Figura 3.2. O volume produzido vem se elevando ao longo dos anos, liderado pela soja, cuja produção atingiu 6,91 milhões de toneladas em 2010/11 ou 89,3 % da produção total^{12,13}.

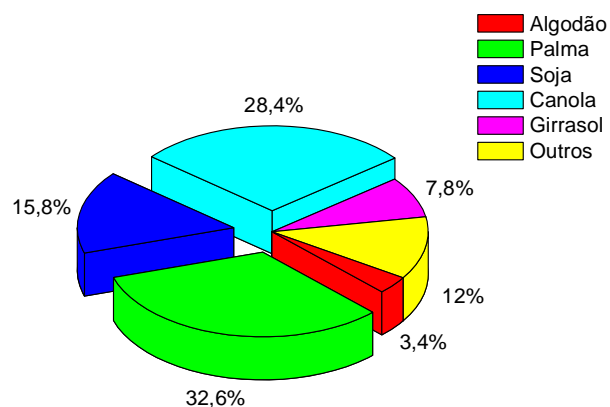


Figura 3.2 Produção mundial de óleos vegetais 2010/11. Fonte: Elaborado com base nos dados USDA^{12,13}.

No ano de 2010 o consumo brasileiro de óleos vegetais foi de aproximadamente 6,5 milhões de toneladas, o que representa 4,5 % do consumo mundial, Figura 3.3. O óleo de soja foi o mais consumido no Brasil, num total de 5,2 milhões de toneladas em 2010/11 ou 80,6 % do consumo total^{12,13}.

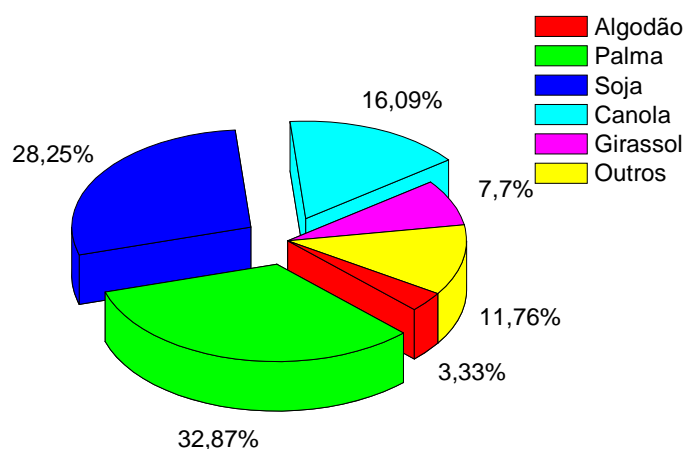


Figura 3.3 Consumo mundial de óleos vegetais 2010/11. Fonte: Elaborado com base nos dados USDA^{12,13}.

A maior parte da produção brasileira de óleos vegetais ainda é destinada para uso alimentar. Segundo a Associação Brasileira de Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE), o processamento da soja, refino e armazenamento do óleo vem aumentando. Quase um terço do consumo total do óleo de soja é destinado para a produção de biodiesel, indústria em ascensão no país. A soja contribui com 75-80 % da matéria-prima para a produção de biodiesel, seguida por gorduras de origem animal (12-15 %) e óleo de algodão (3-5 %), com o restante incluindo outras culturas^{14,15}.

A demanda por biodiesel ocorreu devido à Lei 11.097/2005 que estabeleceu a adição de biodiesel ao diesel. Atualmente o percentual mínimo obrigatório é de 5 % podendo ser aumentado nos próximos anos.

3.3 Óleo de Quiabo

O quiabeiro, planta da espécie *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, é uma hortaliça cultivada em várias regiões do Brasil com uma produtividade de 15 a 22 toneladas por hectare, em ciclo de 70 a 80 dias^{16,17}.

A Figura 3.4 mostra imagens de um quiabeiro com botão de flor e vagem imatura, frutos e sementes secas.

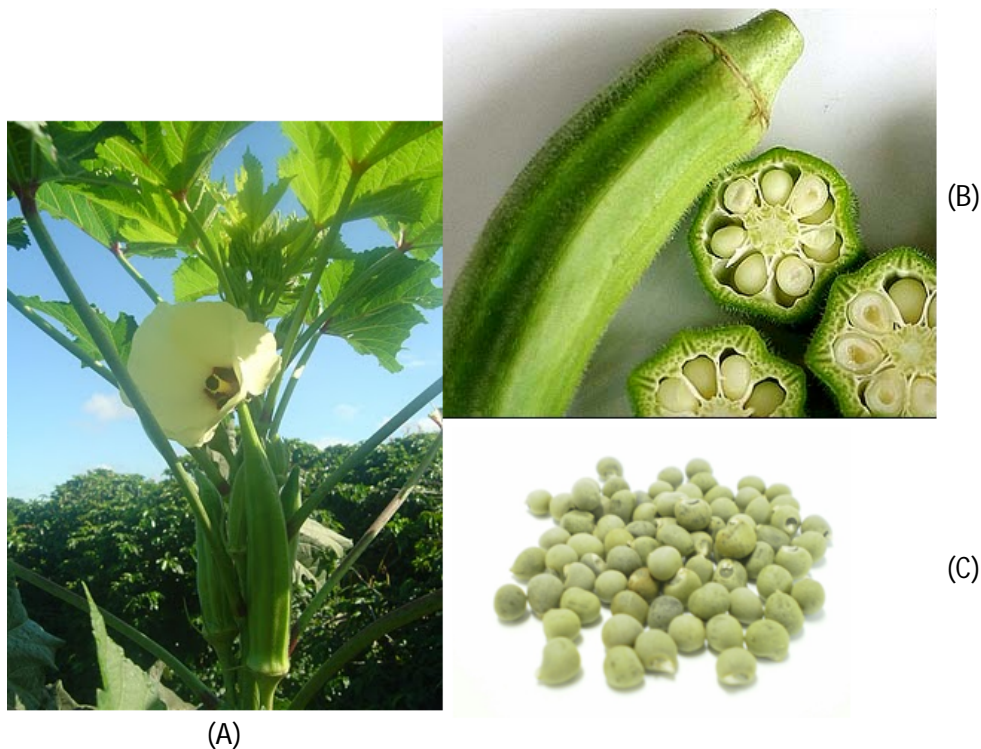


Figura 3.4 Fotos mostrando quiabeiro (A), frutos (B) e sementes secas (C).

A espécie *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench pertence à família Malvaceae e apresenta como sinônimas botânicas *Hibiscus esculentus* L. e *Hibiscus longifolius* Roxb., em razão da classificação taxonômica anterior que incluía o quiabeiro como pertencente ao gênero *Hibiscus*, atualmente *Abelmoschus*¹⁸.

O quiabo, fruto do quiabeiro, é uma cápsula de consistência viscosa cheia de sementes brancas e redondas, que apresenta alto valor alimentício e nutritivo com aproveitamento completo como uma fonte de fibras, cálcio, sais minerais e vitaminas^{19,20}.

As sementes representam 17 % do fruto e são constituídas de óleos (podendo chegar até 40 %) e de proteínas (>15 %), apresentando uma duração germinativa média de 5 anos^{21,22}. Além disso, contêm compostos polifenólicos, principalmente catequinas oligoméricas e derivados de flavonóides²³. Exemplos de compostos polifenólicos encontrados nas sementes de quiabo estão representados na Figura 3.5.

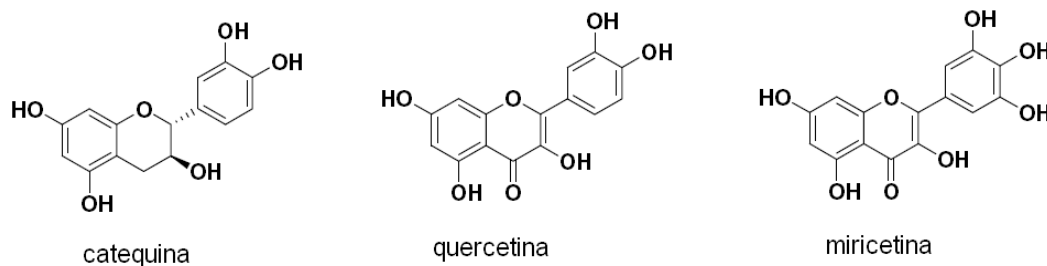


Figura 3.5 Estruturas químicas de compostos polifenólicos encontrados nas sementes de quiabo.

O teor em óleo nas sementes em algumas variedades de quiabo é equiparado a oleaginosas como soja, amendoim, gergelim e outras. Estudos realizados com seis espécies do gênero *Abelmoschus* mostraram variação entre 2,51 a 23,2 %, sendo a espécie *A. tuberculatus* a mais produtiva¹.

A composição química dos óleos vegetais com relação aos teores de ácidos graxos presentes no TAG é uma informação muito importante para determinar o uso destes óleos. Por exemplo, o óleo de girassol vem sendo indicado em dietas para redução de colesterol, por apresentar baixa quantidade de ácidos graxos saturados. No óleo de quiabo foi encontrado maior percentual

de ácidos graxos insaturados, principalmente ácido linoléico. Este ácido, após separação dos demais ácidos, pode ser utilizado para produzir corantes, plásticos e resinas. O ácido palmítico, usado como matéria-prima para sabonetes, ésteres e plastificantes também é encontrado em quantidade significativa no óleo. Comparativamente a outros óleos, o óleo de quiabo possui similaridade com o óleo de algodão, no que diz respeito ao conteúdo de ácidos graxos, Tabela 3.1²⁴.

Tabela 3.1 Ácidos graxos de alguns óleos comestíveis²⁵ e óleo de quiabo^{26,27}.

Ácidos graxos	Concentração (%)				
	Algodão	Soja	Milho	Girassol	Quiabo
Palmítico (C16:0)	17,0-31,0	7,0-14	9,0-14,0	3,0-10	29,5-32,5
Oléico (C18:1)	13,0-44	19,0-30	24,0-42,0	14,0-35,0	16,1-30,1
Linoléico (C18:2)	33,0-59,0	44,0-62,0	34,0-62,0	55,0-75,0	29,9-47,4
Linolênico (C18:3)	---	8	1	---	0,38-1,2

Estudos realizados avaliaram a composição de ácidos graxos presentes no óleo das sementes de quiabo do gênero *Hibiscus* em espécies nativas e em variedades híbridas. Nos perfis de ácidos graxos foram detectados os ácidos linoléico e oléico (69,6 a 83,4 %), ácido palmítico (14,8 a 27,0 %) e outros ácidos saturados em pequenas quantidades. Em relação ao conteúdo de óleo das sementes foi determinado o valor de 11,8 a 22,1 % para as variedades híbridas e 8,9 a 29,5 % para as espécies nativas²⁷. Os dados referentes aos teores de ácidos graxos estão de acordo com os encontrados para outras espécies do gênero *Abelmoschus*, cuja variação foi de 23,6 a 50,6 % de ácido linoléico e de 10,3 a 36,3 % para o ácido palmítico¹.

O quiabo é uma potencial fonte oleaginosa não-convencional para produção de biodiesel por apresentar peculiaridades importantes como teor significativo de óleo nas sementes e ser uma cultura econômica, com ciclo de produtividade rápido e custo de produção viável¹. De acordo com dados referenciados na literatura²⁸, o Brasil encontra-se entre os cinco maiores produtores mundiais de quiabo, sendo o Estado do Rio de Janeiro o principal produtor.

A literatura relata que o biodiesel derivado do óleo das sementes de quiabo via rota metílica foi avaliado com o objetivo de estabelecer suas propriedades de combustível. Parâmetros importantes como ponto de fulgor, número de cetano, viscosidade cinemática, estabilidade oxidativa, lubricidade, propriedades de fluxo a frio, conteúdo de enxofre e acidez foram comparados aos da ASTM D 6751 e EN 14214, quando aplicável. Concluiu-se que o óleo das sementes de quiabo é uma matéria-prima aceitável para a produção de biodiesel²⁹.

Embora o óleo das sementes de quiabo seja comestível e a torta residual após a extração do óleo significativamente rica em proteínas, as sementes não são processadas para obter óleo e/ou proteína, sendo produzidas exclusivamente para fins de cultivo³⁰. Os dados mencionados anteriormente estão relacionados com as sementes de quiabo nigerianas e seus usos. No Brasil não existe relato do uso do óleo de quiabo processado para fins alimentícios e/ou matéria-prima para biodiesel. Entretanto, o fruto é muito utilizado na culinária, especialmente na região de Minas Gerais.

3.4 Análise de Óleos Vegetais

3.4.1 Propriedades físico-químicas

Algumas das características físico-químicas importantes de alguns óleos comuns são apresentadas na Tabela 3.2^{3,31,32}.

Tabela 3.2 Parâmetros físico-químicos para alguns óleos comestíveis.

Parâmetros	Óleos			
	Algodão	Soja	Milho	Girassol
Massa específica a 25 °C (g.cm ⁻³)	0,915–0,923	0,916–0,922	0,917–0,925	0,915–0,920
Índice de refração a 40 °C	1,458–1,466	1,465–1,475	1,465–1,473	1,467–1,469
Índice de lodo (g I ₂ .100g ⁻¹)	99–119	120–143	103–135	110–143
Índice de saponificação (mg KOH.g ⁻¹)	189–198	180–200	187–195	188–194
Matéria insaponificável (%)	<1,5	<1,5	<3,0	<1,5
Índice de acidez (mg KOH.g ⁻¹)	<2,0	<2,0	<6,0	<2,0
Índice de peróxido (meq.kg ⁻¹)	<10,0	<10,0	<10,0	<10,0

O índice de refração é uma propriedade física útil na caracterização e identificação de líquidos, ou para indicar a sua pureza. É definido como sendo a razão entre a velocidade da luz no vácuo e na substância analisada (índice de refração absoluto: $\eta = c/v$)³³. Este é um dos parâmetros que devem ser seguidos para a fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais, segundo Resolução nº 482 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)³.

Os valores de referência para óleos vegetais variam conforme a matriz oleaginosa, Tabela 3.2. Estudos com amostras de óleo de oliva e de coco demonstraram maior valor para o índice de refração do óleo de oliva em medidas realizadas em diferentes comprimentos de onda³⁴.

O índice de iodo é a quantidade em gramas de iodo absorvido por 100 g de óleo ou gordura, quando usada a solução de Wijs (cloreto de iodo). O teste é uma medida do teor de insaturação do óleo, pois o iodo adiciona quantitativamente às ligações duplas não conjugadas e quando o óleo está oxidado, pode ocorrer alguma reação de adição. Os valores de iodo devem ser interpretados com cautela, mas pode ser usado para monitorar o grau de hidrogenação e verificar adulteração por outros tipos de óleos^{7,35}.

Os halogênios adicionam na ligação dupla dos ácidos graxos insaturados para formar produtos de adição. Na ausência da luz o monocloreto de iodo (ICl) reage com o óleo. A quantidade de iodo consumido é então determinada pela titulação do iodo liberado (após adição de KI) com padrão tiosulfato de sódio e comparado com branco (isento de óleo)³⁶. A Figura 3.6 mostra o esquema reacional do teste de iodo³⁷.

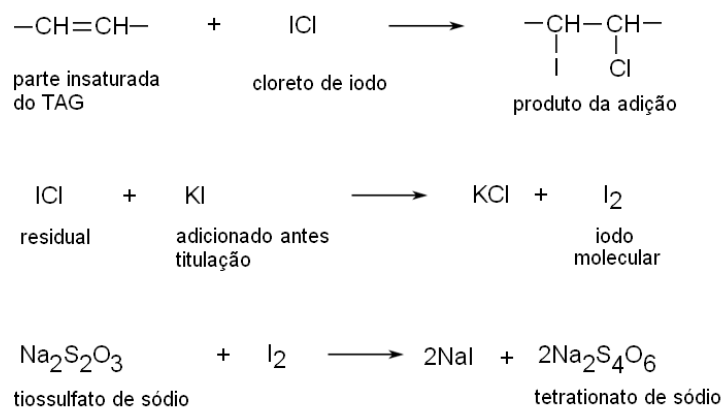


Figura 3.6 Esquema reacional do teste de iodo.

O índice de saponificação de um óleo/gordura é útil para determinar sua adulteração, sendo expresso em mg de KOH por grama de óleo. Este método é aplicável a todos os óleos/gorduras e expressa a massa molecular média dos ácidos graxos. O índice é obtido com base na reação de hidrólise alcalina (saponificação), Figura 3.7. A hidrólise é limitada aos TAG, ceras e fosfatídios. Os esteróis, hidrocarbonetos, pigmentos e outros, apesar de serem lipídios não reagem com hidróxido de potássio e contribuem para matéria insaponificável.

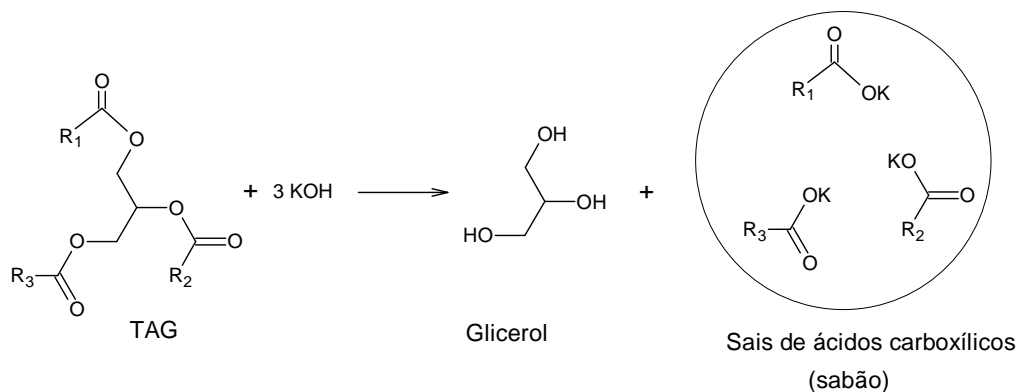


Figura 3.7 Esquema reacional da saponificação de triacilglicerídeos.

O óleo de uma determinada fonte tem um valor de saponificação característico e qualquer desvio encontrado no teste é um indicativo de adulteração. Alguns exemplos de óleos comestíveis com índices de saponificação (mg KOH.g⁻¹) são óleo de canola (189); óleo de algodão (196); óleo de palma (198); óleo de soja (192); óleo de coco (248) e óleo de milho (190)⁷.

O índice de acidez é utilizado para determinar os ácidos graxos livres (AGL) presentes em óleos e gorduras, o qual é um indicativo da deterioração dos triacilglicerídeos (TAG). Com estocagem prolongada os TAG sofrem hidrólise e formam AGL. Esta hidrólise é ocasionada pela presença de umidade no óleo, temperatura elevada e o mais importante, lipases oriundas da fonte ou de contaminações por microorganismos. O resultado da reação de hidrólise é uma mistura de TAG, diglicerídeos, monoglicerídeos, AGL e glicerol.

Alguns óleos/gorduras são reativamente estáveis mas outros, como o óleo de farelo de arroz, são mais susceptíveis à hidrólise. Qualquer que seja o óleo, a presença de AGL é um indicador para o estado natural do óleo.

A presença de AGL em excesso é indesejável principalmente por causar alteração nas características organolépticas (escurecimento, aparecimento de odor e sabor desagradáveis, entre outras) do óleo.

A acidez é geralmente expressa como índice de acidez ou conteúdo de AGL. O índice de acidez é definido como a quantidade em miligramas de KOH necessários para neutralizar os ácidos graxos livres presentes em um grama de óleo. O conteúdo de AGL é definido como a porcentagem em massa desses ácidos. Quando assumidos como ácido oléico, a massa molecular relativa é de 282 e o resultado é expresso como % em massa de ácido oléico.

O índice de peróxido é um indicador dos estágios iniciais de deterioração oxidativa de óleos e gorduras, sendo expresso em miliequivalente de peróxido por quilograma de amostra. Os procedimentos analíticos para avaliar o índice de peróxido são empíricos e a precisão depende das condições experimentais.

Os peróxidos (ROOH) podem ser medidos por métodos titulométricos baseados no seu potencial de oxidação para oxidar o iodeto (I^-) a iodo (I_2), o qual é titulado com solução padrão de tiosulfato. Os métodos para determinação do índice de peróxido são baseados na medida do iodo liberado a partir do excesso de KI, Figura 3.8.

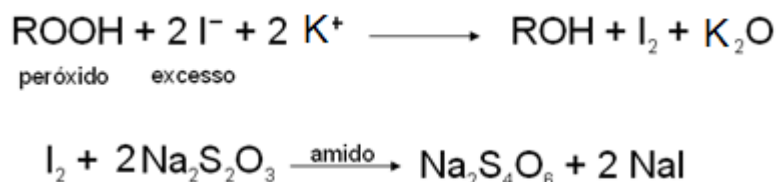


Figura 3.8 Esquema reacional do teste de peróxido.

As duas principais fontes de erros dos métodos da titulação iodométrica são absorção do iodo nas ligações insaturadas e liberação do iodo a partir do iodeto de potássio pelo oxigênio presente na solução a ser titulada. Uma alternativa para determinar o índice de peróxido são os métodos colorimétricos baseados no potencial de oxidação dos peróxidos para oxidar ferro (II) a ferro (III), o qual reage com tiocianato formando complexo colorido³⁸.

A viscosidade é a propriedade física que caracteriza a resistência de um fluido ao escoamento, a uma dada temperatura. No armazenamento de um

óleo a tensão de cisalhamento não tem muito efeito na viscosidade, mas esta é afetada pela temperatura³⁹.

Óleos são misturas de TAG, sendo a viscosidade dependente da natureza dos TAG presentes no óleo. A viscosidade pode mudar devido aos diferentes arranjos dos ácidos graxos na molécula de glicerol. Portanto, a viscosidade está relacionada às propriedades químicas dos óleos tais como comprimento da cadeia e grau de saturação/insaturação. Por exemplo, o óleo de palma apresenta maior viscosidade que os óleos de soja, girassol e canola. Um recurso para obter um óleo com viscosidade adequada é misturá-lo com outros óleos, permitindo que este permaneça sem aditivos para correção da viscosidade³⁹.

A literatura relata que óleos vegetais apresentando composição variada de ácidos graxos mostraram valores de viscosidade característicos. Dentre as amostras analisadas, o maior valor de viscosidade foi do óleo de avelã, seguido dos óleos de oliva, canola, milho, soja, girassol e sementes de uva. O comportamento de fluxo dos óleos vegetais foi governado por seus componentes majoritários (C18:1 e C18:2). Óleos com mais ligações duplas mostraram mudanças mais rápidas na viscosidade com a temperatura⁴⁰.

Para ilustrar este comportamento, estudos correlacionando viscosidade do azeite de oliva virgem de quatro cultivares em função da composição do TAG mostraram pouca diferença nos valores de viscosidade. O uso do modelo de Arrhenius para descrever o efeito da temperatura na viscosidade mostrou que a energia de ativação foi correlacionada com a trioleína, principal componente no óleo de oliva⁴¹.

3.5 Estabilidade Térmica e Oxidativa de Óleos Vegetais

3.5.1 Estabilidade térmica

A estabilidade térmica de óleos vegetais é um fator determinante na sua qualidade e depende da estrutura química, sendo mais estáveis os óleos que apresentam uma composição maior de ácidos graxos saturados.

3.5.2 Estabilidade oxidativa

Estudos sobre auto-oxidação e estabilidade oxidativa de alimentos e ingredientes alimentares como lipídios, óleos vegetais comestíveis e gorduras são de grande interesse devido a sua importância econômica, nutricional e relativa à saúde^{2,42}.

Os óleos são susceptíveis à oxidação, devido a determinadas características químicas dos ácidos graxos que compõem o TAG. A presença de insaturações na cadeia hidrocarbônica diminui a energia necessária para a cisão homolítica das ligações C-H na posição alílica, viabilizando a oxidação. Nos ácidos graxos saturados, este processo ocorre em menor extensão, pois a formação de radicais livres é energeticamente desfavorável. A reatividade do oxigênio com TAG é proporcional ao aumento do número de insaturações na cadeia, portanto depende do tipo de oleaginosa⁵.

A oxidação de óleos é chamada de auto-oxidação ou rancificação oxidativa, podendo ocorrer por meio de processos hidrolíticos ou oxidativos. Os fatores mais importantes que afetam ou catalisam esses processos são a presença de insaturação nos ácidos graxos, luz, temperatura, enzimas, metaloproteínas, microrganismos e condições de armazenamento^{8,10,11}.

3.6 Processo Hidrolítico

A rancificação hidrolítica pode ocorrer por meio enzimático, pela ação da lipase, que pode estar presente nas sementes das oleaginosas, ou pela atividade microbiana (processo de fermentação), que hidrolisa os óleos e gorduras produzindo ácidos graxos livres.

A rancificação não enzimática ocorre na presença de água, cuja ocorrência depende principalmente das condições de processamento e/ou armazenamento do óleo¹⁰.

3.7 Processo Oxidativo

Antes que ocorra a reação do ácido graxo insaturado com o oxigênio, um dos reagentes precisa ser ativado. Assim, ou a ligação dupla é convertida em um radical alílico estabilizado por ressonância, ou o oxigênio é convertido a

uma espécie mais reativa, como o oxigênio singleto. Essas duas reações ocorrem por meio de diferentes mecanismos, embora resultem em produtos semelhantes⁵.

O estado fundamental do oxigênio ($^3\text{O}_2$) é um estado tripleto com dois elétrons desemparelhados de mesmo *spin*, mas em orbitais diferentes. O oxigênio eletronicamente excitado corresponde a um estado singleto ($^1\text{O}_2$) apresentando um par de elétrons na camada eletrônica externa em um primeiro estado de excitação, ou apresentando um elétron em cada orbital com spins opostos, num segundo estado energético. A vida média deste segundo estado (10^{-11} s) é muito mais curta que a do primeiro que é 10^{-6} s, sendo assim menos estável⁴³.

A reação do oxigênio tripleto com um ácido graxo insaturado é limitada. Essa restrição deixa de existir quando o oxigênio molecular está na forma de oxigênio singleto, ou parcialmente reduzido ou ativado, como por exemplo, H_2O_2 , O_2^\bullet , HO^\bullet , complexos ferro-oxigênio. O oxigênio singleto pode ser formado por processos enzimáticos, químicos e fotoquímicos. O desencadeamento da oxidação pode ocorrer por duas vias: auto-oxidação ou foto-oxidação⁴³.

3.8 Foto-oxidação

A foto-oxidação é um processo de degradação muito mais rápido que a auto-oxidação, por envolver reações com o oxigênio em seu estado mais excitado ou singleto.

A velocidade observada para esse processo indica uma pequena diferença de reatividade entre o mono- e polienos, sugerindo que a quantidade de insaturação não é um fator predominante na velocidade da reação.

O oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$) pode ser formado a partir do tripleto ($^3\text{O}_2$) em presença de luz, que é absorvida por compostos fotossensíveis como a clorofila. Esses compostos absorvem energia de um fóton que pode ser transferido ao tripleto convertendo ao singleto.

Tanto na foto-oxidação quanto na auto-oxidação os produtos finais derivam da decomposição dos hidroperóxidos alílicos, que geram aldeídos, ácidos e outros compostos oxigenados como produtos dos processos. Entretanto, ligações duplas também podem ser orientadas a reações de

polimerização que levam aos produtos de maior massa molar e, eventualmente, a um aumento da viscosidade do óleo⁴⁴.

3.9 Auto-oxidação

A auto-oxidação de lipídios é um processo muito estudado devido a sua relevância no campo da química, biologia e alimentos. Na indústria de óleos, a auto-oxidação é um problema crítico porque afeta a qualidade sensorial e nutricional (sabor, odor, cor, perda de vitaminas, proteínas e ácidos graxos essenciais), além de aumentar a sua toxicidade devido à formação de radicais livres que geram produtos indesejáveis primários, secundários e terciários^{2,42}.

Este processo pode ser dividido em três etapas distintas: iniciação, propagação e terminação, Figura 3.9. A velocidade do processo de auto-oxidação é limitada pelas fases de iniciação e propagação⁴³.

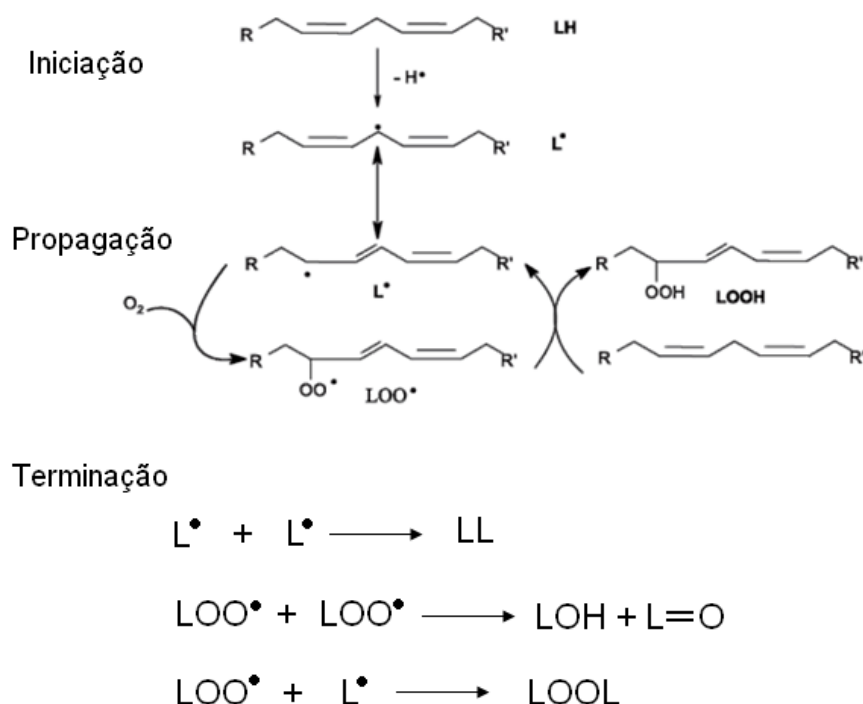


Figura 3.9 Esquema das principais reações ocorridas durante o processo de peroxidação lipídica.

A iniciação é caracterizada pela formação de radicais livres, em que os ácidos graxos poliinsaturados são atacados por uma espécie suficientemente

reativa capaz de abstrair um átomo de hidrogênio a partir de um grupo metileno ($-\text{CH}_2-$), formando um radical carbono. Este radical é estabilizado por ressonância para formar um dieno conjugado.

Na etapa de propagação o radical alquila (L^\bullet) formado na etapa de iniciação, em meio aeróbico, combina-se com o oxigênio formando o radical peroxila (LOO^\bullet), o qual pode abstrair um hidrogênio alílico de outro ácido graxo, gerando outro radical alquila (L^\bullet) e promovendo a etapa de propagação. A reação do radical peroxila (LOO^\bullet) com o átomo de hidrogênio abstraído gera um hidroperóxido lipídico (LOOH). Os peróxidos cíclicos também podem ser formados quando o radical peroxila reage com uma dupla ligação na mesma cadeia de ácido graxo, o que também pode propagar oxidação. Esse é um processo que ocorre em cadeia, e os hidroperóxidos (LOOH) formados nesta etapa constituem os produtos primários da oxidação⁴³.

A etapa de terminação é caracterizada pela combinação dos radicais originando produtos não radicalares. Os radicais peroxila e alcoxila podem sofrer clivagem ou rearranjo formando aldeídos ou produtos secundários de oxidação, respectivamente. Tais produtos são também suscetíveis à oxidação, como por exemplo, os aldeídos, transformando-se em ácidos, que por sua vez, constituem os produtos terciários de oxidação.

Os peróxidos e hidroperóxidos produzidos através da auto-oxidação podem polimerizar com outros radicais, produzindo moléculas de elevada massa molar, sedimentos insolúveis, gomas, em alguns casos, podem quebrar a cadeia de ácidos graxos oxidado, produzindo ácidos de cadeias menores e aldeídos⁴⁵.

3.10 Antioxidantes Usados em Óleos

Para aumentar a resistência à oxidação de óleos vegetais é necessário o uso de um antioxidante do tipo que provoca a quebra da cadeia, como os compostos fenólicos, ou do tipo decompositor de hidroperóxidos. Óleos vegetais geralmente contêm antioxidantes fenólicos, os tocoferóis e tocotrienóis, e o uso de quantidades adicionais destes antioxidantes pode provocar um efeito antagonista⁴⁶.

Os tocoferóis e tocotrienóis (vitamina E) estão disponíveis na natureza nos isômeros α , β , γ e δ , Figura 3.10.

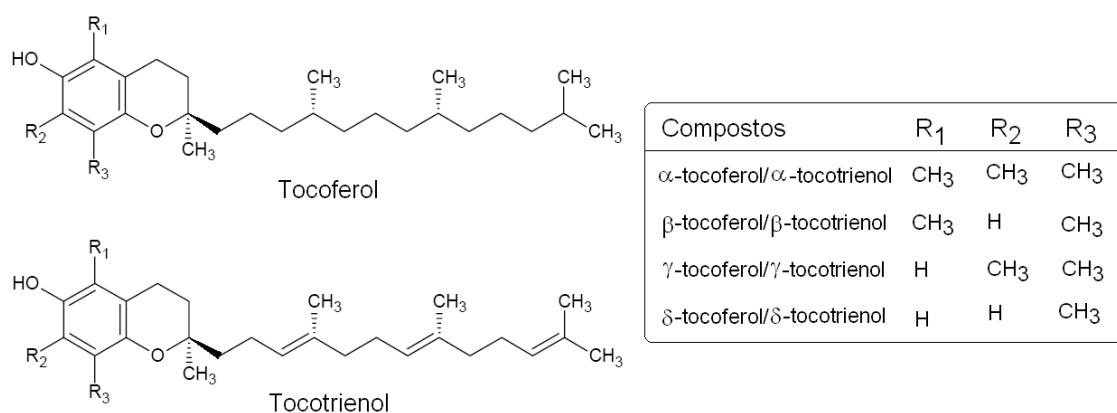


Figura 3.10 Representação esquemática das estruturas químicas dos isômeros dos antioxidantes tocoferol e tocotrienol.

A quantidade relativa de tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais depende da espécie da planta e do procedimento de extração. O óleo de palma contém quantidades significantes de tocotrienóis. As fontes de vitamina E tais como óleo de soja, milho, algodão e girassol contêm pouco ou são isentos de tocotrienóis. Os isômeros γ e δ são mais efetivos que α - e β -tocoferol nos óleos vegetais, entretanto mostram menor eficiência quando comparados com antioxidantes sintéticos^{47,48}.

Muitos antioxidantes sintéticos têm sido investigados e usados em óleos vegetais e os mais eficazes incluem *tert*-butil-hidroquinona (TBHQ), pirogallol (PG) e propilgalato (PPG). As concentrações efetivas geralmente estão na faixa de 200 a 1.000 mg.kg⁻¹, dependendo do substrato e do tipo de teste usado para avaliar a eficiência do aditivo.

O 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol (BHT) é um dos antioxidantes sintéticos menos efetivos em óleos vegetais e ésteres, embora seja efetivo para combustíveis hidrocarbônicos e lubrificantes. A diferença na estrutura química dos ésteres comparada aos hidrocarbonetos apolares tem um efeito significativo na eficiência de antioxidantes fenólicos.

As estruturas químicas dos antioxidantes sintéticos mais comuns estão representadas na Figura 3.11.

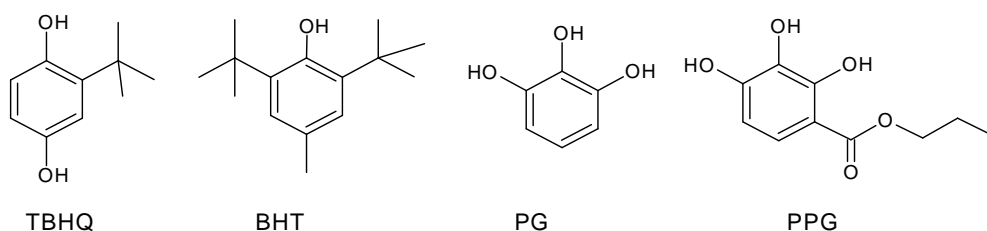


Figura 3.11 Estruturas químicas de alguns antioxidantes sintéticos utilizados em óleos vegetais.

A literatura relata trabalhos utilizando outros tipos de antioxidantes em óleos e ésteres^{49,50}. Existe potencial em alguns deles, mas efeitos adversos incluindo diminuição da estabilidade já foram observados.

3.11 Métodos de Determinação da Estabilidade Térmica e Oxidativa

A análise térmica abrange técnicas utilizadas para monitorar uma propriedade física ou química de uma substância ou de seus produtos de reação em função do tempo ou temperatura, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura, sob uma atmosfera específica.

Análise Termogravimétrica (TGA) é uma técnica analítica usada para determinar a estabilidade térmica de um material e sua fração de componentes voláteis através do monitoramento da mudança de massa que ocorre quando este é aquecido. A variação da massa é registrada em função do aumento da temperatura e sua derivada (DTG) mostra a mudança de declividade na curva original, indicativo das diferentes etapas no processo de decomposição térmica⁵¹.

Dados termogravimétricos têm sido usados para caracterizar matrizes oleosas^{52,53} com intuito de investigar estabilidade térmica^{54,55}, cinética da decomposição⁵⁶, efeitos de antioxidantes^{57,58}, adulterações em azeite de oliva com óleos comestíveis de qualidade inferior⁵⁹, entre outras aplicações. Uma informação retirada de curvas TGA apontou que óleos termicamente menos estáveis mostram uma tendência a apresentar menor estabilidade oxidativa⁶⁰.

No método diferencial a temperatura da amostra é comparada a uma amostra inerte de referência, eliminando os efeitos da taxa de aquecimento e possibilitando a captação e ampliação de sinais menores. As técnicas de Análise Térmica Diferencial (DTA) e Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada (PDSC) abrangem os processos físicos ou químicos envolvendo variação de energia.

DTA é uma técnica que mostra mudanças na amostra tais como fusão, solidificação e cristalização registradas sob a forma de picos, sendo a variação na capacidade calorífica da amostra notada como um deslocamento da linha de base. O uso principal da DTA é detectar a temperatura inicial dos processos térmicos e caracterizá-los qualitativamente como endotérmicos/exotérmicos, reversíveis/irreversíveis ou transições de primeira/segunda ordem⁵¹.

A curva PDSC registra o fluxo calor (mW/mg) em função do tempo (min) ou da temperatura (°C). Transições endotérmicas ou exotérmicas são caracterizadas como picos e sua área é proporcional à entalpia (ΔH), expressa em Joule por grama (J/g). As curvas PDSC não isotérmicas são úteis para analisar o perfil termodinâmico de uma amostra e a análise isotérmica para determinar o tempo de indução oxidativa (do inglês, OIT) a altas pressões⁵¹.

A técnica PDSC é de fundamental importância para a determinação e o acompanhamento dos processos oxidativos de óleos comestíveis⁶¹. A vantagem desta técnica é apresentar boa sensibilidade, alta repetibilidade, uso de pequena quantidade de amostra e menor tempo de análise. Além disso, pode ser aplicada a óleos de alta ou baixa estabilidade oxidativa. Aspectos detalhados sobre o uso da técnica PDSC para estudos sobre estabilidade oxidativa de óleos e gorduras foram resumidos por Litwinienko⁶² e por Tan⁶³.

Estudos focados na utilização dos dados de PDSC vêm sendo conduzidos com o intuito de obter o OIT de óleos/gorduras por análise térmica. A oxidação, processo exotérmico, é observada como um pico súbito nas curvas PDSC⁶⁴. A estabilidade termo-oxidativa dos óleos de soja, milho, oliva e girassol, muito utilizados na culinária, já foi estudada por PDSC. Os autores concluíram que através das curvas não-isotérmicas foi possível distinguir os óleos tomando com base a temperatura de oxidação (OT). A ordem de estabilidade obtida foi oliva > milho > soja > girassol⁶⁵. A auto-oxidação do óleo de canola armazenado em temperatura ambiente foi monitorada por PDSC. Os

parâmetros obtidos das curvas isotérmicas foram comparados com índice de peróxido mostrando uma correlação linear entre os dados⁶⁶.

O PDSC, juntamente com Rancimat, PetroOXY e outros, forma um conjunto de métodos acelerados que têm por finalidade estimar a vida de prateleira de óleos e gorduras, pois o acompanhamento do processo oxidativo ao longo do armazenamento é lento e pode consumir grande quantidade de reagentes⁶⁷.

O método Rancimat é baseado no aumento da condutividade elétrica da água deionizada. O fluxo de ar passa pela amostra na temperatura de 110 °C, arrastando produtos voláteis para um recipiente contendo água deionizada, onde é detectado um aumento na condutividade elétrica. Os softwares dos aparelhos Rancimat[®] fornecem uma curva de condutividade elétrica ($\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$) em função do tempo (min). As projeções de retas passando pela linha de base e pela tangente, a partir do ponto de inflexão da curva se interceptam num ponto que corresponde na escala de tempo ao período de indução (PI). A Figura 3.12 mostra o esquema de funcionamento de um equipamento Rancimat[®] e a curva típica de condutividade elétrica para determinação do período de indução⁶⁸.

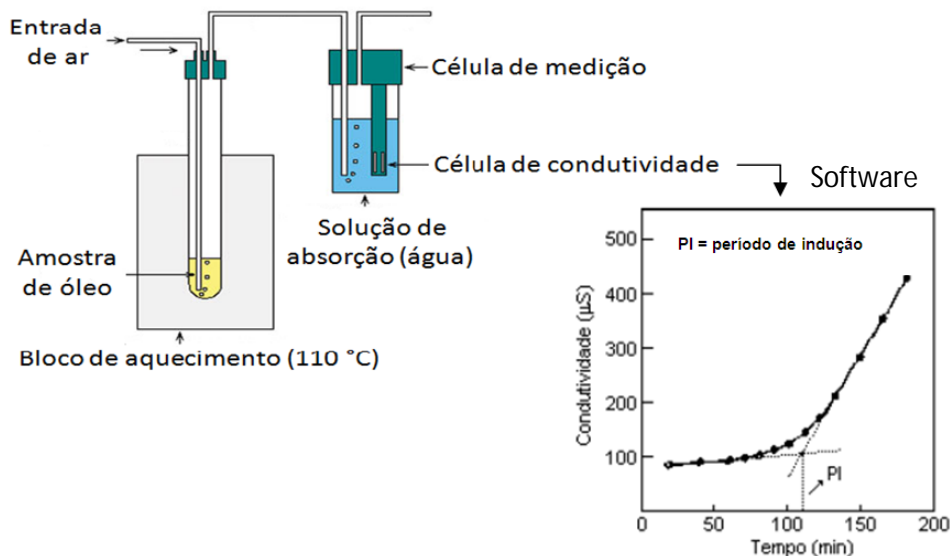


Figura 3.12 Esquema de funcionamento de um equipamento Rancimat[®] e curva típica de condutividade elétrica para determinação do período de indução. Fonte: Adaptado de Antoniassi⁶⁸.

Os compostos voláteis produzidos na oxidação de diversos óleos, responsáveis pelo aumento de condutividade elétrica da água, foram analisados por Man⁶⁹ em um equipamento automatizado (Active Oxygen Method) que detectou os ácidos fórmico, acético, capróico, propiônico, butírico e valérico. Uma variação na predominância desses produtos foi verificada dependendo do tipo da amostra analisada. No óleo de girassol, houve predominância dos ácidos fórmico e capróico, enquanto que para o óleo de canola foram o fórmico e o acético; para os óleos de oliva, trioleína; amendoim, soja, milho e sebo foram o fórmico, acético e cáprico; e para amostras de manteiga foram o fórmico, acético, capróico, butírico, valérico e propiônico.

Outro método alternativo para avaliar a estabilidade oxidativa de gorduras e óleos é através do equipamento PetroOXY⁷⁰. A sua vantagem é de apresentar boa repetibilidade nos resultados, menor tempo de análise e um instrumento pequeno comparado ao Rancimat[®]. Neste método a amostra é colocada em uma câmara hermeticamente fechada e pressurizada pela injeção de oxigênio à temperatura ambiente. Uma pressão máxima é alcançada com o aumento da temperatura e a queda de 10 % desta pressão indica o período de indução oxidativa da amostra. A Figura 3.13 mostra a comparação de matrizes com diferentes períodos de indução obtidos pelo método PetroOXY.

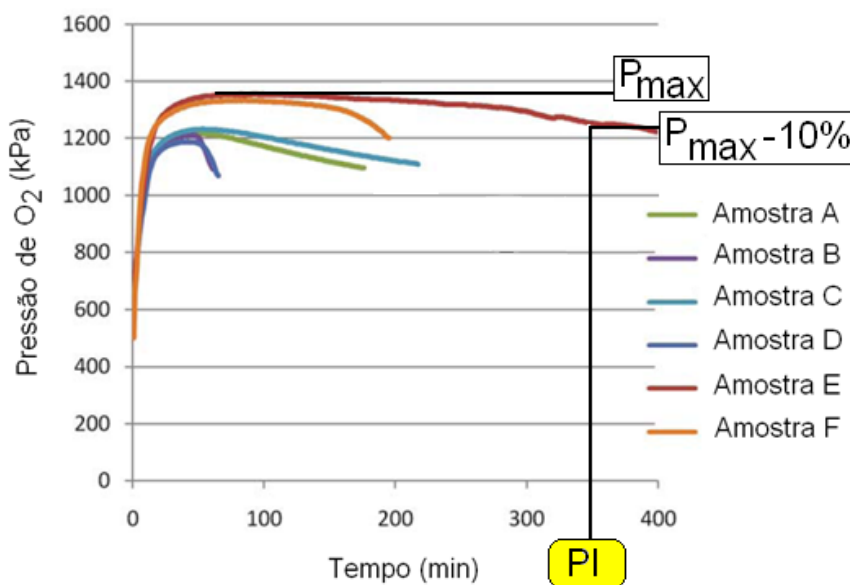


Figura 3.13 Estabilidade oxidativa de diferentes matrizes avaliada pelo método PetroOxy. Fonte: Adaptado de Petrotest⁷¹.

Encontram-se disponíveis na literatura diversas determinações do período de indução de óleos e gorduras, sob diferentes condições de temperatura, fluxo de ar e quantidade de amostra utilizada. A diversidade quanto às metodologias dificulta análises comparativas.

Os métodos acelerados também são usados para obter parâmetros cinéticos da oxidação. Os parâmetros cinéticos calculados a partir de dados obtidos pelo método Rancimat e PDSC foram qualitativamente consistentes e úteis na avaliação da estabilidade oxidativa de amostras de azeites comerciais⁷².

Os métodos acelerados determinam estágios diferenciados da auto-oxidação. A Figura 3.14 mostra um comparativo entre os métodos acelerados PetroOxy, Rancimat e PDSC⁷³.

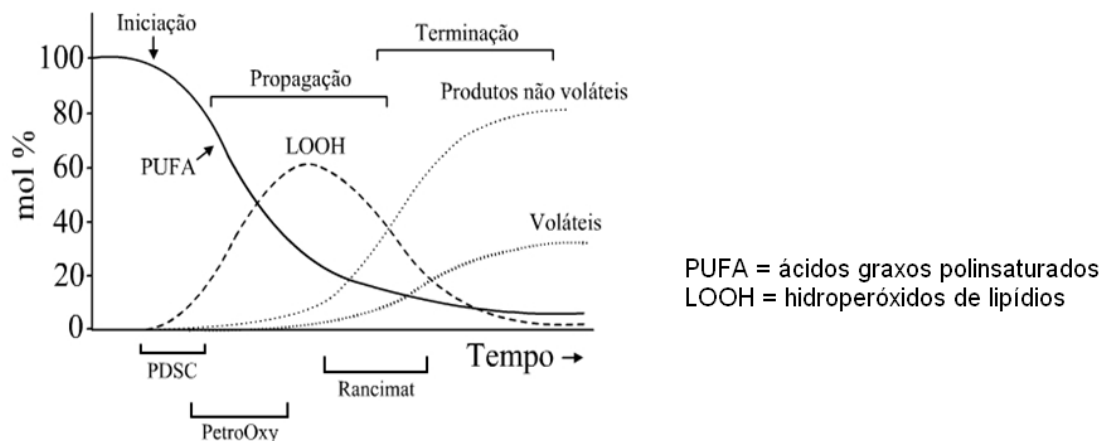


Figura 3.14 Comparação entre os métodos para determinar a estabilidade oxidativa. Fonte: Adaptado de Gardner⁷³.

De acordo com o gráfico as técnicas PetroOxy e PDSC apresentam um comportamento semelhante no início da curva, etapa relativa às reações de formação de peróxidos, que levam ao pico exotérmico no PDSC, representado pelo valor de OIT, e ao consumo de oxigênio observado no PetroOxy, indicado pelo valor de PI, que corresponde a queda de 10 % da pressão máxima inicial. No caso do método Rancimat, nesta etapa observa-se um valor menor para PI, pois a técnica é mais direcionada a determinar a oxidação propriamente dita da amostra do que a sua resistência à oxidação térmica.

METODOLOGIA

4 Metodologia

Os métodos e equipamentos utilizados na obtenção e caracterização do óleo de quiabo estão relacionados neste capítulo. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Combustíveis e Materiais do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba (LACOM/DQ/CCENUFPB).

4.1 Obtenção do Óleo de Quiabo

As sementes de quiabo adquiridas no comércio da cidade de João Pessoa–PB em abril de 2011 foram inicialmente submetidas à secagem na temperatura de 40 ± 2 °C por 48 h em estufa com circulação de ar (modelo MA 035 da Marconi). Após este procedimento foram trituradas em moinho de facas (tipo Willye STAR FT 60 da Fortinox). A Figura 4.1 mostra as sementes antes e após o processo de trituração.



Figura 4.1 Sementes de quiabo usadas para extração do óleo antes (A) e após (B) trituração.

Com a finalidade de obter o rendimento em óleo, um ensaio em triplicata foi realizado com 200 g sementes trituradas, que foram submetidas à extração com hexano em aparelho Soxhlet por 6 h sob aquecimento em manta. O

excesso de solvente foi removido a 45 °C sob vácuo em um evaporador rotativo (modelo TE-211 da Tecnal).

O óleo obtido das sementes foi armazenado em vidro âmbar e mantido sob refrigeração até uso nos ensaios.

4.2 Envelhecimento do Óleo de Quiabo

O óleo de quiabo (30 g) foi submetido ao teste de estufa durante o período de 10 dias na temperatura de 60 ± 2 °C. O teste foi realizado em duplicada com amostras do óleo bruto e aditivado na concentração de 2.000 mg/kg com o antioxidante TBHQ (*terc*-butil-hidroquinona). As amostras foram codificadas como OQT e OQ para o óleo com e sem TBHQ, respectivamente. A Figura 4.2 mostra como foi efetuada a distribuição das amostras na estufa com circulação de ar.



Figura 4.2 Distribuição das amostras de óleo de quiabo na estufa com circulação de ar.

A cada dois dias, amostras em duplicata do óleo (com e sem aditivo) foram retiradas da estufa. Os números 1, 2, 3, 4 e 5 foram acrescentados às abreviaturas OQ e OQT correspondendo ao segundo, quarto, sexto, oitavo e décimo dia, respectivamente.

4.3 Parâmetros Físico-Químicos do Óleo de Quiabo

Para cada amostra de óleo, os parâmetros físico-químicos foram analisados de acordo com os padrões técnicos estabelecidos por órgãos competentes.

4.3.1 Aspecto

Em uma proveta de 50 mL foi colocada uma amostra do óleo, em uma superfície plana, com luz natural, sem vibração e livre de ar. Observou-se contra a luz o aspecto da amostra.

4.3.2 Teor de umidade das sementes e do óleo

O teor de umidade das sementes foi determinado através do processo de secagem em estufa a 45 °C até peso constante. A umidade foi calculada através da diferença entre o peso inicial e final das amostras, sendo este valor expresso em porcentagem⁷⁴.

O teor de água do óleo foi determinado em titulador coulométrico Karl Fischer (modelo MKC-501 da Kyoto), de acordo com o método ASTM D 6304⁷⁵.

4.3.3 Massa específica

A determinação da massa específica do óleo foi realizada no densímetro digital (modelo DA-130 N da Kyoto), de acordo com o método ABNT NBR 7148⁷⁶.

4.3.4 Índice de refração

O índice de refração foi medido a temperatura ambiente e corrigido para 20 °C no refratômetro do tipo Abbé (Analytic Jena), de acordo com o método Cc 7-25 da AOCS⁷⁷.

4.3.5 Índice de iodo

Na determinação do índice foi utilizado o método Cd 1-25 da AOCS⁷⁸. Pesou-se 0,25 g do óleo em um erlenmeyer de 500 mL, seguido da adição de 10 mL de ciclohexano. Adicionou-se 25 mL de solução de Wijs e, com o erlenmeyer fechado, agitou-se cuidadosamente com movimento de rotação para homogeneizar. Deixou-se em repouso ao abrigo da luz e à temperatura ambiente por 30 minutos. Adicionou-se 10 mL iodeto de potássio a 15% e 100 mL de água recentemente fervida e fria. Titulou-se com tiosulfato de sódio 0,1 mol L⁻¹ até o aparecimento de uma coloração amarela. Adicionou-se 1 mL de solução indicadora de amido 1 % e continuou a titulação até o completo desaparecimento da cor azul. Uma prova em branco foi realizada nas mesmas condições descritas, sem a presença da amostra. O índice de iodo (II) foi calculado de acordo com a Equação 4.1.

$$II = \frac{(V_B - V_A) \text{ mL} \times M \text{ do Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}{P \text{ da amostra (g)}} \times 12,69 \quad \text{Equação 4.1}$$

Em que: V_B é o volume gasto na titulação do branco (mL); V_A é o volume gasto na titulação da amostra (mL); P é a massa da amostra (g); M é a concentração da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (mol L⁻¹); e 12,69 é o fator de correção.

4.3.6 Índice de saponificação

O índice de saponificação foi determinado pelo método Cd 3a-94 da AOCS⁷⁹. Cerca de 5 g da amostra e 50 mL da solução alcoólica de KOH foram adicionados em um erlenmeyer de 250 mL com junta esmerilhada. A mistura foi aquecida sob refluxo por 30 minutos, até o término da reação de saponificação. Em seguida, a solução foi resfriada e titulada com uma solução de ácido clorídrico 0,5 mol L⁻¹, utilizando solução alcoólica de fenolftaleína a 1% como indicador, até o desaparecimento total da coloração rosa. Uma prova em branco foi realizada nas mesmas condições descritas, sem a presença da

amostra. O índice de saponificação (IS) foi calculado de acordo com a Equação 4.2.

$$IS = \frac{(V_B - V_A) \text{ mL} \times M \text{ de ácido} \times 56,1}{P \text{ da amostra (g)}} \quad \text{Equação 4.2}$$

Em que: IS é o índice de saponificação; V_A volume da solução de HCl gasto na titulação da amostra (mL); V_B volume da solução de HCl gasto na titulação do branco; M é a concentração da solução de HCl (mol L^{-1}); P é a massa da amostra (g) e 56,1 é a massa molecular de KOH.

4.3.7 Índice de acidez

Na determinação do índice de acidez foi utilizado o método NBR 11115 da ABNT⁸⁰. Mediu-se 5 g da amostra em um erlenmeyer e adicionou-se 25 mL de etanol para solubilizar a amostra de óleo. Em seguida, foram adicionadas 2 gotas de indicador fenolftaleína e titulou-se com solução de KOH 0,1 mol L^{-1} até atingir a coloração rósea. Uma prova em branco foi realizada nas mesmas condições descritas, sem a presença da amostra. O índice de acidez (IA) foi calculado de acordo com a Equação 4.3.

$$IA = \frac{(V_A - V_B) \times M \times 56,1}{P \text{ da amostra (g)}} \quad \text{Equação 4.3}$$

Em que: IA é o índice de acidez; M é a concentração da solução de KOH (mol L^{-1}); V_A é o volume de KOH gasto na titulação da amostra (mL); V_B é o volume de KOH gasto na titulação do branco (mL); P a massa da amostra (g) e 56,1 é a massa molecular de KOH.

4.3.8 Índice de peróxido

O índice de peróxido foi determinado pelo método Cd 8-53 da AOCS⁸¹. Para determinar o índice de peróxido foram dissolvidas 5 g das amostras de óleo em 30 mL de uma solução de ácido acético-clorofórmio (3:2 v/v), seguida da adição de 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio. A mistura foi deixada em repouso por exatamente um minuto e em seguida foram

adicionados 30 mL de água recém fervida e 0,5 mL de solução de amido a 1 %. O iodo liberado foi titulado com solução de tiosulfato de sódio 0,01 N, até o desaparecimento da coloração azulada. Uma prova em branco foi realizada nas mesmas condições descritas, sem a presença da amostra. Os cálculos foram feitos a partir da Equação 4.4.

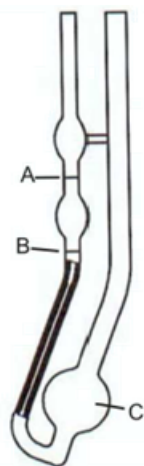
$$IP = \frac{N \times (V_A - V_B) \times 1000}{P \text{ da amostra (g)}} \quad \text{Equação 4.4}$$

Em que: N é a normalidade da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$; V_A é o volume da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ consumido pela amostra (mL); V_B é o volume da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ consumido pelo branco (mL) e P = massa da amostra (g).

4.3.9 Viscosidade cinemática a 40 °C

A determinação experimental da viscosidade cinemática foi efetuada pelo método NBR 10441 da ABNT⁸² utilizando um viscosímetro cinemático manual (modelo ME18V da Julabo). No procedimento realiza-se a medição do tempo requerido para que um volume de 10 mL do óleo escoe, sob gravidade, através do tubo capilar entre as duas marcas de calibração A e B, Figura 4.3.

Durante a determinação, o viscosímetro permanece imerso em um



banho termostático a 40°C. A partir do capilar escolhido e, conseqüentemente, da sua constante 'θ' e do tempo medido experimentalmente, a viscosidade cinemática pode ser calculada a partir da Equação 4.5.

$$v = \theta \times t \quad \text{Equação 4.5}$$

Figura 4.3 Ilustração de um viscosímetro.

Em que: v é a viscosidade cinemática, t é o tempo (s) de escoamento da amostra e θ é a constante do capilar.

4.4 Composição Química do Óleo de Quiabo

4.4.1 Cromatografia gasosa

O óleo de quiabo foi transesterificado com metanol seguindo método padrão 2.301 da IUPAC⁸³. Os ésteres foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a um espectrometro de massa (CG/EM) equipado com injetor *split*, modelo GCMS-QP2010 da marca Shimadzu, com amostrador automático; foi utilizada a coluna capilar Durabond – DB-23 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) da J&W Scientific, fase estacionária de alta polaridade. O gás de arraste utilizado foi o hélio com vazão de 3 mL min⁻¹ e volume de injeção de 1 μL com razão de *split* 1:37. A temperatura do detector MS foi de 230 °C. A temperatura da coluna foi programada de 130 °C a 230 °C com taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ até 200 °C, mantida por 1 min, e em seguida aquecida até 230 °C com taxa de aquecimento de 3 °C.min⁻¹.

A caracterização dos perfis dos ésteres foi feita por comparação do espectro de massa com os padrões existentes na biblioteca do software (Mass Spectral Database NIST/EPA/NIH).

As amostras de ésteres contendo padrão interno (heptadecanoato de metila, c = 5,0 mg/mL) foram injetadas em triplicatas. A solução de ésteres foi preparada com \pm 100 mg da amostra em 5 mL de padrão interno.

4.4.2 Espectroscopia na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro de IV com transformada de Fourier modelo IR Prestige-21, Class 1, Laser Product da marca Shimadzu. A análise foi realizada na região de 4.000 a 650 nm utilizando acessório ATR de uma reflexão com prisma de ZnSe, na resolução de 4 cm⁻¹.

4.4.3 Espectroscopia na região do ultravioleta-*visível*

As medidas de absorvância na região de 200-600 nm foram obtidas empregando-se um espectrofotômetro UV-*vis* Shimadzu, modelo UV-2550, utilizando cela de 1 cm de caminho óptico. As soluções de óleo foram preparadas em heptano grau HPLC na concentração de 0,4 mg.mL⁻¹.

4.4.4 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C foram obtidos através de um espectrômetro com frequência de 500 MHz (modelo VNMRS 500 da Varian). Como solvente foi utilizado clorofórmio deuterado (CDCl₃) e trimetilsilano (TMS) como padrão interno.

4.5 Análise Termogravimétrica

As curvas termogravimétricas (TGA) foram obtidas em um analisador térmico simultâneo TG-DTA Shimadzu, modelo DTG-60H, em atmosfera de oxigênio com fluxo de 10 mL min⁻¹ na razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ até 600 °C, utilizando cadinho de platina e massa de 10 mg.

4.6 Métodos Acelerados de Avaliação da Estabilidade Oxidativa

4.6.1 Calorimetria diferencial de varredura pressurizada

As curvas PDSC das amostras foram obtidas através de um calorímetro diferencial de varredura acoplado a uma célula de pressão da TA Instruments, modelo DSC Q1000. As análises no modo dinâmico foram processadas utilizando cadinho de platina com aproximadamente 10 mg da amostra, sob atmosfera de oxigênio com pressão inicial de 203 psi (aprox. 1400 kPa) e razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, no intervalo de temperatura de 25 a 600 °C. No modo isotérmico (110 °C) foram mantidas as mesmas condições de atmosfera, pressão e quantidade de amostra.

4.6.2 Método Rancimat

Os ensaios de estabilidade oxidativa foram realizados em duplicata no equipamento 873 Biodiesel Rancimat da marca Metrohm utilizando o método EN 14112⁸⁴. Neste método, 2 gramas da amostra são envelhecidas a 110 °C, sob fluxo constante de ar (10 L.h⁻¹). O rápido aumento da taxa de oxidação é observado pelo aumento de condutividade na água deionizada, ocasionado pela formação de peróxido e de voláteis. O resultado, expresso como período de indução (PI), é determinado a partir do ponto de inflexão da curva. Os cálculos dos períodos de indução foram realizados com o auxílio do programa que acompanha o equipamento (Software 873 - Rancimat).

**RESULTADOS E
DISCUSSÃO**

5 Resultados e Discussão

5.1 Umidade das Sementes e Extração do Óleo de Quiabo

O valor determinado para a umidade das sementes de quiabo foi de 10 %, dentro das especificações adequadas ao armazenamento (8-10 %) para que sementes oleosas possam ser estocadas por um período mais longo.

Teoricamente, quanto mais baixos forem os teores de umidade das sementes e a temperatura, melhores serão as condições de armazenagem. Entretanto, isto implica em verificar a viabilidade econômica, analisando os custos de redução de teor de umidade ou redução de temperatura⁸⁵. Além disso, a baixa umidade das sementes é importante para o rendimento do óleo, pois facilita o processo de extração em razão do maior contato entre o solvente e o óleo⁸⁶.

O teor de óleo obtido das sementes foi de 19 % (g de óleo/100 de semente seca) após 6 h de extração com hexano. O valor encontrado foi próximo ao valor máximo relatado na literatura utilizando o mesmo procedimento de extração (2,5 a 23 %)^{1,87}. A variação no teor em óleo verificada na literatura demonstra que além do processo de extração, a escolha da espécie da oleaginosa é de fundamental importância.

5.2 Aspecto

O óleo de quiabo recém extraído apresentou cor amarelo claro e um aroma agradável. A cor das amostras que passaram pelo processo de envelhecimento em estufa permaneceu inalterada, independente de conter ou não o antioxidante TBHQ, Figura 5.1. Mudanças na coloração do óleo podem indicar alterações, podendo estar relacionadas com contaminações e degradações por estocagem prolongada ou até mesmo com problemas relacionados ao processo de produção.

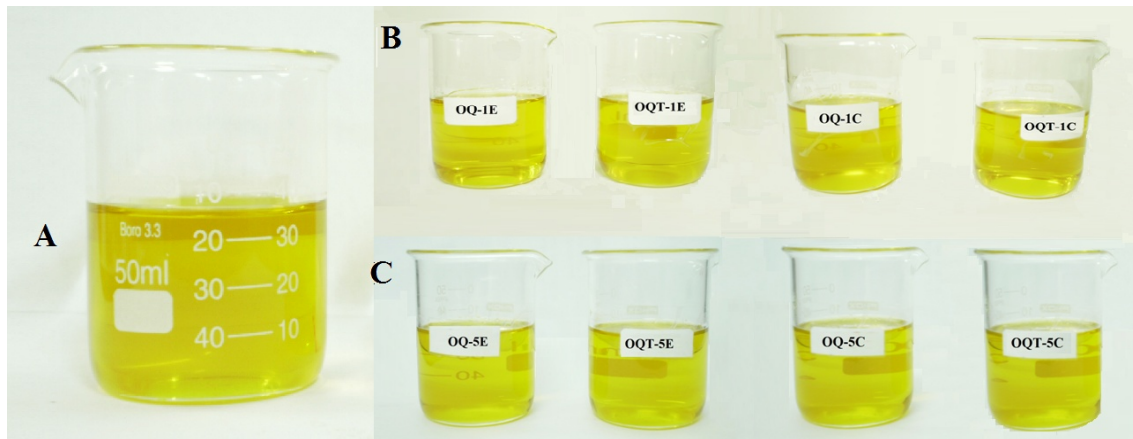


Figura 5.1 Fotos de recipientes contendo amostras de óleo de quiabo no início da estocagem (A), após 2 dias (B) e após 10 dias (C). OQ = óleo de quiabo e OQT = óleo de quiabo aditivado com TBHQ.

5.3 Composição Química

Através da CG/EM foi possível determinar a composição em ácidos graxos referente ao óleo das sementes de quiabo. A Figura 5.2 mostra o cromatograma do óleo de quiabo após transesterificação com metanol e a Figura 5.3 apresenta o cromatograma dos 9 constituintes identificáveis.

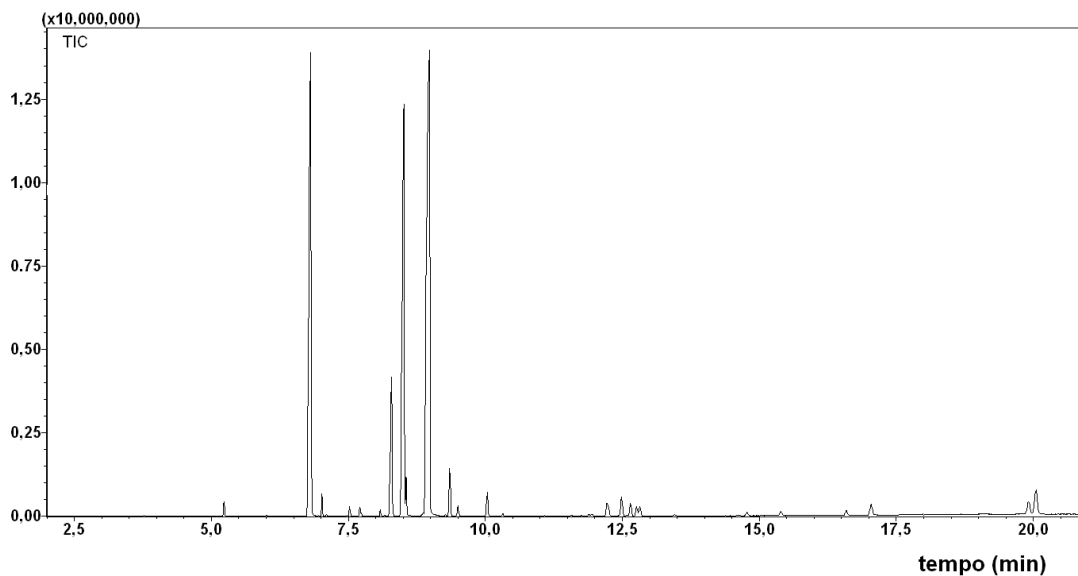


Figura 5.2 Cromatograma do óleo de quiabo após reação de transesterificação com metanol.

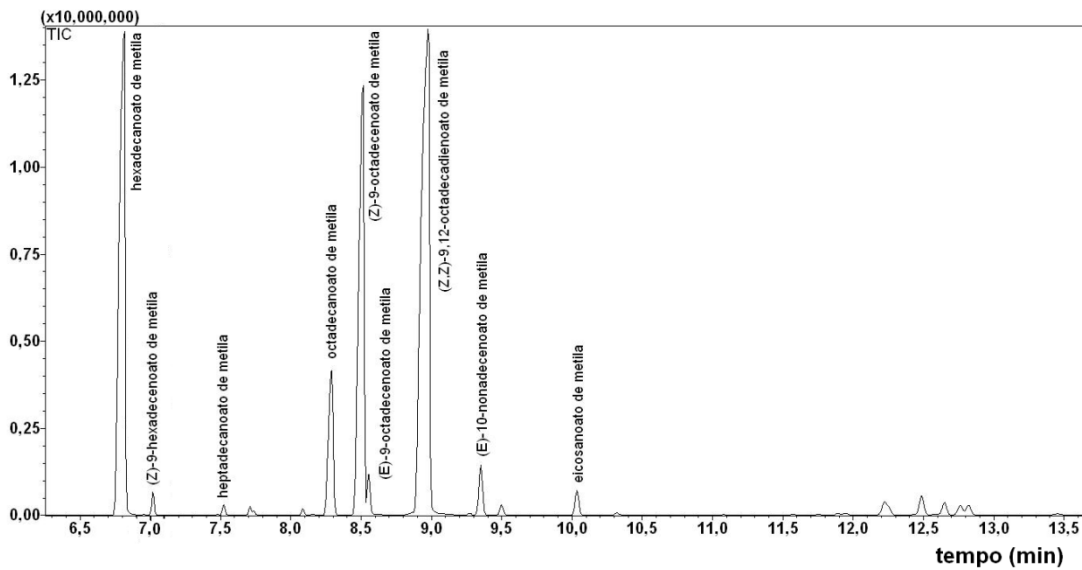


Figura 5.3 Cromatograma mostrando os 9 constituintes identificáveis presentes no óleo de quiabo após transesterificação com metanol.

Na Tabela 5.1 estão dispostos os percentuais da composição dos ácidos graxos presentes no óleo de quiabo.

Tabela 5.1 Composição química do óleo de quiabo.

Ácidos graxos	Tr (min)	(%)
Ácido tetradecanóico (mirístico, C14:0)	5,2	0,5
Ácido hexadecanóico (palmítico, C16:0)	6,8	25,2
Ácido hexadecenóico (C16:1)	7,0	0,7
Ácido heptadecanóico (C17:0)	7,6	0,2
Ácido octadecanóico (esteárico, C18:0)	8,3	6,6
Ácido (Z)-9-octadecenóico (oléico, C18:1)	8,5	19,3
Ácido (E)-9-octadecenóico (elaídico, C18:1)	8,6	1,0
Ácido (Z,Z)-9,12-octadecadienóico (linoléico, C18:2)	9,0	33,5
Ácido (Z)-10-nonadecenóico (C19:1)	9,4	1,7
Ácido (Z,Z,Z)-octadecatrienóico (linolênico, C18:3)	9,5	0,4
Ácido eicosanóico (C20:0)	10,0	0,9
Ácido (Z)-11-eicosanenóico (C20:1)	10,3	0,1
Não identificados (similaridade < 90% - Biblioteca NIST)	---	8,0
TOTAL convertido		98,1
Saturados		33,4
Insaturados	Mono	22,8
	Poli	33,9

O teor de ácidos graxos saturados (33,4 %) compreende principalmente o ácido palmítico e o esteárico. Em relação às quantidades previamente reportadas para *Hibiscus esculentus* foi menor, com uma variação de 1,5–3,9 %^{29,88,89}. Este nível de saturados foi maior do que o óleo de girassol (9,0 %), soja (15,6 %) e milho (12,9 %)⁶⁵ e menor que o óleo de palma (48,5 %)⁹⁰. O ácido linoléico corresponde a 33,5 % dos ácidos insaturados (56,7 %). Este ácido também se encontra presente nos óleos de soja, milho e girassol, entretanto em maior concentração (50-57 %). No entanto, os óleos citados contêm maior quantidade do ácido linolênico, com exceção do óleo de girassol. Comparativamente a diferença varia de 67 % a 95 % com relação aos óleos de milho e girassol, respectivamente⁴⁰. A similaridade do óleo de quiabo com o óleo de algodão é que o teor de ácido oléico é menor que o ácido palmítico, geralmente não observado para os óleos vegetais.

5.4 Caracterização Físico-Química do Óleo de Quiabo

5.4.1 Propriedades físico-químicas do óleo de quiabo antes do teste de estufa

Os conteúdos de umidade, impurezas, ácidos graxos livres e índice de peróxido são exemplos de parâmetros físico-químicos investigados para óleos comestíveis. Os limites estabelecidos necessitam especificar se o óleo é bruto, parcial ou totalmente refinado. Consideração especial deve ser dada a concentrações de metais que podem levar à oxidação mais rápida do óleo, mesmo em pequenas quantidades, porém não avaliados neste trabalho.

Os parâmetros avaliados para o óleo de quiabo antes do envelhecimento em estufa mostraram que este possui valores dentro dos limites estabelecidos para outros óleos comestíveis de acordo com a legislação vigente da ANVISA (Tabela 3.2).

Os valores encontrados para índice de iodo, índice de saponificação e índice de peróxido foram menores que os dados reportados para duas variedades de *Hibiscus esculentus* L. (sinonímia de *Abelmoschus esculentus*). Entretanto, valores similares foram encontrados para massa específica e índice de acidez²⁶.

A Tabela 5.2 apresenta os parâmetros físico-químicos investigados para o óleo de quiabo bruto (antes do teste de estufa).

Tabela 5.2 Propriedades físico-químicas do óleo de quiabo antes do teste de estufa.

Parâmetros	Óleo de quiabo
Teor de água (mg.kg^{-1})	422,2
Massa específica a 20 °C (g.cm^{-3})	0,910
Índice de refração	1,467
Índice de iodo ($\text{g I}_2.100\text{g}^{-1}$)	92
Índice de saponificação (mg KOH.g^{-1})	172
Índice de acidez (mg KOH.g^{-1})	3,89
Índice de peróxido (meq.kg^{-1})	0,5
Viscosidade cinemática a 40 °C ($\text{mm}^2.\text{s}^{-1}$)	33,0
Viscosidade dinâmica (Pa.s)	0,03

A viscosidade do óleo de quiabo ainda não foi reportada na literatura e o valor determinado no estudo é comparável a outros óleos vegetais como soja, girassol e canola (0,03 Pa.s) e menor que a viscosidade do óleo de palma (0,04 Pa.s)³⁹. Kim⁴⁰ demonstrou que existe uma alta correlação entre a viscosidade do óleo e a composição de ácidos graxos, sugerindo que óleos com mais ligações duplas aparentemente têm menor viscosidade devido ao menor grau de empacotamento das suas moléculas. Isto explica porque o óleo de quiabo apresentou viscosidade próxima aos óleos com altos teores de ácidos insaturados e menor que o óleo de palma, cuja composição apresenta maior teor de ácidos saturados.

A umidade em óleos é outro fator importante que contribui para a deterioração do óleo. Entretanto um valor específico de teor de umidade permitido em óleos comestíveis não é mencionado na legislação brasileira. O

valor encontrado de teor de água para o óleo de quiabo não pode ser comparado frente a outros óleos, mas um mínimo é desejável a fim de dificultar a rancidez hidrolítica.

5.4.2 Propriedades físico-químicas do óleo de quiabo após teste de estufa

A Tabela 5.3 apresenta os parâmetros físico-químicos investigados para as amostras de óleo de quiabo com e sem TBHQ, envelhecidas em estufa.

Tabela 5.3 Propriedades físico-químicas dos óleos envelhecidos em estufa a 60 °C.

Amostras	TE	IA	II	IP	IR	
	(dia)	(mg KOH.g ⁻¹)	(g I ₂ .100g ⁻¹)	(meq.kg ⁻¹)		
Óleo de quiabo sem aditivo	OQ-1	2	4,09	92	2,2	1,470
	OQ-2	4	4,08	98	13,4	1,470
	OQ-3	6	3,99	101	25,9	1,470
	OQ-4	8	3,99	102	47,6	1,470
	OQ-5	10	4,10	102	50,3	1,470
Óleo de quiabo aditivado com TBHQ	OQT-1	2	4,09	91	0,4	1,470
	OQT-2	4	4,08	102	1,9	1,470
	OQT-3	6	4,09	98	2,6	1,470
	OQT-4	8	3,99	101	2,7	1,470
	OQT-5	10	3,99	104	2,1	1,470

TE = tempo de envelhecimento; IA = índice de acidez; II = índice de iodo; IP = índice de peróxido; IR = índice de refração;

1, 2, 3, 4 e 5 corresponde ao segundo, quarto, sexto, oitavo e décimo dia de envelhecimento em estufa, respectivamente.

Posteriormente ao envelhecimento do óleo em estufa foi verificado um aumento (11-13 %) do índice de iodo para as amostras OQ e OQT. Este resultado demonstra que a natureza e a composição química da amostra influenciam na adição do iodo à ligação dupla. Como a oxidação consiste em uma série de reações químicas, sendo caracterizada pela diminuição na quantidade de insaturados devido à eliminação do hidrogênio alílico ou *bis*-alílico, amostras oxidadas devem apresentar menores valores índice de iodo. Conforme relatado na literatura a desvantagem do teste é que diferenças estruturais nos ácidos graxos tais como, natureza (*cis* ou *trans* e ligação dupla isolada ou conjugada), posição na cadeia e quantidade de ligações duplas, que levam à reatividade desigual não são distinguidas⁹¹.

O ar (oxigênio) permaneceu na amostra de óleo durante o envelhecimento permitindo a formação de compostos tais como hidroperóxidos e assim implicando no aumento do índice de peróxido. O IP aumentou de 0,5 para 50,3 meq O₂.kg⁻¹ após 10 dias de armazenamento para amostras sem aditivo. Ainda que este índice não tenha sido estabelecido para o óleo de quiabo, em relação ao estipulado para os demais óleos vegetais como soja, girassol, canola e amendoim, o valor encontrado no início do processo está abaixo do permitido (< 10 meq O₂.kg⁻¹), logo o qualifica perante a legislação vigente³. Valores baixos de IP são um indicativo favorável para alta estabilidade oxidativa.

Os resultados de índice de peróxido para as amostras sem antioxidante mostraram que a degradação do óleo foi acelerada pela presença da atmosfera oxidante e do aquecimento. Entretanto, os valores de IP indicam uma menor velocidade de degradação do óleo de quiabo aditivado. A aditivação mostrou ser eficaz, pois os valores de IP foram menores que 3,0 meq O₂.kg⁻¹ após 10 dias de envelhecimento a 60 °C.

Os valores de IA das amostras OQ e OQT após o teste de estufa alteraram em torno de 5 %, evidenciando um estágio inicial de degradação. Isto é, os hidroperóxidos observados nos ensaios ainda não sofreram degradação para ácidos carboxílicos.

Uma demonstração das reações que os hidroperóxidos do triacilglicerídeo sofrem para formar aldeídos reativos que oxidam para ácidos carboxílicos pode ser observada na Figura 5.4⁹².

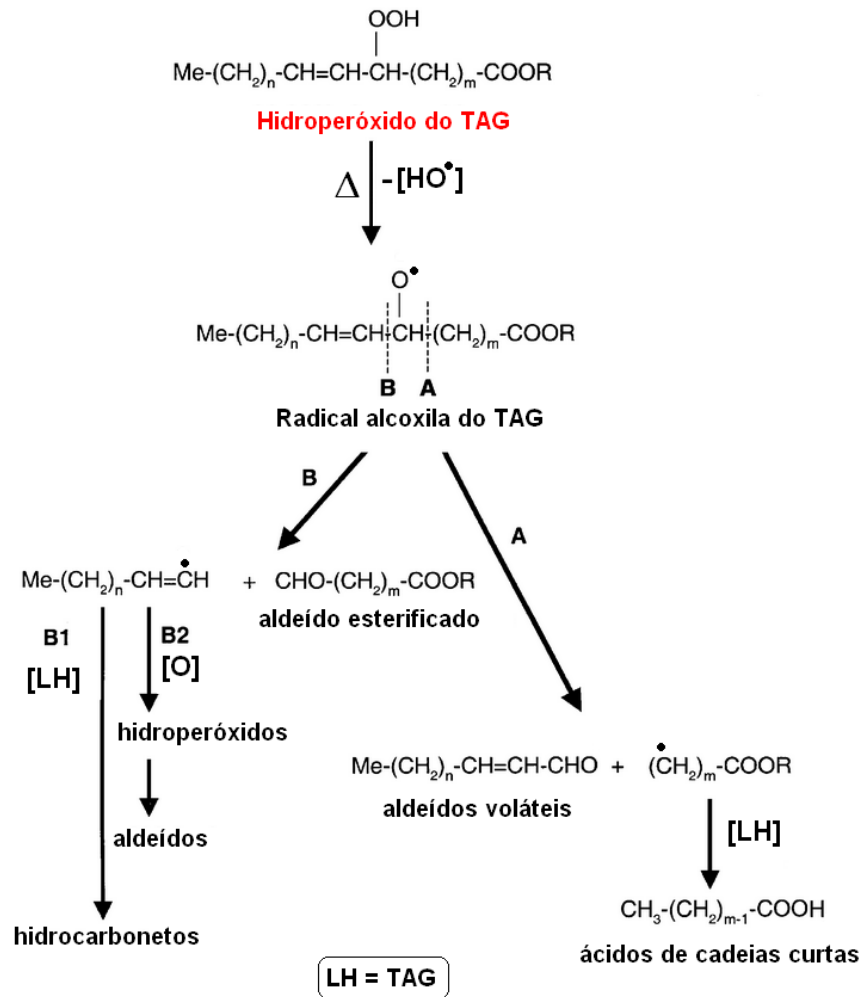


Figura 5.4 Formação de alguns produtos secundários da oxidação de radicais alcóxila de hidroperóxidos. Fonte: Adaptado de Kamal-Eldina, Mäkinenb e Lampib⁹².

O índice de acidez quase inalterado comprova que a quantidade de água determinada no óleo de quiabo não levou à formação de ácidos devido à hidrólise do TAG, conforme Figura 5.5.

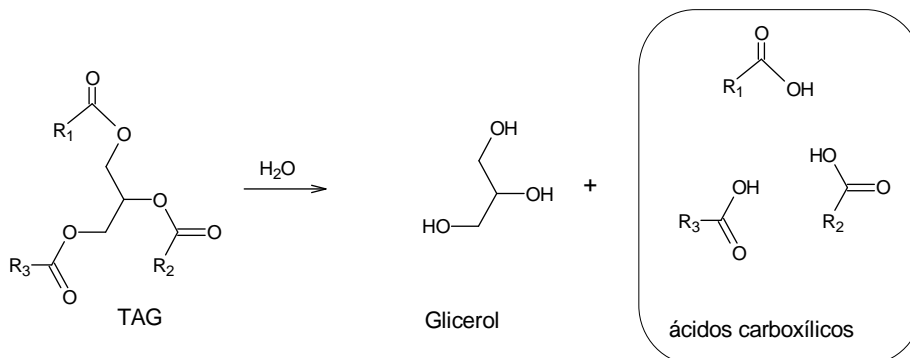


Figura 5.5 Esquema reacional da hidrólise de triacilglicerídeos.

Em relação ao índice de refração foi observado que este não modificou para nenhuma amostra submetida ao aquecimento em estufa. Este fato confirma que este parâmetro é ineficaz para mostrar sinais de degradação em amostras que sofreram poucas alterações estruturais.

5.5 Caracterização Espectroscópica do Óleo de Quiabo

5.5.1 Espectroscopia na região do ultravioleta-*visível*

O acompanhamento do efeito térmico em amostras de óleo por UV-*vis* pode ser um recurso eficaz, pois indica a formação de dienos (232 nm) e trienos (272 nm) conjugados, que são produtos de oxidação e podem ser monitorados por esta técnica. O aumento na absorbância em um comprimento de onda fixa na região do UV-*vis* para uma amostra de massa constante sugere que a amostra está oxidada⁹³.

Nos espectros de UV-*vis* das amostras de óleo submetido ao envelhecimento em estufa foi verificada pequena variação de absorbância na região característica de dienos conjugados, Figura 5.6.

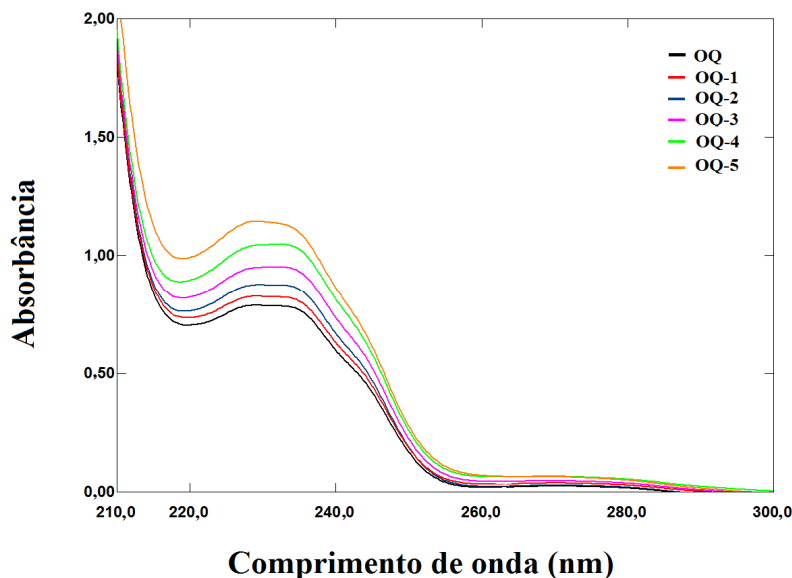


Figura 5.6 Espectro de absorbância UV-*vis* de amostras de óleo de quiabo submetidas a aquecimento em estufa a 60 °C.

A adição do antioxidante TBHQ na concentração 2000 mg.kg⁻¹ mostrou sua eficiência, pois não houve variação considerável na intensidade da banda de dienos conjugados, Figura 5.7.

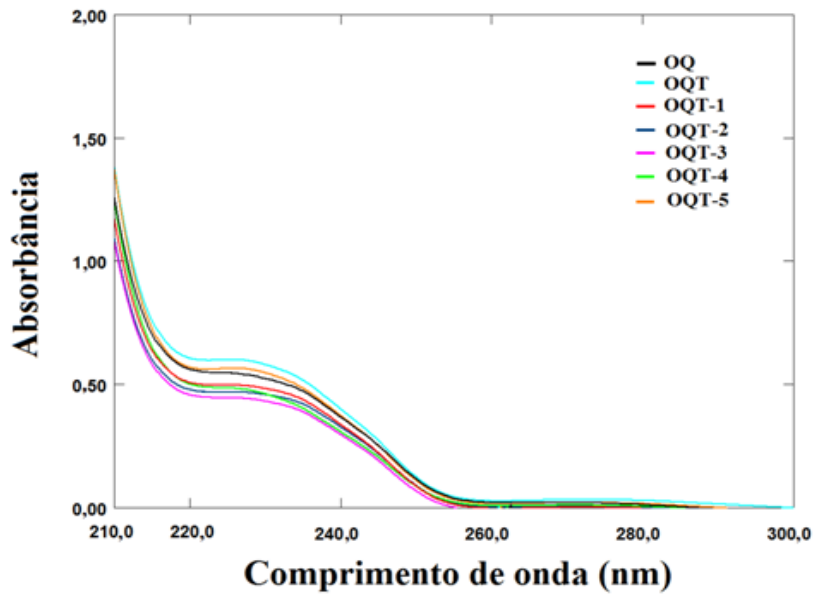


Figura 5.7 Espectro de absorvância UV-vis de amostras de óleo de quiabo aditivado com TBHQ e submetidas a aquecimento em estufa a 60 °C.

Estes resultados demonstram que durante os primeiros estágios do processo de auto-oxidação, o qual envolve a participação de radicais livres, ocorrem modificações nas posições das duplas ligações dos ácidos graxos insaturados, e isto leva à formação de hidroperóxidos conjugados, como verificado pelo aumento da absorção na região 232 nm. O antioxidante TBHQ agiu inibindo a formação destes radicais livres e, posteriormente, dificultando as alterações nas duplas ligações.

Uma maneira de expressar o resultado é através do coeficiente de extinção dos dienos conjugados ou absorvância específica (E), obtido de acordo com a Equação 5.1⁹⁴.

$$E_{1\text{cm}}^{1\%} = \frac{A_{232}}{c \times l} \quad \text{Equação 5.1}$$

Em que: E é a absorvância específica; A é a absorvância no comprimento onda; c é concentração da amostra ($\text{g} \cdot 100 \text{ cm}^{-3}$); e l é o comprimento da cubeta (cm).

A Tabela 5.4 mostra os valores de absorvância e absorvância específica obtidos para amostras de óleo submetidas ao aquecimento.

Tabela 5.4 Valores de absorvidade específica para as amostras envelhecidas em estufa.

Amostras	Absorbância λ_{nm} (232)	Concentração (g.100mL ⁻¹)	E ₂₃₂
OQ	0,819	0,039	21,0
OQ-1	0,828	0,040	20,7
OQ-2	0,854	0,039	21,9
OQ-3	0,920	0,039	23,6
OQ-4	1,012	0,040	25,3
OQ-5	1,140	0,040	28,5
OQT	0,504	0,024	21,0
OQT-1	0,492	0,024	20,5
OQT-2	0,434	0,024	18,2
OQT-3	0,415	0,024	17,3
OQT-4	0,444	0,024	18,5
OQT-5	0,492	0,024	20,5

As amostras sem aditivo tiveram uma variação de 7,5 no valor de E entre o tempo inicial e final do envelhecimento. O valor de E inicial e final para as amostras aditivadas confirmam novamente a eficiência do antioxidante, pois a variação de E não foi considerável.

Os espectros de UV-*vis* não mostraram absorbância típica de trienos conjugados. De acordo com a composição do óleo, o ácido linolênico responsável pela formação de trienos está presente em quantidades < 0,5 %, valor provavelmente abaixo do limite de detecção do aparelho.

5.5.2 Espectroscopia na região do infravermelho

Para obter informações sobre mudanças estruturais envolvidas no processo oxidativo do óleo das sementes de quiabo após tratamento térmico, realizou-se a análise dos espectros de infravermelho obtidos na região de 650 a 4000 cm^{-1} .

Inicialmente, como um exemplo descritivo, o espectro de infravermelho para o óleo das sementes de quiabo é apresentado na Figura 5.8.

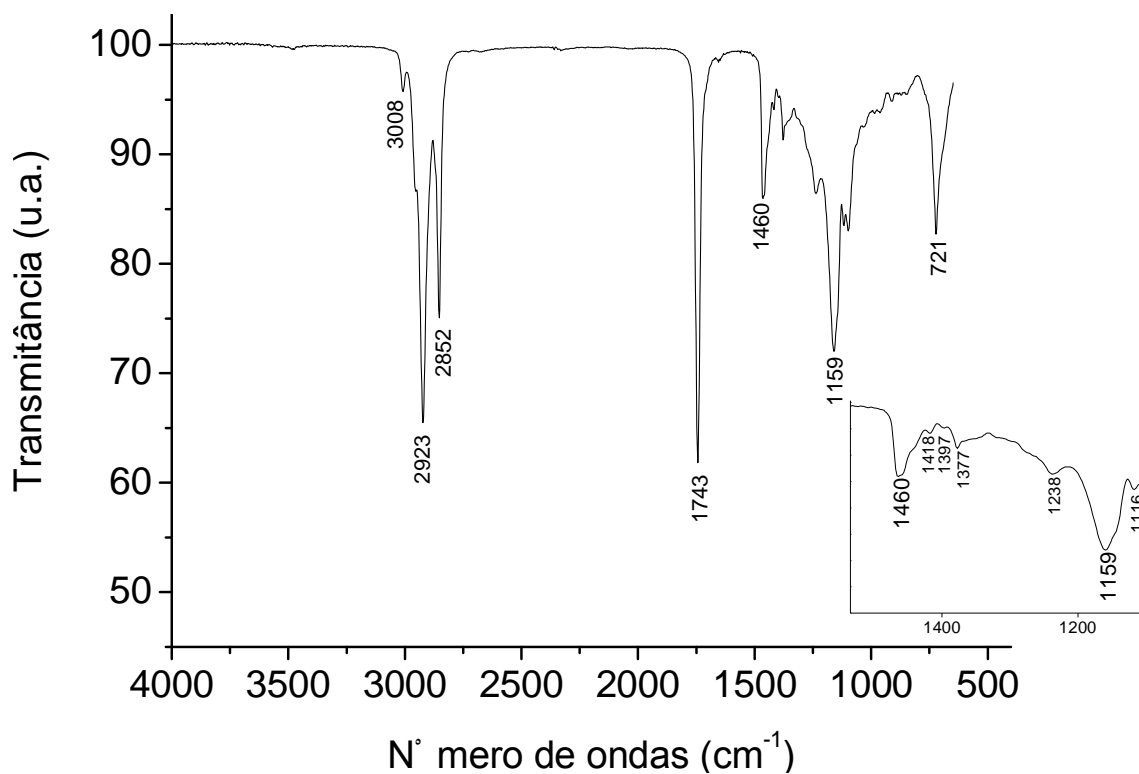


Figura 5.8 Espectro de infravermelho para o óleo das sementes de quiabo.

O espectro é caracterizado pela presença de várias bandas na faixa do comprimento de onda explorado, principalmente devido à ocorrência dos ácidos insaturados (C18:1 e C18:2). A avaliação das principais bandas de absorção vibracionais está apresentada na Tabela 5.5.

Tabela 5.5 Posições espectrais e atribuições das bandas investigadas do óleo das sementes de quiabo^{95,96,97}.

REGIÃO DOS GRUPOS FUNCIONAIS	
Região de estiramento do hidrogênio	
3008 cm ⁻¹	Vibração de estiramento C–H de <i>cis</i> -olefinas (=C–H).
2923 cm ⁻¹ , 2852 cm ⁻¹	Vibração de estiramento simétrico e assimétrico do grupo CH ₂ alifático
2962 cm ⁻¹ , 2872 cm ⁻¹	Vibração de estiramento simétrico e assimétrico do grupo CH ₃ alifático
Região de estiramento de ligações duplas	
1743 cm ⁻¹	Vibração de estiramento da carbonila (C=O), característica de ésteres
1654 cm ⁻¹	Estiramento vibracional C=C de <i>cis</i> -olefinas
Região de deformação de outras ligações	
1460 cm ⁻¹	Deformação angular simétrica no plano dos grupos alifáticos CH ₂ e CH ₃
1418 cm ⁻¹	Deformação angular assimétrica no plano de C–H de <i>cis</i> -olefinas dissustituídas
1397 cm ⁻¹	Deformação angular simétrica no plano de CH de <i>cis</i> -olefinas
1377 cm ⁻¹	Deformação angular simétrica no plano de grupos CH ₂
Região da impressão digital	
1238 cm ⁻¹ , 1159 cm ⁻¹	Vibrações de estiramento C–O de grupos ésteres
721 cm ⁻¹	Sobreposição da deformação assimétrica no plano CH ₂ e deformação fora do plano de <i>cis</i> -olefinas dissustituídas

Duas regiões espectrais importantes na avaliação da degradação de óleos com teores elevados de ácidos insaturados são: (i) de 700 a 1500 cm⁻¹, correspondente às vibrações de ligações conjugadas e as vibrações de deformação simétrica no plano das ligações dos compostos alifáticos e (ii) de 2800 a 3800 cm⁻¹, onde as vibrações de estiramento dos ácidos graxos e hidroperóxidos são identificadas. É conhecido que após o tratamento térmico de óleos vegetais algumas bandas características de absorção no infravermelho podem ser modificadas⁹⁸.

As bandas de absorção nos espectros de infravermelho para as amostras de óleos submetidas à degradação térmica a 60 °C não mostraram diferenças significativas na região (3008 cm^{-1}) que compreende a vibração da ligação C–H de ligação dupla *cis*, Figura 5.9.

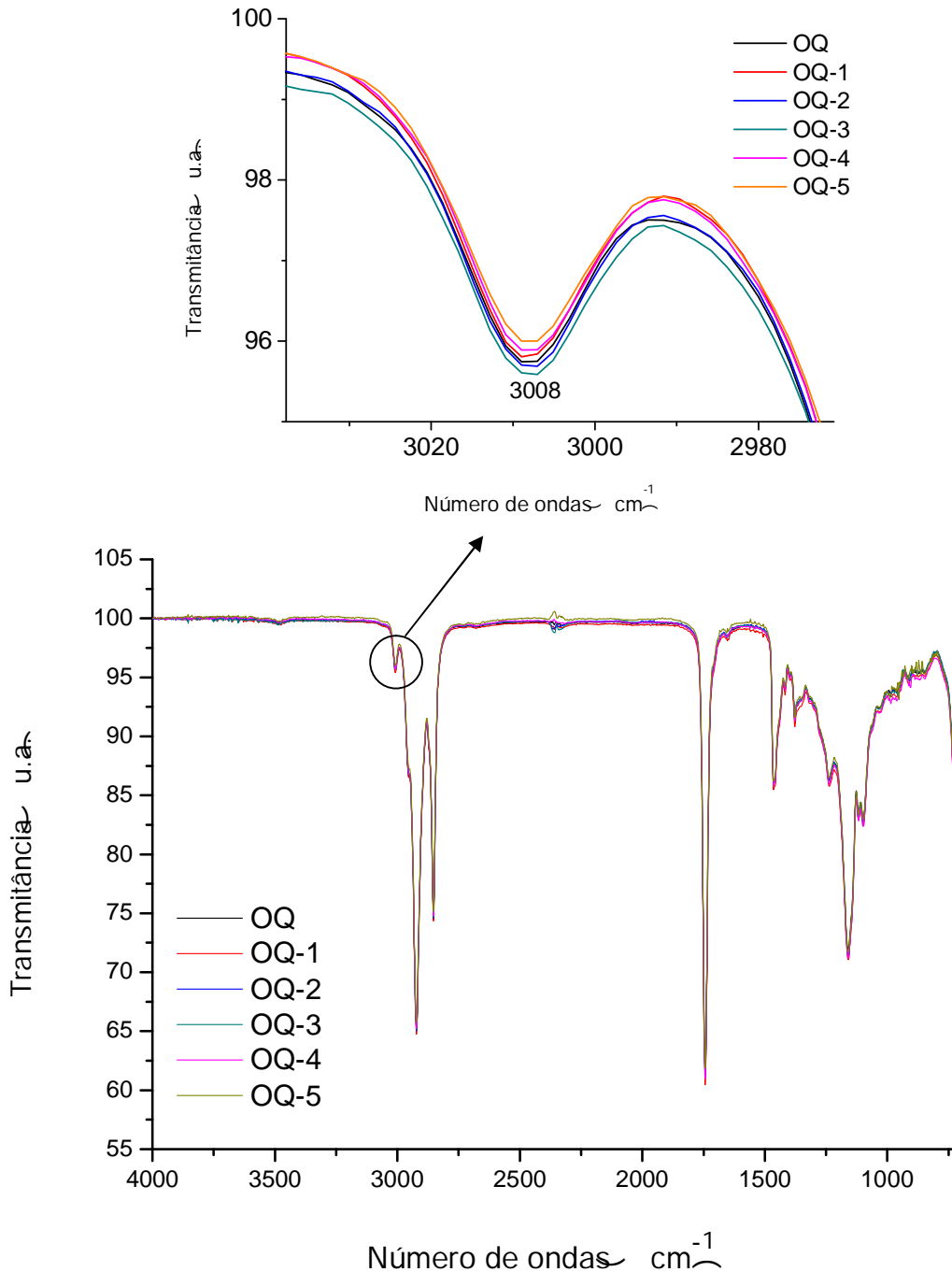


Figura 5.9 Espectro de infravermelho das amostras de óleo de quiabo (sem TBHQ) antes e após envelhecimento em estufa. Em destaque a expansão da região entre 2970-3040 cm^{-1} .

A fase inicial do processo de oxidação acarreta em um aumento da quantidade de hidroperóxidos e de alguns produtos da oxidação secundária. As etapas seguintes são caracterizadas pela ruptura das ligações C–O do triacilglicerídeo resultando em ácidos graxos e glicerol. De modo geral um processo oxidativo ocasiona à diminuição do grau de insaturação e o aumento da concentração de isômeros *trans*^{96,98}. A banda característica de *trans*-olefinas em 967 cm^{-1} não foi observada nos espectros dos óleos submetidos à degradação térmica, confirmando que houve pouca oxidação das amostras.

Além disso, a banda ao redor 3008 cm^{-1} pode ser considerada como a impressão digital do processo oxidativo. A extensão do deslocamento da banda de estiramento C-H da ligação dupla com configuração *cis* depende da composição do óleo. A literatura reporta que óleos com mais alta proporção de grupos acila linolênico e linoléico mostram maior frequência nas bandas de –CH do que óleos com maior proporção de grupos acila oléico⁹⁵. Por exemplo, em óleo de soja, girassol e milho o máximo de absorvância ocorre em $\sim 3009\text{ cm}^{-1}$ enquanto que para o azeite de oliva ocorre em $\sim 3006\text{ cm}^{-1}$. Para o óleo de quiabo observou-se um comportamento mais similar aos óleos de soja, milho e girassol.

Amostras de óleos submetidas a aumento de temperatura geralmente mostram um aumento de intensidade da banda em 2854 cm^{-1} e do ombro 2962 cm^{-1} , mas a banda em 2925 cm^{-1} reduz a sua absorção e aumenta sua largura com o aumento da temperatura⁹⁹. Nos espectros de IV para as amostras de óleo de quiabo não foi verificada nenhuma modificação destas bandas.

Outras bandas que também sofrem alterações e servem para indicar estágios mais avançados de oxidação são observadas na região espectral de 700 a 1500 cm^{-1} . A ausência de modificação destas bandas nos espectros do óleo indica que não houve mudanças estruturais decorrentes de estágios mais avançados de oxidação⁹⁹.

Os espectros de infravermelho das amostras do óleo de quiabo com TBHQ mostraram perfil semelhantes às amostras sem antioxidante, Figura 5.10. Nenhuma variação foi observada nas bandas de absorção passíveis de modificações com a degradação do óleo.

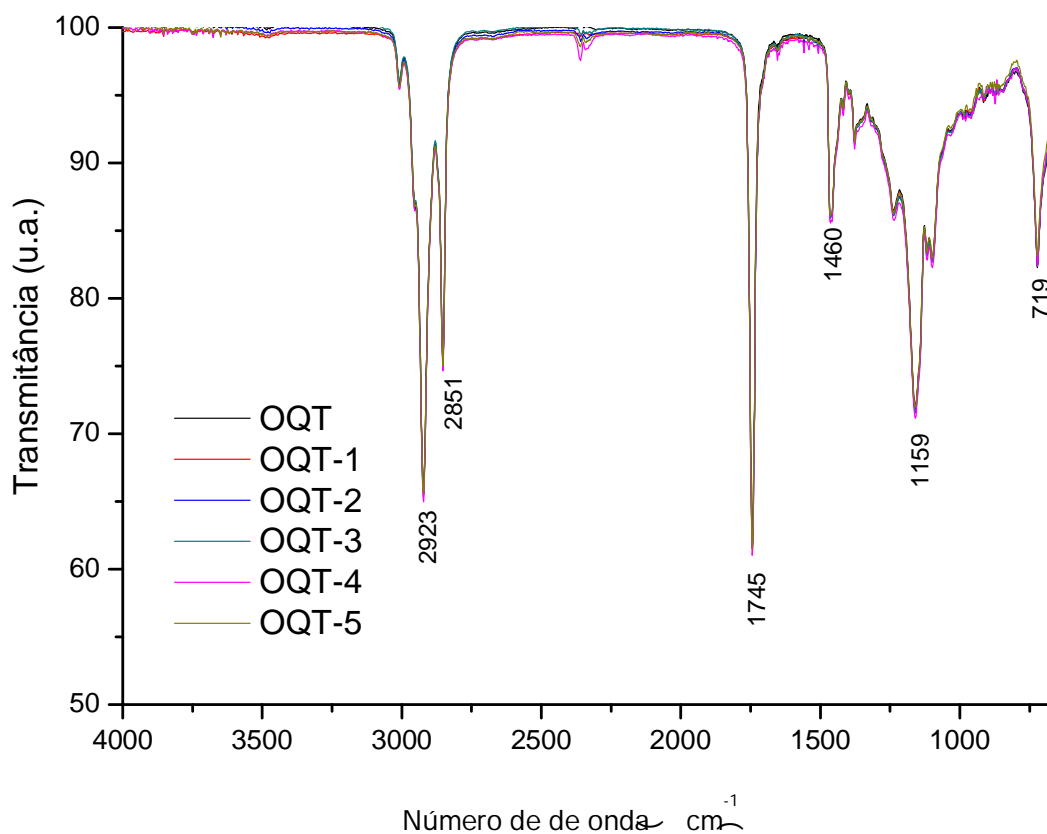


Figura 5.10 Espectro de infravermelho das amostras de óleo de quiabo (com TBHQ) antes e após envelhecimento em estufa.

5.5.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear ^1H e ^{13}C

O espectro de RMN ^1H do óleo de quiabo mostrou sinais característicos de triacilglicerídeos, Figura 5.11. As atribuições dos sinais dos hidrogênios foram feitas de acordo com a literatura^{95,97, 100}.

O sinal dos hidrogênios metílicos ($-\text{CH}_3$) foi observado como um multipletto em 0,84 ppm, em consequência sobreposição dos tripletos dos hidrogênios metílicos. Isto ocorre devido os óleos vegetais conterem várias proporções de oléico, linoléico e grupos saturados, dando sinais com diferentes intensidades e formas dependendo desta proporção.

Outro sinal presente em todos os óleos é causado pelos hidrogênios metilênicos $[-(\text{CH}_2)_n-]$ na posição β em relação à ligação dupla ou γ em

relação ao grupo carbonila. O deslocamento químico destes hidrogênios metilênicos foi observado entre 1,22 a 1,31 ppm.

Os hidrogênios metilênicos na posição β ($-\text{OCO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$) em relação ao grupo carbonila apresentaram sinal em 1,58 ppm.

O sinal entre 1,97 a 2,03 é devido aos hidrogênios metilênicos α em relação a uma dupla ligação ($-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$), também chamado de hidrogênios alílicos.

Os hidrogênios metilênicos em posição α ($-\text{OCO}-\text{CH}_2-$) em relação ao grupo carbonila apresentaram sinal entre 2,25 e 2,29. Este sinal não mostra diferenças significantes na multiplicidade ou deslocamento químico RMN ^1H nos espectros de óleos, não sendo útil para diferenciá-los¹⁰⁰.

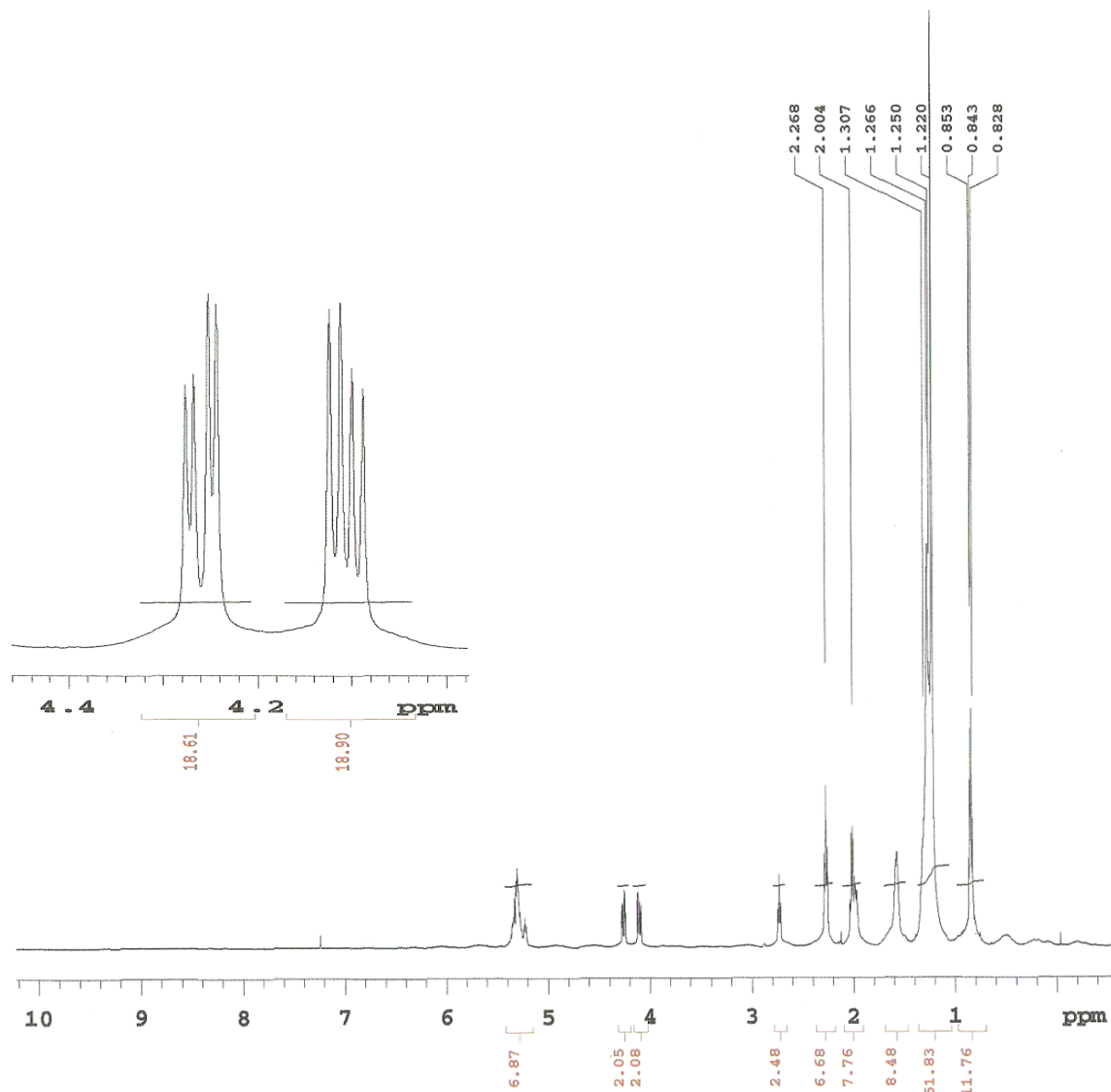


Figura 5.11 Espectro de RMN ^1H do óleo de quiabo, usando TMS como padrão interno e CDCl_3 como solvente.

O sinal correspondente aos hidrogênios metilênicos na posição α ($=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{}$), em relação a duas ligações duplas, também chamados de *bis*-alilílicos foi notado 2,73 ppm. Este sinal é devido aos grupos acila linoléico e linolênico.

O sinal em 4,09 a 4,28 ppm corresponde aos hidrogênios metilênicos do átomo de carbono 1 e 3 do grupo glicerila ($-\text{CH}_2\text{OCOR}-$), enquanto que o hidrogênio do carbono 2 foi observado em 5,23 ppm ($-\text{CHOCOR}$). Este último sinal sobrepõe fracamente com o sinal em 5,26-5,35 ppm devido aos hidrogênios olefínicos ($-\text{CH}=\text{CH}-$) dos diferentes grupos acila.

O espectro de RMN ^{13}C do óleo de quiabo foi obtido utilizando a técnica Attached Proton Test (APT), adotando amplitude positiva para os grupos CH_2 e C e negativa para os grupos CH_3 e CH , Figura 5.12.

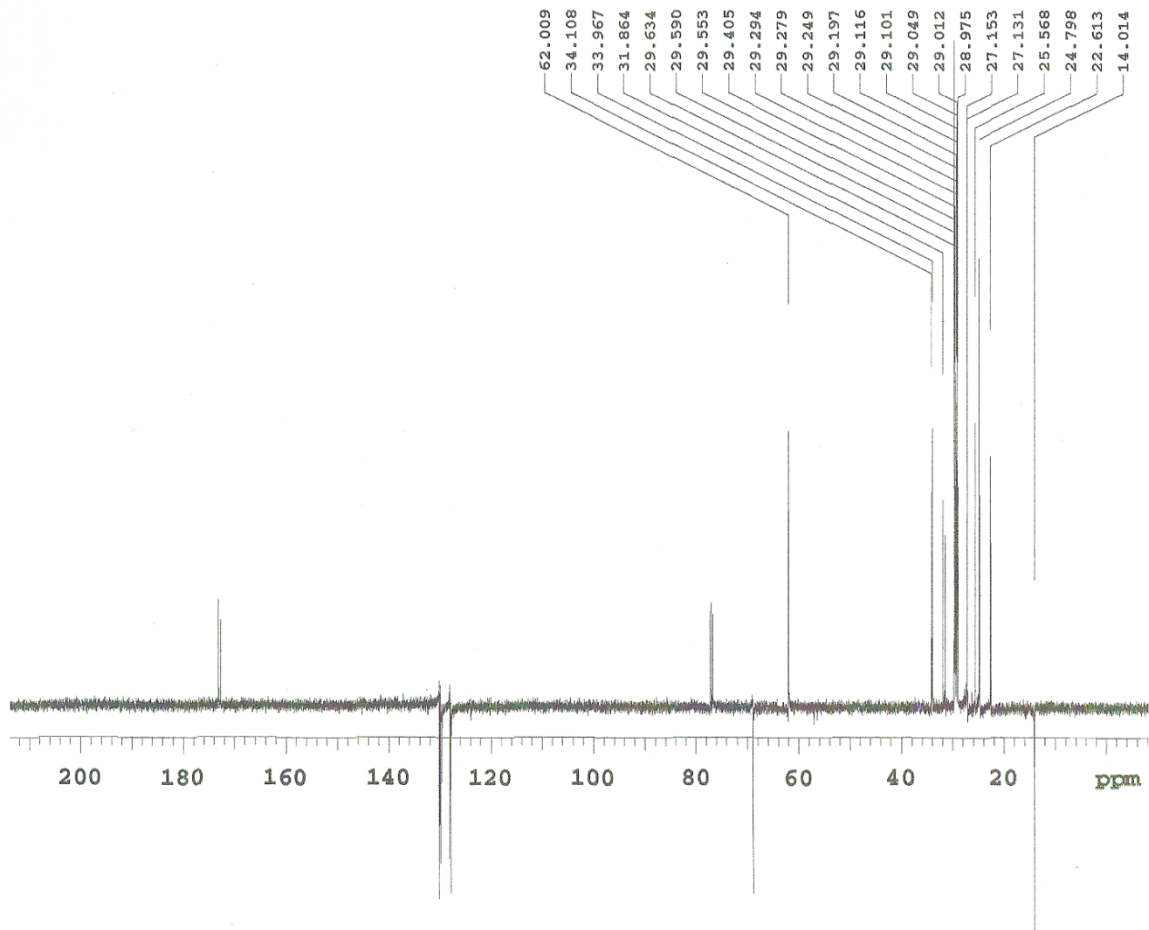


Figura 5.12 Espectro de RMN ^{13}C do óleo de quiabo usando a técnica APT e CDCl_3 como solvente.

Os sinais do espectro de RMN ^{13}C podem ser agrupados em quatro regiões espectrais bem definidas. Os carbonos carbonílicos variando de 173,3 a 172,8 ppm; carbonos insaturados variando de 132,0 a 127,0 ppm; carbonos do glicerol variando de 69,1 a 61,6 ppm e carbonos alifáticos variando 34,3 a 14,0 ppm¹⁰¹.

As Figuras 5.13 e 5.14 mostram regiões expandidas do espectro de RMN ^{13}C a fim de facilitar a observação dos sinais característicos do TAG. O sinal dos carbonos carbonílicos no espectro do óleo quiabo foi observado entre 172,7 a 173,1 ppm. Em 68,9 ppm e 62,0 ppm foram observados os sinais do carbono metínico ($-\text{CH}-$) e metilênicos ($-\text{CH}_2-$) do glicerol. Nove sinais na região de carbonos insaturados foram observados na região de 127,8 a 130,1 ppm. Observaram-se ainda sinais entre 22,5 a 34,1 ppm correspondente aos carbonos dos grupos metilênicos ($-\text{CH}_2-$) da cadeia do ácido graxo e um sinal em 14,0 ppm pertencente ao grupo metila terminal ($\text{H}_3\text{C}-$).

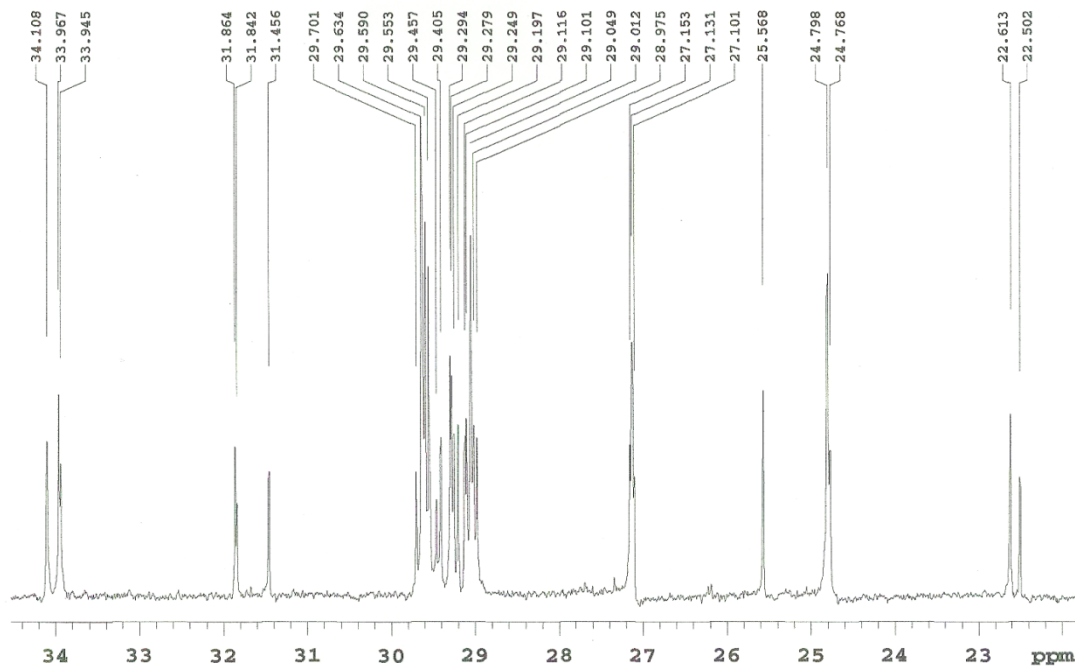


Figura 5.13 Espectro de RMN ^{13}C do óleo de quiabo (região de 20-35 ppm).

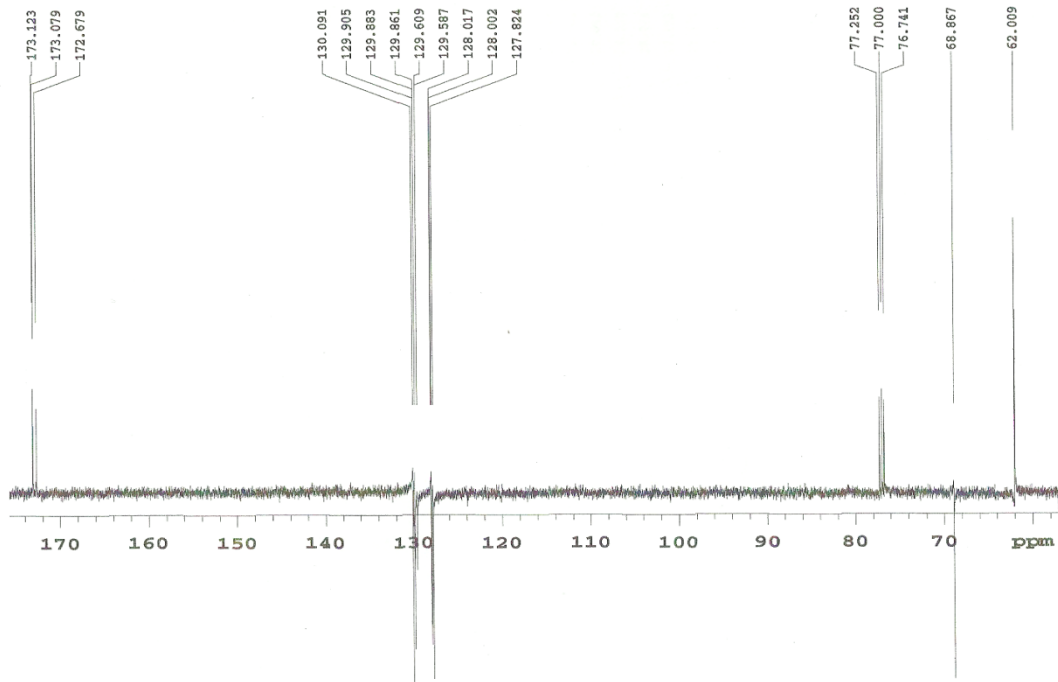


Figura 5.14 Espectro de RMN ^{13}C do óleo de quiabo (região de 60-175 ppm).

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C de óleos contêm uma grande quantidade de informações que, convenientemente estudadas permite discriminar entre óleos de diferentes composições. O estudo realizado por Vlahov mostrou a aplicação das técnicas de RMN para avaliar óleos de oliva, tais como adulterações e matéria insaponificável¹⁰².

5.6 Estabilidade Térmica por Análise Termogravimétrica

A decomposição térmica do óleo de quiabo foi avaliada através da análise termogravimétrica em atmosfera de oxigênio. Nas curvas TGA e DrTGA foram constatados 3 eventos térmicos com perda de massa, Figura 5.15.

O primeiro evento de decomposição ocorreu na faixa 195–405 °C com perda de massa de 70 %, atribuído à decomposição de ácidos graxos insaturados como o ácido oléico e linoléico (52 % da composição de ácidos presentes no óleo de quiabo). O segundo evento (405–472 °C) com 22 % de perda de massa e o terceiro com perda de massa de 7 % na faixa de 472–600 °C.

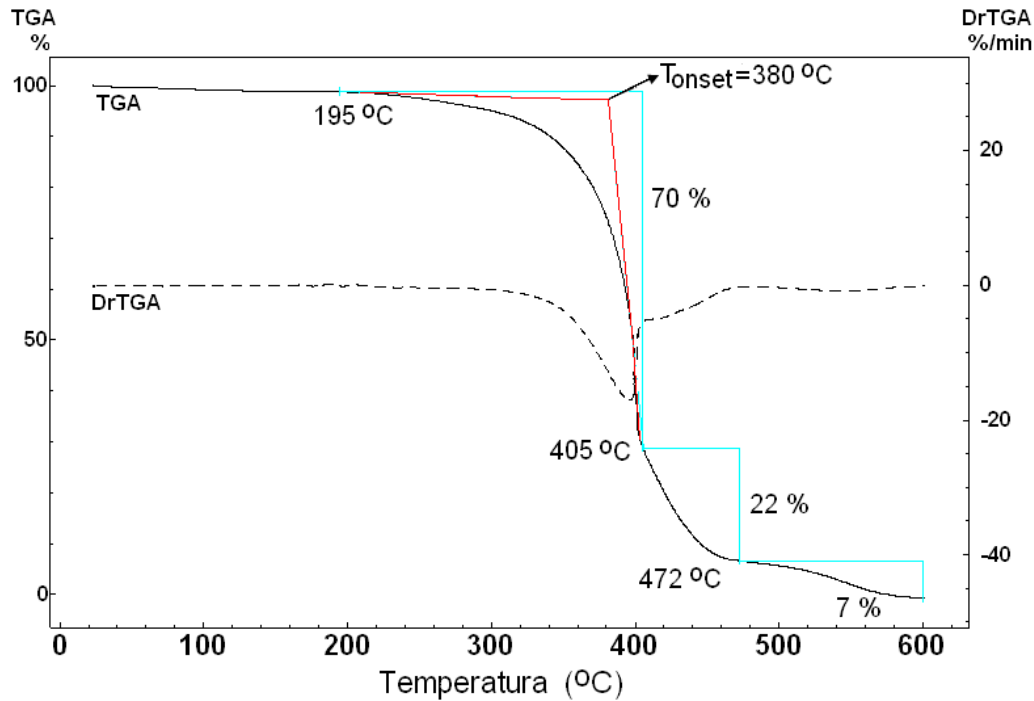


Figura 5.15 Curvas de TGA/DrTGA do óleo quiabo em atmosfera de oxigênio e taxa de aquecimento de 10 °C/min .

Os óleos de vegetais geralmente contém impurezas como ácidos graxos livres e são submetidos ao processo de refino para melhorar a qualidade final, por exemplo, a estabilidade térmica. O óleo de quiabo mostrou boa estabilidade térmica com início da degradação em 195 °C, sendo este valor próximo à temperatura usada em frituras de alimentos (200 °C).

Utilizando a temperatura *onset* (T_{onset}) como parâmetro foi verificado que o óleo de quiabo apresentou melhor estabilidade térmica (380 °C) em relação aos óleos de oliva, girassol, canola, soja e milho. A ordem crescente de estabilidade térmica das amostras de óleo foi: oliva < girassol-canola-soja < milho¹⁰³. Este resultado sugere que o teor mais elevado de ácidos saturados (33,8 %) em relação aos demais óleos seja o responsável pela melhor estabilidade térmica do óleo de quiabo.

A decomposição térmica das amostras de óleo de quiabo envelhecidas em estufa é mostrada nas curvas TGA, Figura 5.16. Semelhantemente à curva do óleo antes do teste de envelhecimento foi constatada a mesma temperatura inicial de decomposição e T_{onset} . Entretanto as curvas apresentaram apenas 2 eventos térmicos com perda de massa de 96 % e 4 %, na faixa de 196-477 °C e 477-600 °C, respectivamente.

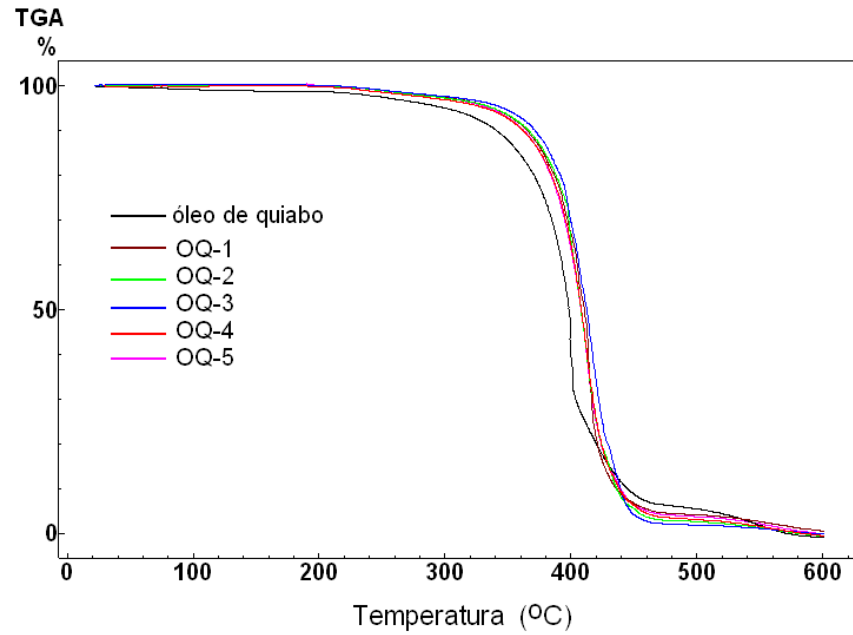


Figura 5.16 Curvas de TGA de amostras do óleo quiabo sem TBHQ em atmosfera de oxigênio e taxa de aquecimento de 10 °C/min.

Os eventos verificados nas curvas de TGA foram transições exotérmicas, conforme evidenciado na curva de DTA, Figura 5.17. Estes eventos são característicos de decomposição/combustão, além da possível polimerização do material. O primeiro evento exotérmico ocorreu com maior liberação de energia com temperatura máxima ($T_{\text{máx}}$) de 390 °C, próxima à T_{onset} .

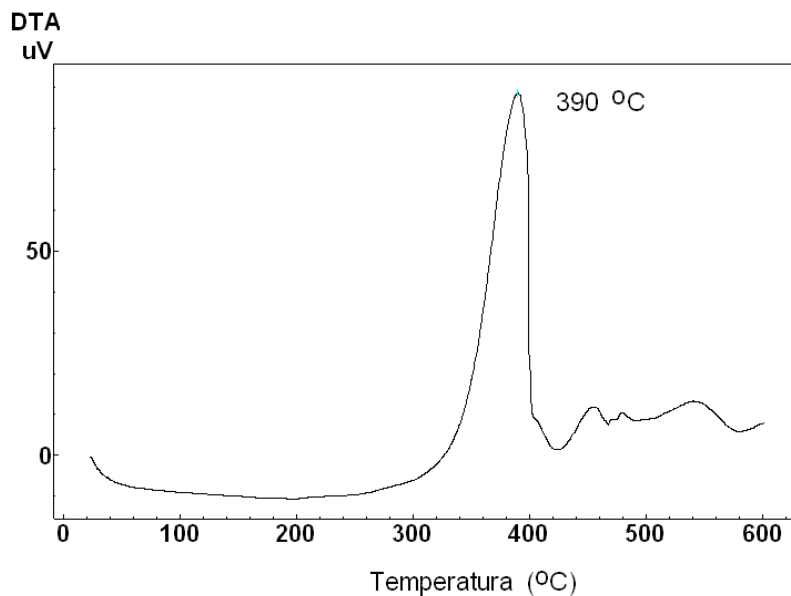


Figura 5.17 Curva de DTA do óleo de quiabo em atmosfera de oxigênio e taxa de aquecimento de 10 °C/min.

A decomposição térmica das amostras de óleo de quiabo com TBHQ e envelhecidas em estufa é mostrada nas curvas TGA, Figura 5.18. As curvas mostraram perfil semelhante às amostras sem antioxidante, exceto um valor de T_{onset} ($392\text{ }^{\circ}\text{C}$) maior para a amostras aditivadas. As curvas apresentaram 2 eventos térmicos com perda de massa de 98 % e 2 %, na faixa de $196\text{-}472\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $472\text{-}600\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente.

Este resultado demonstra que o antioxidante minimiza a degradação térmica do óleo.

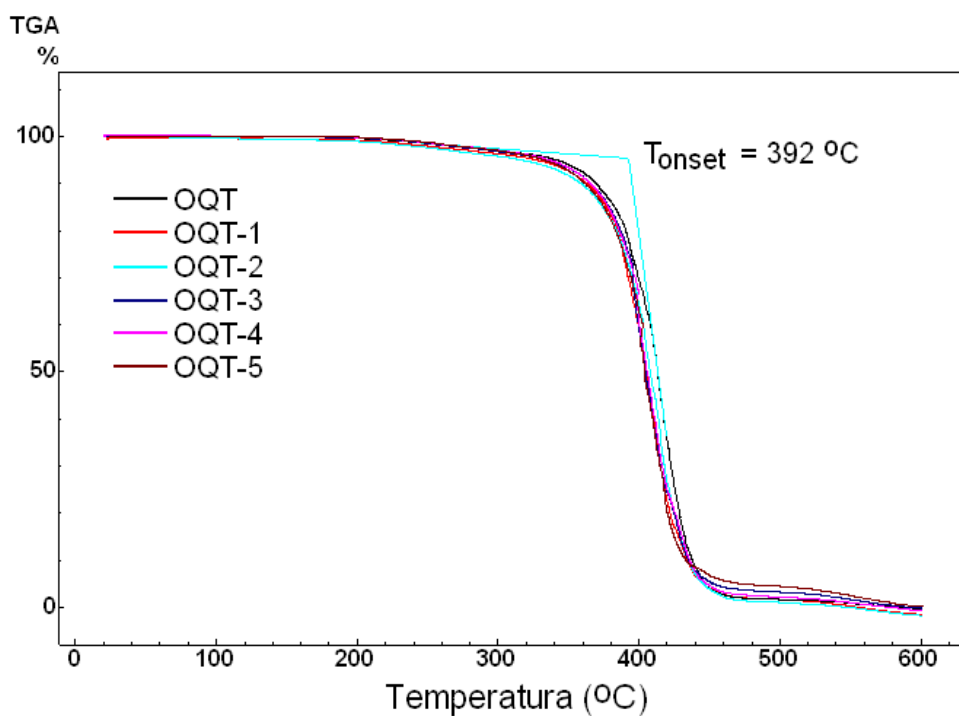


Figura 5.18 Curvas de TGA de amostras do óleo quiabo com TBHQ em atmosfera de oxigênio e taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

5.7 Estabilidade Oxidativa por Métodos Convencionais e Acelerados

5.7.1 Índice de peróxido

Conforme mencionado anteriormente, a degradação do óleo foi acelerada pela presença da atmosfera oxidante e do aquecimento, e a cinética da reação foi mais lenta para as amostras aditivadas com TBHQ, Figura 5.19.

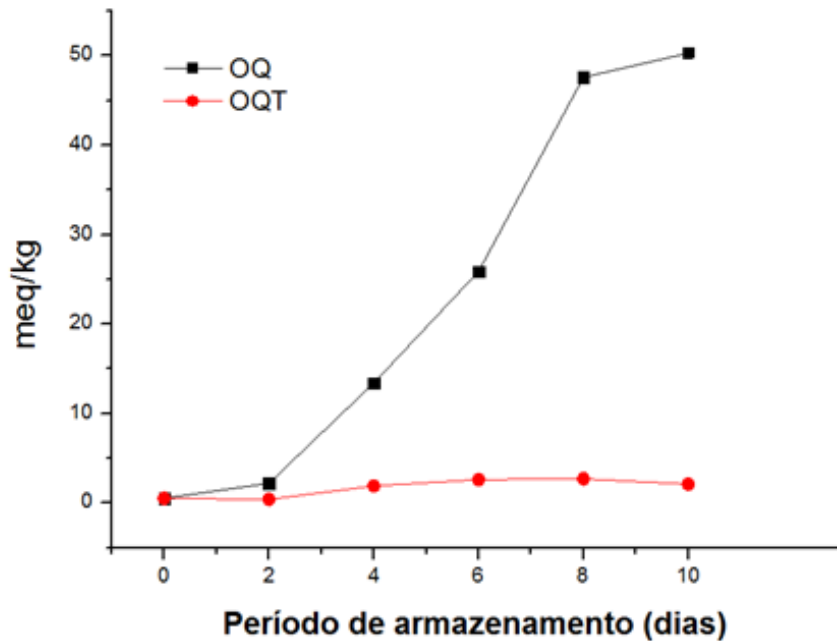


Figura 5.19 Gráfico comparativo do índice de peróxido das amostras de óleo de quiabo sem e com TBHQ envelhecidas em estufa.

Os resultados de IP mostram maior estabilidade oxidativa das amostras do óleo de quiabo com antioxidante, pois os valores de IP quase não alteram ao longo do teste em estufa. Entretanto, este índice não deve ser utilizado sozinho para presumir a estabilidade de um óleo e sim associado a outros parâmetros, tais como acidez, dienos conjugados e iodo. Os valores de acidez mostraram pouca variação para ambas as amostras (com e sem TBHQ), mas isso pode ser explicado visando o estágio inicial da degradação dos hidroperóxidos. Os coeficientes de absorvidade específica (E) também apontam maior estabilidade para as amostras com antioxidante e permaneceram quase inalterados ao longo do teste em estufa.

5.7.2 Método Rancimat

O monitoramento do processo oxidativo das amostras de óleo em função do tempo de envelhecimento foi avaliado determinando-se os períodos de indução (PI) através do método Rancimat. A Figura 5.20 apresenta o gráfico obtido no método para análise da amostra de óleo antes do teste em estufa.

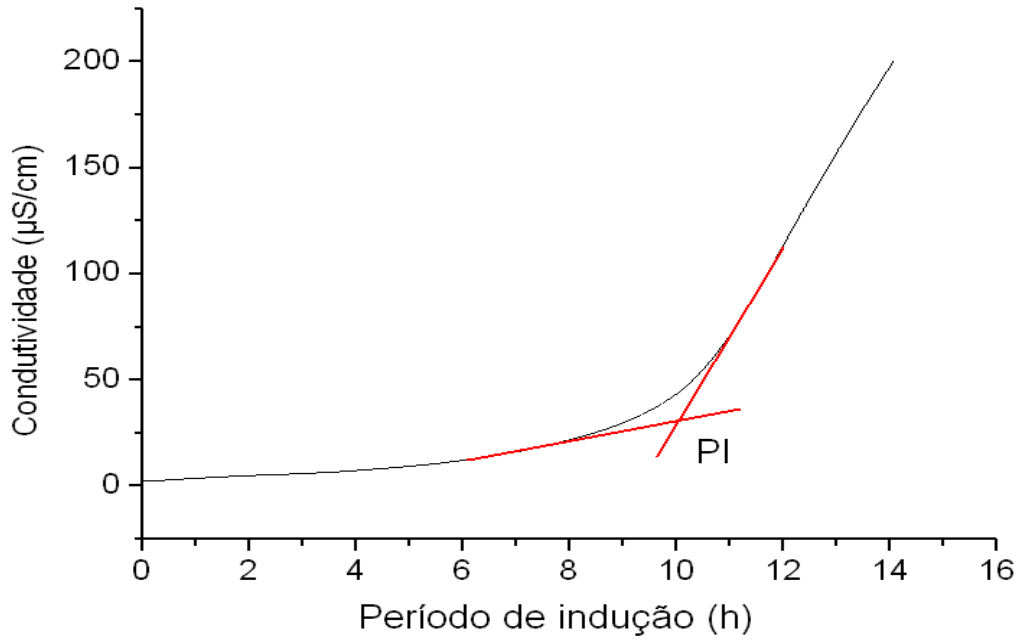


Figura 5.20 Gráfico comparativo da condutividade *versus* período de indução do óleo de quiabo sem antioxidante antes do teste em estufa.

A Tabela 5.6 mostra os resultados de período de indução obtidos pelo método acelerado Rancimat para as amostras de óleo (com e sem TBHQ) ao longo do teste em estufa.

Tabela 5.6 Valores de período de indução para as amostras de óleo de quiabo submetidas ao teste em estufa.

Amostras	Tempo de envelhecimento (dia)	Período de Indução (h) Método Rancimat
OQ	0	10,4
OQ-1	2	9,8
OQ-2	4	8,3
OQ-3	6	7,1
OQ-4	8	5,9
OQ-5	10	5,0
OQT a OQT-5	0 a 10	> 30

A Figura 5.21 mostra que durante o teste em estufa o período de indução diminuiu quase linearmente para as amostras sem aditivo. Em relação ao índice de peróxido, que aumentou com o tempo de envelhecimento, nenhuma correlação pode ser observada.

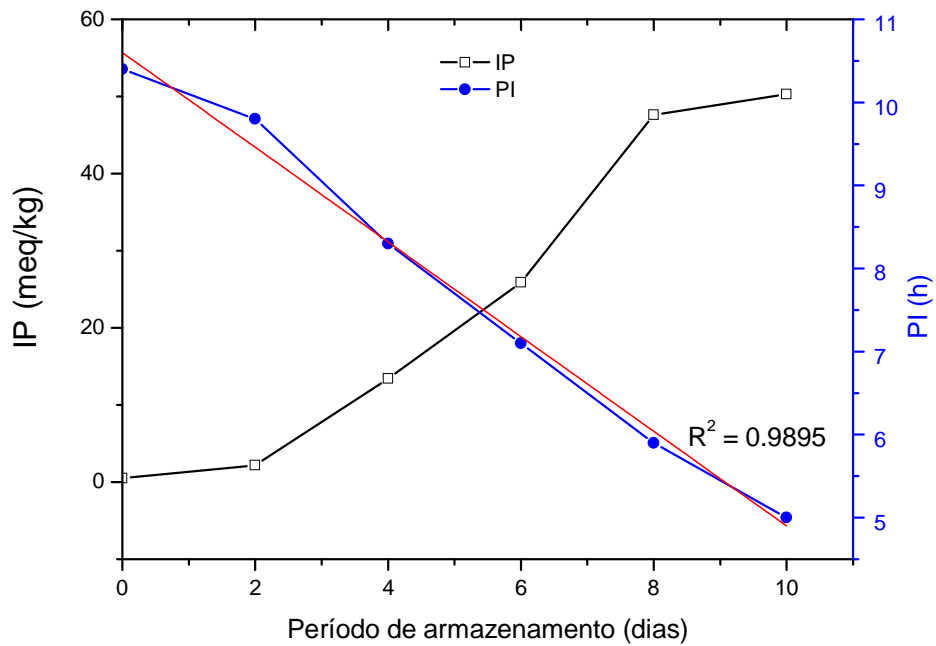


Figura 5.21 Gráfico comparativo do período de indução *versus* índice de peróxido das amostras de óleo de quiabo envelhecidas em estufa.

A relação entre a estabilidade oxidativa pelo método Rancimat e o método não acelerado índice de peróxido inferiu correlação inversa. A curva ajustada aos pontos da Figura 5.22 apresentou melhor correlação polinomial.

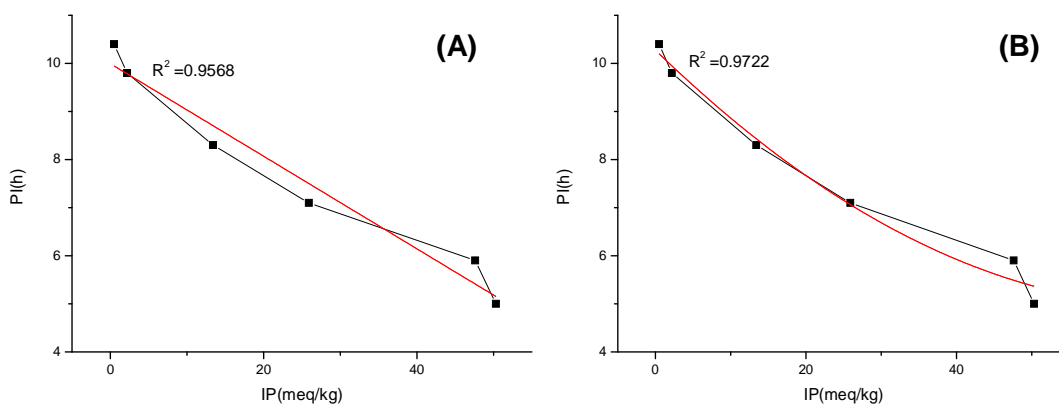


Figura 5.22 Correlação do período de indução com índice de peróxido das amostras de óleo de quiabo envelhecidas em estufa. (A) Ajuste linear; (B) Ajuste polinomial.

5.7.3 Calorimetria diferencial de varredura pressurizada

O acompanhamento do processo oxidativo das amostras de óleo de quiabo em função do tempo de envelhecimento também foi realizado por Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada (PDSC). Similarmente ao método Rancimat, as amostras com mais tempo de envelhecimento apresentaram menor estabilidade oxidativa, ou seja, menor tempo de indução oxidativa.

A Tabela 5.7 mostra os valores de tempo de indução oxidativa e da temperatura de oxidação obtidos pelas curvas de PDSC isotérmicas e dinâmicas.

Tabela 5.7 Valores de tempo de indução oxidativa e temperatura de oxidação para as amostras de óleo de quiabo submetidas ao teste em estufa.

Amostras	Tempo de envelhecimento (dia)	PDSC	
		* OIT (h)	** OT (°C)
OQ	0	3,5	155
OQ-1	2	3,4	155
OQ-2	4	2,6	155
OQ-3	6	2,1	155
OQ-4	8	2,0	155
OQ-5	10	1,7	155
OQT	0	5,6	180
OQT-1	2	5,4	181
OQT-2	4	5,3	180
OQT-3	6	5,5	180
OQT-4	8	5,3	180
OQT-5	10	5,4	181

* OIT = tempo de indução oxidativo obtido das curvas isotérmicas a 110 °C;

** OT = temperatura de oxidação obtida das curvas dinâmicas.

As curvas dinâmicas de PDSC das amostras de óleo de quiabo sem antioxidante mostraram comportamento similar ao longo do teste de estufa, Figura 5.23. Em relação às curvas dinâmicas das amostras com TBHQ, o perfil foi semelhante, exceto para um valor superior da temperatura de oxidação, Figura 5.24. As transições exotérmicas observadas podem ser atribuídas ao processo de oxidação, seguida de polimerização da cadeia dos triacilglicerídeos e combustão.

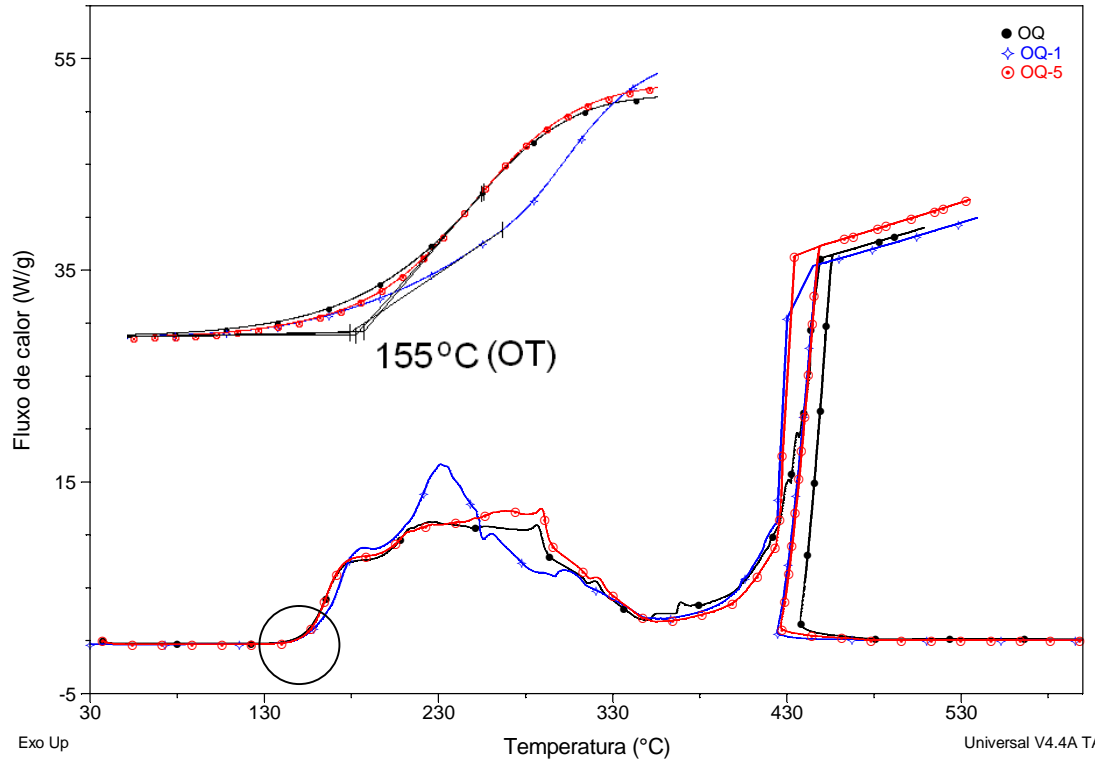


Figura 5.23 Curvas PDSC dinâmicas do óleo de quiabo sem TBHQ antes e após o décimo dia de aquecimento a 60 °C. Em destaque, as temperaturas de oxidação.

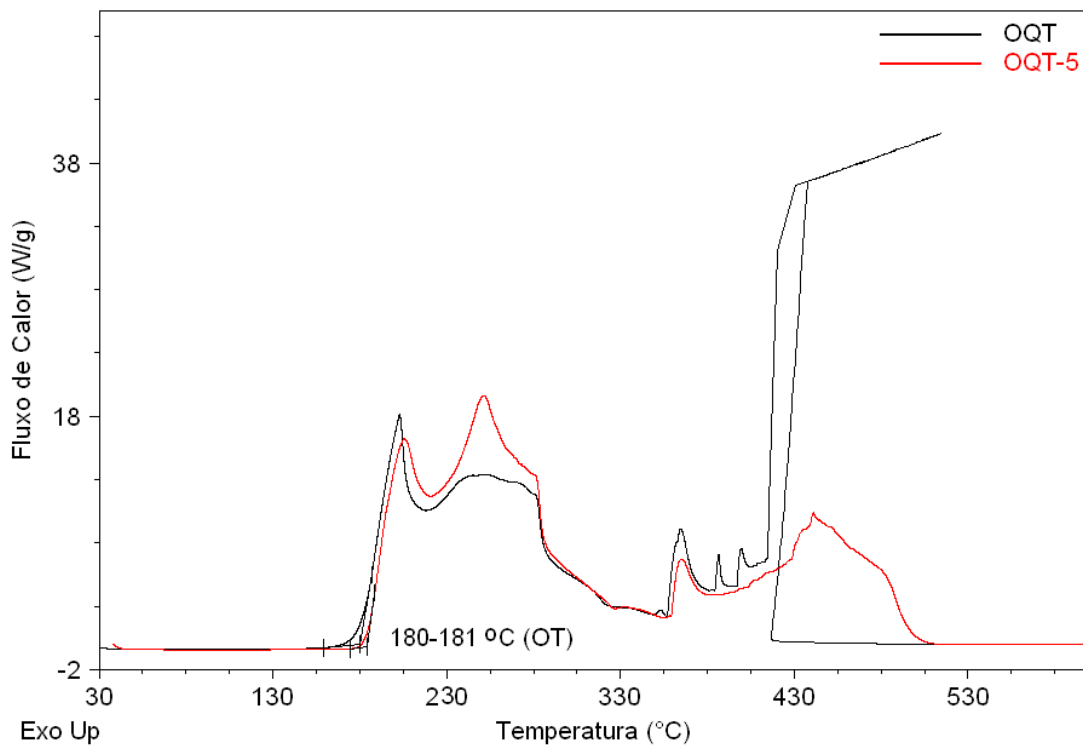


Figura 5.24 Curvas PDSC dinâmicas do óleo de quiabo com TBHQ antes e após o décimo dia de aquecimento a 60 °C. Em destaque, as temperaturas de oxidação.

Do mesmo modo que o método Rancimat, a técnica PDSC mostrou a mesma tendência de estabilidade oxidativa para as amostras, ou seja, uma diminuição no tempo de oxidação com o aumento no tempo de envelhecimento em estufa. Esse comportamento observado durante este período está diretamente relacionado com a concentração de peróxidos e hidroperóxidos no meio, necessários para iniciar a segunda etapa do processo oxidativo¹⁰⁴. As curvas PDSC isotérmicas das amostras de óleo sem TBHQ antes e após o envelhecimento em estufa são apresentadas na Figura 5.25.

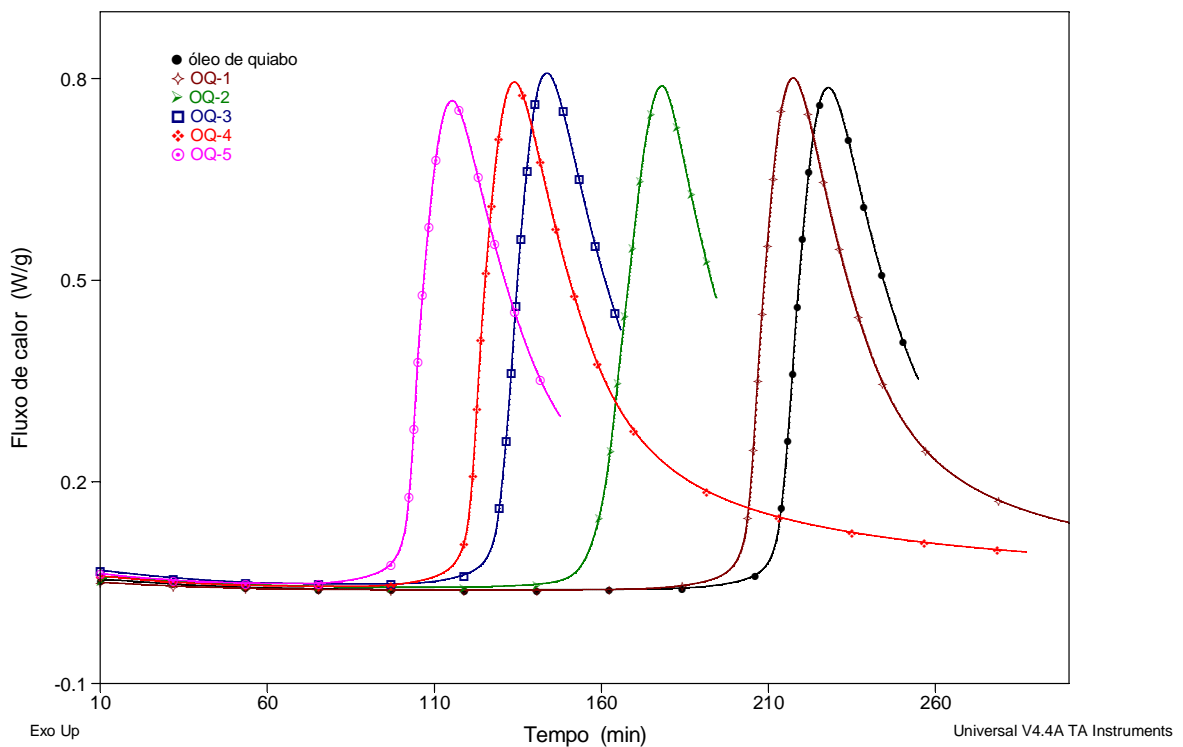


Figura 5.25 Curvas PDSC isotérmicas comparando a estabilidade oxidativa do óleo de quiabo antes e após o teste de estufa.

As curvas isotérmicas de PDSC das amostras de óleo sem TBHQ antes e após aquecimento em estufa confirmam a relação da concentração de hidroperóxidos no meio, pois a amostra com maior concentração de hidroperóxidos (OQ-5; 50,3 meq/kg) apresentou menor OIT do que óleo sem aquecimento (0,5 meq/kg). Este resultado indica que na amostra OQ-5 existia uma maior quantidade de moléculas de triacilglicerídeo oxidadas. Portanto, as colisões entre o oxigênio e as moléculas neutras ocorreram mais facilmente levando a oxidação do triacilglicerídeo a hidroperóxidos.

A estabilidade do óleo de quiabo foi comparada com óleos comestíveis comercialmente disponíveis utilizando a técnica PDSC. É conhecido que esses óleos têm uma vida útil de prateleira de no mínimo 6 meses e, portanto boa estabilidade oxidativa.

A Figura 5.26 apresenta as curvas isotérmicas de PDSC do óleo de quiabo e as dos óleos comerciais soja, milho e girassol. O tempo de indução oxidativa indicou a seguinte tendência oxidativa: girassol >soja >milho >óleo de quiabo. Esse fato pode ser explicado pela composição de ácidos graxos presente no triacilglicerídeo⁴⁰. Diferentemente dos demais óleos apresenta maior teor de ácidos saturados. Além disso, a literatura reporta que o óleo de quiabo contém antioxidantes naturais como tocoferóis ($656-782 \text{ mg.kg}^{-1}$)²⁶.

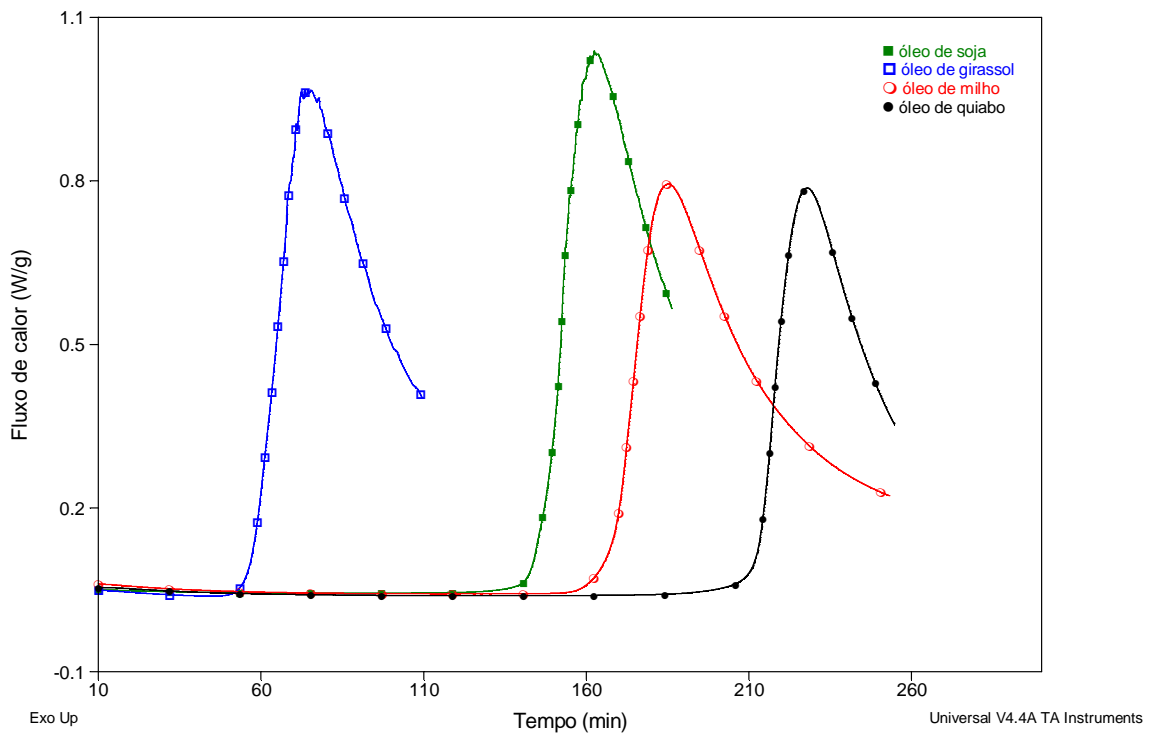


Figura 5.26 Curvas PDSC isotérmicas comparando a estabilidade oxidativa do óleo de quiabo com os óleos comestíveis de soja, girassol e milho.

A análise dos dados obtidos nestes experimentos mostrou que a técnica PDSC é uma ferramenta útil na determinação da estabilidade oxidativa do óleo de quiabo, uma vez esta utiliza uma quantidade pequena da amostra, além da vantagem de permitir avaliar o processo oxidativo cinético e termodinâmico.

Cabe ressaltar que nesta técnica a pressão é uma variável a mais em relação ao ensaio realizado pelo método Rancimat, e com isso o tempo de envelhecimento da amostra é mais acelerado.

Em relação à comparação da técnica PDSC com o método Rancimat foi observado que não se pode estabelecer uma correlação. Apesar de apresentarem alguns princípios em comum, no geral estes investigam estágios distintos do complexo processo oxidativo do triacilglicerídeo, sugerindo que os mesmos são complementares nas informações e não substitutivos entre si.

CONCLUSÃO

6 Conclusão

Os resultados cromatográficos para o óleo confirmam a predominância para o ácido linoléico (33,5 %), seguido pelo ácido palmítico (25,2 %) e ácido oléico (19,3%). Verificou-se que o teor do ácido linoléico, um dos ácidos mais susceptíveis à oxidação, é menor quando comparado com os óleos de soja, girassol e milho.

Durante o envelhecimento do óleo de quiabo em estufa ocorreu um aumento do índice de peróxido, diminuição do período de indução (método Rancimat) e do tempo de indução oxidativa (PDSC) para as amostras sem antioxidante. No monitoramento para o índice de acidez e índice de refração não foi observado alteração significativa nos valores destes índices, indicando que não houve a formação de ácidos carboxílicos e/ou produtos susceptíveis de mudanças no índice de refração, independentemente das amostras conterem ou não TBHQ.

Considerando a estabilidade oxidativa dos óleos com e sem antioxidante observou pelo índice de peróxido, método Rancimat e pela técnica PDSC que as amostras aditivadas apresentaram melhor estabilidade térmica e oxidativa durante o teste de ensaio.

Através de análise termogravimétrica foi verificado que o óleo de quiabo apresentou maior estabilidade térmica que os óleos de oliva, girassol, canola, soja e milho. Além disso, as curvas PDSC isotérmicas mostraram maior estabilidade oxidativa para o óleo de quiabo comparado aos óleos comerciais de milho, girassol e soja.

O conjunto de resultados obtidos mostrou que o óleo das sementes de quiabo apresenta boa estabilidade térmica e oxidativa, sendo um indicativo de seu uso como óleo comestível. Entretanto, para aplicação na indústria de alimentos é fundamental a avaliação da toxicidade do óleo, do processo extrativo que apresente a melhor relação custo/benefício e da necessidade do processo de refino para consumo.

O teor de ácidos saturados maior que do óleo de soja, principal oleaginoso usada na produção do biodiesel brasileiro, é um indicativo que o

óleo de quiabo pode ser utilizado como matéria-prima para biodiesel. No entanto, é necessária a avaliação do custo de produção da fonte oleaginosa (quiabo), além da determinação dos parâmetros físico-químicos com vistas a atender às especificações exigidas pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis.

REFERÊNCIAS

7 Referências

- ¹ JARRET RL, WANG ML, LEVY IJ. Seed Oil and Fatty Acid Content in Okra (*Abelmoschus esculentus*) and Related Species. *J. Agric. Food Chem.* **2011** 59:4019-4024.
- ² ARUOMA OI. Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease. *J. Am. Chem. Soc.* **1998** 75:199-212.
- ³ ANVISA. RDC nº 482, de 23 de setembro de 1999. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais. DOU, Brasília, p.82-87, 1999.
- ⁴ LEHNINGER AL, NELSON DL, COX MM. Lehninger: Princípios de Bioquímica. 4ed. Sarvier, 2007.
- ⁵ GUNSTONE F. The Chemistry of Oils and Fats: Sources, Composition, Properties and Uses. Wiley-Blackwell, 2009.
- ⁶ SOLOMONS TWG, FRYHLE CB. Química Orgânica. 9ed. LTC, 2009.
- ⁷ GUNSTONE FD, HARWOOD JL, DIJKSTRA AJ. The Lipid Handbook. 3ed. CRC Press, 2007.
- ⁸ MORETTO E, FETT R. Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na Indústria de Alimentos. Livraria Varela, 1998.
- ⁹ O'BRIEN RD. Fats and Oil: Formulating and Processing for Applications. 3ed. CR Press, 2009.
- ¹⁰ GUNSTONE FD. Oils and Fats in Food Industry: Food Industry Briefing Series. Wiley-Blackwell, 2008.
- ¹¹ GUNSTONE FD. Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses. 2ed. Wiley-Blackwell, 2011.
- ¹² UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Foreign Agricultural Service. Oilseeds: World Market and Trade Archives. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/oilseeds_arc.asp>. Acessado em: 13 de ago. 2011.
- ¹³ UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Foreign Agricultural Service. Global Agricultural Information Network: Brazil, Oilseeds and Products Annual, 2010 Annual Oilseeds Report, GAIN Report Number: BR0607. Disponível em: <<http://www.gain.fas.usda.gov>>. Acessado em: 29 de set. 2011.
- ¹⁴ ABIOVE. Disponível em: <http://www.abiove.com.br/balanco_br.html>. Acessado em: 01 de ago. 2011.

-
- ¹⁵ ABIOVE. Disponível em: <http://www.abiove.com.br/palestras_ago11.pdf>. Acessado em: 30 de set. 2011.
- ¹⁶ MULLER JJV. Produção de Sementes de Quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). In: MULLER JJV, CASALI VWD. Seminários de Olericultura. v1. 2ed. Viçosa: UFV, 1982.
- ¹⁷ DHANKAR BS, SINGH R. Okra Handbook: Global Production, Processing, and Crop Improvement. HBB Pub., 2009.
- ¹⁸ SERIES OF CROP SPECIFIC DOCUMENTS: Biology of Okra. Department of Biotechnology, Ministry of Science & Technology, Government of India.
- ¹⁹ PEDROSA JF, MIZUBUTI A, CASALI VWD, CAMPOS, JP. Caracterização Morfológica de Introduções de Quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *Horticultura Brasileira*. **1983** 1:14-23.
- ²⁰ DUZYAMAN E. Okra: Botany and Horticulture. In: Horticultural Reviews. v21. John Wiley & Sons Inc., 1997.
- ²¹ MOTA WF, FINGER FL, CASALI VWD. Olericultura: Melhoramento Genético do Quiabeiro. Viçosa: UFV, 2000.
- ²² NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Lost Crops of Africa: Vegetables. v2. The National Academies Press, 2006.
- ²³ ARAPITSAS P. Identification and Quantification of Polyphenolic Compounds from Okra Seeds and Skins. *Food Chemistry*. **2008** 110:1041-1045.
- ²⁴ CAMCIUC M, DEPLAGNE M, VILAREM G, GASET A. Okra – *Abelmoschus esculentus* L. (Moench) a Crop with Economic Potential for Set Aside Acreage in France. *Industrial Crops and Products*. **1998** 7:257-264.
- ²⁵ JORGE N, SOARES BBP, LUNARDI VM, MALACRIDA CR. Alterações Físico-químicas dos Óleos de Girassol, Milho e Soja em Frituras. *Quim. Nova*. **2005** 28:947-951.
- ²⁶ ANWAR F, RASHID U, MAHMOOD Z, IQBAL T, SHERAZI TH. Inter-Varietal Variation in the Composition of Okra (*Hibiscus Esculentus* L.) Seed Oil. *Pak. J. Bot.*, **2011** 43:271-280.
- ²⁷ HOLSERA RA, BOST G. Hybrid *Hibiscus* Seed Oil Compositions. *JAOCs*. **2004** 81:795-797.
- ²⁸ INOMOTO MM, SILVA RA, PIMENTEL JP. Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* e *P. coffeae* em Quiabeiro. *Fitopatol. bras*. **2004** 29:551-554.
- ²⁹ ANWAR F, RASHID U, ASHRAF M, NADEEM M. Okra (*Hibiscus esculentus*) Seed Oil for Biodiesel Production. *Applied Energy*. **2010** 87:779-785.
- ³⁰ ADELAKUN OE, OYELADE OJ, ADE-OMOWAYE BIO, ADEYEMI IA, VAN DE VENTERB M. Chemical Composition and the Antioxidative Properties of Nigerian Okra Seed (*Abelmoschus esculentus* Moench) Flour. *Food and Chemical Toxicology*. **2009** 47:1123-1126.

-
- ³¹ Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats, & Waxes (edited by Firestone D.). 2ed. AOCS Press, 2006.
- ³² United States Pharmacopeia and National Formulary (USP27-NF22). The United States Pharmacopeia – USP 27, 2009.
- ³³ Refractive Index. Encyclopædia Britannica Online 2011. Disponível em: <<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/495677/refractive-index>>. Acessado em: 09 de out. 2011.
- ³⁴ YUNUS WMM, FEN YW, YEE LM. Refractive Index and Fourier Transform Infrared Spectra of Virgin Coconut Oil and Virgin Olive Oil. *American Journal of Applied Sciences*. **2009** 6:328-331.
- ³⁵ KNOTHE G. Structure Indices in FA Chemistry. How Relevant Is the Iodine Value? *JAOCS*. **2002** 79:847-854.
- ³⁶ HAMILTON RJ. Lipid Analysis in Oils and Fats. 1ed. Springer, 1997.
- ³⁷ NIELSEN SS. Food Analysis. 4ed. Springer, 2010.
- ³⁸ PEGG RB. Measurement of Primary Lipid Oxidation Product Current Protocols in Food Analytical Chemistry, D2.1.1-D2.1.15, 2001.
- ³⁹ SIDDIQUE BM, AHMAD A, IBRAHIM MH, HENA S, RAFATULLAHB M, MOHD OMAR AK. Physico-chemical Properties of Blends of Palm Olein with Other Vegetable Oils. *Grasas y Aceites*. **2010** 61:423-429.
- ⁴⁰ KIM J, KIM DN, LEE SH, YOO S-H, LEE S. Correlation of Fatty Acid Composition of Vegetable Oils with Rheological Behaviour and Oil Uptake. *Food Chemistry*. **2010** 118:398-402.
- ⁴¹ BONNET J-P, DEVESVRE L, ARTAUD J, MOULIN P. Dynamic Viscosity of Olive Oil as a Function of Composition and Temperature: A First Approach. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. **2011** 113:1019-1025.
- ⁴² SILVA FAM, BORGES MFM, FERREIRA MA. Métodos para Avaliação do Grau de Oxidação Lipídica e da Capacidade Antioxidante. *Quím. Nova*. **1999** 22:94-103.
- ⁴³ LIMA ES, ABDALLA DSP. Peroxidação Lipídica: Mecanismos e Avaliação em Amostras Biológicas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. **2001** 37:293-303.
- ⁴⁴ FREEDMAN BE, BAGBY MO. Heat of Combustion of Fatty Esters and Triglycerides. *JAOCS*. **1989** 66:1601-1605.
- ⁴⁵ PRANKL H, SCHINDLBAUER H. Oxidation Stability of Fatty Acid Methyl Esters. *10th European Conference on Biomass for Energy and Industry*. Würzburg, Germany, 1998, 8-11.
- ⁴⁶ The Coordinating Research Council, Task 1 Results, CRC Project No. AVFL-2b, August 2005.
- ⁴⁷ KRAUT SF. Food Composition and Nutrition Tables. 6ed. CRC Press, 2000.

- ⁴⁸ GUINAZI M, MILAGRES RCM, PINHEIRO-SANT'ANA HM, CHAVES JBP. Tocoferóis e Tocotrienóis em Óleos Vegetais e Ovos. *Quim. Nova*, **2009** 32:2098-2103.
- ⁴⁹ BERSET C, CUVELIER ME. Méthodes d'Évaluation du Degré d'Oxydation des Lipides et de Mesure du Pouvoir Antioxydant. *Sciences des Aliments*. **1996** 16:219-245.
- ⁵⁰ FRANKEL EN. In Search of Better Methods to Evaluate Natural Antioxidants and Oxidative Stability in Food Lipids. *Trends Food Sci. Technol.* **1993** 4:220-225.
- ⁵¹ MOTHÉ CG, AZEVEDO AD. Análise Térmica de Materiais. 1ed. Antenna Edições Técnicas, 2009.
- ⁵² NETO VQ, BORA PS, DINIZ ZN, CAVALHEIRO JMO, QUEIROGA KF. *Dipteryx lacunifera* Seed Oil: Characterization and Thermal Stability. *Ciência e Agrotecnologia*. **2009** 33:1601-1607.
- ⁵³ DINIZ ZN, BORA PS, NETO VQ, CAVALHEIRO JMO. *Sterculia striata* Seed Kernel Oil: Characterization and Thermal Stability. *Grasas y Aceites*. **2008** 59:160-165.
- ⁵⁴ FARIA EA, LELES MIG, IONASHIRO M, ZUPPA TO, ANTONIOSI FILHO NR. Estudo da Estabilidade Térmica de Óleos e Gorduras Vegetais por TG/DTG e DTA. *Ecl. Quím.* **2002** 27:111-119.
- ⁵⁵ FONSECA MM, YOSHIDA MI. Análise Térmica do Óleo de Linhaça Natural e Oxidado. *Vértices*. **2009** 11:61-75.
- ⁵⁶ SANTOS JCO, SANTOS IMG, SOUZA AG, PRASAD S, SANTOS AV. Thermal Stability and Kinetic Study on Thermal Decomposition of Commercial Edible Oils by Thermogravimetry. *Journal of Food Science*. **2002** 67:1393-1398.
- ⁵⁷ ARORA S, BAGORIA R, KUMAR M. Effect of alpha-Tocopherol (Vitamin E) on the Thermal Degradation Behavior of Edible Oils. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. **2010** 102:375-381.
- ⁵⁸ VAN AARDT M, DUNCAN SE, LONG TE, O'KEEFE SF, MARCY JE, SIMS SR. Effect of Antioxidants on Oxidative Stability of Edible Fats and Oils: Thermogravimetric Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2004** 52:587-591.
- ⁵⁹ TORRECILLA JS, GARCIA J, GARCIA S, RODRIGUEZ F. Application of Lag-k Autocorrelation Coefficient and the TGA Signals Approach to Detecting and Quantifying Adulterations of Extra Virgin Olive Oil with Inferior Edible Oils. *Analytica Chimica Acta*. **2011** 688:140-145.
- ⁶⁰ BERGER KG, HAMILTON RJ. Developments in Oils and Fats. Chapman & Hall, 1995.
- ⁶¹ BOLESŁAW K. Determination of Oxidative Stability of Edible Vegetable Oils by Pressure Differential Scanning Calorimetry. *Thermochimica Acta*. **1989** 156:347-358.
- ⁶² LITWINIENKO G. Analysis of Lipid Oxidation by Differential Scanning Calorimetry. In: *Analysis of Lipid Oxidation*. (Eds. A. Kamal-Edin, J. Pokorny). AOCS Press, 2005.

- ⁶³ TAN CP, CHE MAN YB. Recent Developments in Differential Scanning Calorimetry for Assessing Oxidative Deterioration of Vegetable Oils. *Trends Food Sci Technol.* **2002** 13:312–318.
- ⁶⁴ ULKOWSKI M, MUSIALIK M, LITWINIENKO G. Use of Differential Scanning Calorimetry to Study Lipid Oxidation. 1. Oxidative Stability of Lecithin and Linolenic Acid. *J. Agric. Food Chem.* **2005** 53:9073-9077.
- ⁶⁵ LÓPEZ-BECEIRO J, ARTIAGA R, GRACIA C, TARRÍO-SAAVEDRA J, NAYA S, MIER JL. Comparison of Olive, Corn, Soybean and Sunflower Oils by PDSC. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2011** 104:169–175.
- ⁶⁶ KOWALSKI B, RATUSZ K, MICIULA A, KRYGIER K. Monitoring of Rapeseed Oil Autoxidation with a Pressure Differential Scanning Calorimeter. *Thermochimica Acta.* **1997** 307:117-121.
- ⁶⁷ OZAWA CC, GONÇALVES LAG. Oxidación lipídica y nuevos métodos analíticos de detección. *Aceites y Grasas.* **2006** 2:330-338.
- ⁶⁸ ANTONIASSI R. Métodos de Avaliação da Estabilidade Oxidativa de Óleos e Gorduras. *B. CEPPA* **2001** 19:353-380.
- ⁶⁹ MAN JM, MAN L. Automated AOM Test for Fat Stability. *J. American Oil Chemists' Society.* **1984** 61:534.
- ⁷⁰ ARAÚJO SV, LUNA FMT, ROLA JR EM, AZEVEDO DCS, CAVALCANTE JR CL. A Rapid Method for Evaluation of the Oxidation Stability of Castor Oil FAME: Influence of Antioxidant Type and Concentration. *Fuel Processing Technology.* **2009** 90:1272–1277.
- ⁷¹ PETROTEST. Disponível em: <www.petrotest.com/media/en/98-150_Oxidation_Stability-PetroOxy.pdf>. Acessado em: 23 de set. 2011.
- ⁷² OSTROWSKA-LIGEZA E, BEKAS W, KOWALSKA D, LOBACZ M, WRONIAK M, KOWALSKI B. Kinetics of Commercial Olive Oil Oxidation: Dynamic Differential Scanning Calorimetry and Rancimat Studies. *European Journal of Lipid Science and Technology.* **2010** 122:268–274.
- ⁷³ GARDNER HW. Reactions of Hydroperoxides: Products of High Molecular Weight. In: Autoxidation of Unsaturated Lipids (edited. by Chan, HW-S). Academic Press, 1987.
- ⁷⁴ INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v1: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. 3ed. IMESP, 1985.
- ⁷⁵ ASTM – American Society for Testing and Materials, 2007. Standard Test Method for Determination of Water in Petroleum Products, Lubricating Oils, and Additives by Coulometric Karl Fischer Titration. Method D 6304.
- ⁷⁶ ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2006. Petróleo e Produtos de Petróleo - Determinação da Massa Específica, Densidade Relativa e API. Método do densímetro NBR 7148.

- ⁷⁷ Official Methods and Recommended Practices of the AOCS: Fats, Oils and Lipid Related Analytical Methods. 6ed. (edited. by D. Firestone). AOCS Press, 2009. Method Cc 7-25 (Refractive Index).
- ⁷⁸ Official Methods and Recommended Practices of the AOCS: Fats, Oils and Lipid Related Analytical Methods. 6ed. (edited by D. Firestone). AOCS Press, 2009. Method Cd 1-25 (Iodine Value).
- ⁷⁹ Official Methods and Recommended Practices of the AOCS: Fats, Oils and Lipid Related Analytical Methods. 6ed. (edited by D. Firestone). AOCS Press, 2009. Method Cd 3a-94 (Calculated Saponification Value).
- ⁸⁰ ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1998. Substâncias Graxas - Determinação do Índice de Acidez. Método NBR 11115.
- ⁸¹ Official Methods and Recommended Practices of the AOCS: Fats, Oils and Lipid Related Analytical Methods. 6ed. (edited by D. Firestone). AOCS Press, 2009. Method Cd 8–53 (Peroxide Value, Acetic Acid-Chloroform).
- ⁸² ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2007. Produtos de Petróleo - Líquidos Transparentes e Opacos - Determinação da Viscosidade Cinemática e Cálculo da Viscosidade Dinâmica. Método NBR 10441.
- ⁸³ IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. 7ed. (edited by C. Paquot and A. Hautfenne). Blackwell Scientific Publications, 1987. Method 2.301 (Preparation of the Fatty Acid Methyl Esters).
- ⁸⁴ Comité Européen de Normalisation (CEN), 2003.– Fat and Oil Derivatives. Fatty Acid Methyl Esters (FAME). Determination of Oxidation Stability. Method EN 14112 (Accelerated Oxidation Test).
- ⁸⁵ VALENTINI SRT, CASTRO MFPM, ALMEIDA FH. Determinação do Teor de Umidade de Milho Utilizando Aparelho de Microondas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **1998** 18:237-240.
- ⁸⁶ AQUINO LP, FERRUA FQ, BORGES SV, ANTONIASSI R, CORREA JLG, CIRILLO MA. Influência da Secagem do Pequi (*Caryocar Brasiliense* Camb.) na Qualidade do Óleo Extraído. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2009** 29:354-357.
- ⁸⁷ CAMCIUC M, DEPLAGNE M, VILAREM G, GASET A. Okra - *Abelmoschus esculentus* L. (Moench) a Crop with Economic Potential for Set Aside Acreage in France. *Industrial Crops and Products.* **1998** 7:257–264.
- ⁸⁸ ANDRAS CD, SIMANDI B, ORSI F, LAMBROU C, TATLA DM, PANAYIOTOU C, DOMOKOS J, DOLESCHALL F. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Okra (*Hibiscus esculentus* L.) Seeds. *J. Sci. Food Agric.* **2005** 85:1415-1419.
- ⁸⁹ PHAM PJ, MILAGROS MP, PHAM JL. Lipid Structure and Analysis. In: *Advanced Research on Plant Lipids*. (Eds. Murata N, Yamada M, Nishida I, Okuyama H, Sekiya J, Hajime WK). Academic Publishers, 2002.
- ⁹⁰ LIN C-Y, CHIU C-C. Effects of Oxidation During Long-Term Storage on the Fuel Properties of Palm Oil-Based. *Energy Fuels.* **2009** 23:3285–3289.

- ⁹¹ BOUAID A, MARTINEZ M, ARACIL J. Production of Biodiesel from Bioethanol and *Brassica carinata* Oil: Oxidation Stability Study. *Bioresour Technol.* **2009** 100:2234-2239.
- ⁹² KAMAL-ELDINA A, MÄKINENB M, LAMPIB A-M. The Challenging Contribution of Hydroperoxides to the Lipid Oxidation Mechanism. In: *Lipid Oxidation Pathways* (edited. by Kamal-Eldin A). AOCS Press, 2003.
- ⁹³ WANG H, LIU F, YANG L, ZU Y, WANG H, QU S; ZHANG Y. Oxidative Stability of Fish Oil Supplemented with Carnosic Acid Compared with Synthetic Antioxidants during Long-Term Storage. *Food Chemistry.* **2011** 128:93-99.
- ⁹⁴ PEGG RB. Measurement of Primary Lipid Oxidation Current Protocols in Food Analytical Chemistry. D2.1.1-D2.1.3. John Wiley & Sons, 2001.
- ⁹⁵ PAVIA DL, LAMPMAN GM, KRIZ GS, VYVYAN JR. Introdução à Espectroscopia (tradução: Pedro Barros). 4ed. Cengage Learning, 2010.
- ⁹⁶ VLACHOS N, SKOPELITIS Y, PSAROUDAKI M, KONSTANTINIDOU V, CHATZILAZAROU A, TEGOU E. Applications of Fourier Transform-Infrared Spectroscopy to Edible Oils. *Analytica Chimica Acta.* **2006** 573-574:459–465.
- ⁹⁷ SILVERSTEIN RM, WEBSTER FX, KIEMLE DJ. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 7ed. LTC, 2006.
- ⁹⁸ GUILLÉN MD, CABO N. Some of the Most Significant Changes in the Fourier Transform Infrared Spectra of Edible Oils under Oxidative Conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* **2000** 80:2028–2036.
- ⁹⁹ NAVARRA G, CANNAS M, D'AMICO M, GIACOMAZZA D, MILITELLO V, VACCARO L, LEONE M. Thermal Oxidative Process in Extra-Virgin Olive Oils Studied by FTIR, Rheology and Time-Resolved Luminescence. *Food Chemistry.* **2011** 126:1226–1231.
- ¹⁰⁰ GUILLÉN MD, RUIZ A. Edible Oils: Discrimination by ¹H Nuclear Magnetic Resonance. *J Sci Food Agric.* **2003** 83:338–346.
- ¹⁰¹ HIDALGO FJ, ZAMORA R. Edible Oil Analysis by High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: Recent Advances and Future Perspectives. *Trends in Food Sciences & Technology.* **2003** 14:499-506.
- ¹⁰² VLAHOV G. Application of NMR to the Study of Olive Oils. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy.* **1999** 35:341-357.
- ¹⁰³ DWECK J, SAMPAIO CMS. Analysis of the Thermal Decomposition of Commercial Vegetable Oils in Air by Simultaneous TG/DTA. *JTAC.* **2004** 75:385-391.
- ¹⁰⁴ JAIN S, SHARMA MP. Stability of Biodiesel and its Blends: A Review. *Renewable and Sustainable Energy Rev.* **2010** 14:667.