

Universidade Estadual de Maringá  
Pós-Graduação em Física

---

---

Enderson Sergio Bannwart

AVALIAÇÃO DA TERMO-OXIDAÇÃO DE ÓLEOS REFINADOS  
DE MILHO COM E SEM ANTIOXIDANTE VIA PROPRIEDADES  
TÉRMICAS, ÓPTICAS E TERMO-ÓPTICAS

*Orientador: Prof. Dr. Antonio Medina Neto*

*Co-orientador: Prof. Dr. Sandro Marcio Lima*

*Dissertação apresentada ao  
Departamento de Física da  
Universidade Estadual de Maringá,  
para a obtenção do título de Mestre em Física.*

---

---

Maringá/PR, Março de 2009.

*Dedicatória ...*

*Pela eterna dedicação e apoio ao seu filho,  
dedico este trabalho primeiramente a DEUS e, também, a meus pais,  
Jair Bannwart  
e  
Sandra M. M. Bannwart.*

# Agradecimentos

*A DEUS por ter me dado ao longo de toda esta jornada acadêmica saúde, coragem, força, ânimo, perseverança e, acima de tudo, a sabedoria necessária para chegar até aqui.*

*Aos meus queridos pais, Jair Bannwart e Sandra Maria Mantovani Bannwart, pelo exemplo de dedicação e amor a família, os quais sempre me incentivaram a estudar e a nunca desistir dos meus sonhos. Os agradeço, também, pela sincera confiança que em mim depositaram desde meus anos de ensino médio, sempre colocando os meus e os estudos dos meus irmãos, Jefferson e Geanderson, em primeiro lugar nas suas vidas. Finalmente, agradeço a eles por ter me dado à oportunidade de ter concluído minha graduação, oportunidade esta, que agora se reflete na conclusão da pós-graduação.*

*Pela confiança em mim, pelo respeito para comigo, pelos conhecimentos que comigo compartilhou, pela amizade, pelo companheirismo, pela pessoa humilde, sincera e profissional que és, e, principalmente, pela orientação desde meus anos de graduação, agradeço ao Prof. Dr. Sandro Marcio Lima.*

*Ao Prof. Dr. Antonio Medina Neto pela orientação.*

*Ao Prof. Dr. Luis Humberto da Cunha Andrade pelo incentivo nos meus estudos.*

*Agradeço a Lis Mariane Souza Rodrigues pelo amor, companheirismo e compreensão.*

*Aos companheiros do Grupo de Espectroscopia Óptica e Fototérmica (GEOF) da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS) – Bruna, Patrícia, Marcio e Fábio.*

*Aos meus irmãos, Jefe e Ge, e a minha cunhada, Bete, pela amizade e companheirismo.*

*Ao meu sobrinho, Gabriel, pela bagunça e gritaria de todo o dia.*

*Agradeço ao meu velho e bom amigo de graduação Pitt (William Ferreira Falco), companheiro de muitas batalhas, o qual nunca me deixou na mão. Um irmão que encontrei durante minha jornada acadêmica.*

*Aos meus familiares, ao tio Naldo e tio João por ter sempre me cativado a estudar e, em especial, ao tio Beto, grande amigo, por ter sempre me ajudado de uma forma ou de outra, e mais, pela confiança e pela consideração que este “grande” tio tem para comigo.*

*Agradeço as agências de fomento desta pesquisa – Capes, CNPq e Fundect – pelo apoio financeiro, sem o qual ficaria difícil realizar este trabalho.*

*Finalmente, agradeço a todos aqueles que de uma forma direta ou indireta me ajudaram a chegar até aqui. OBRIGADO!*

# Sumário

Dedicatória .....	<i>i</i>
Agradecimentos .....	<i>ii</i>
Índice de Figuras .....	<i>vi</i>
Índice de Tabelas .....	<i>x</i>
Resumo .....	<i>ix</i>
Abstract.....	<i>xii</i>
Capítulo 1 .....	1
Introdução.....	1
Capítulo 2 .....	5
Revisão de Literatura.....	5
2.1. Óleos e Gorduras.....	5
2.1.1. Óleo de Milho .....	8
2.1.2. Oxidação de Óleos e Gorduras .....	10
2.1.3. Consumo de Óleos Termo-Oxidados.....	15
2.1.4. Antioxidantes .....	16
2.2. Objetivos .....	20
Capítulo 3 .....	21
Material e Métodos.....	21
3.1. Oleaginosas .....	21
3.2. Espectrometria no Infravermelho por Transformada de Fourier FTIR.....	24
3.3. Espectroscopias de Absorção e Fluorescência UV-Vis .....	31
3.4. Densidade.....	35
3.5. Calorimetria de Relaxação Térmica.....	36
3.6. Interferometria Óptica .....	40
3.7. Espectrometria de Lente Térmica .....	46
Capítulo 4 .....	55
Resultados e Discussões .....	55
4.1. Medidas de FTIR.....	55
4.2. Medidas de absorção e fluorescência no UV-Vis .....	62
4.3. Medidas de Densidade .....	68

4.4. Medidas de Calor Específico .....	70
4.5. Medidas de Interferometria Óptica .....	72
4.6. Medidas de Lente Térmica.....	76
Capítulo 5 .....	88
Considerações Finais.....	88
Capítulo 6 .....	90
Referências Bibliográficas.....	90

# Índice de Figuras

<b>Figura 2.1:</b> Exemplos de ácidos graxos de ocorrência natural.....	6
<b>Figura 2.2:</b> Triglicerol insaturado com radicais carboxílicos diferentes. Porção à esquerda: glicerol. Porção à direita (de cima para baixo): ácido palmítico, ácido oléico, ácido alfa-linolênico.....	7
<b>Figura 2.3:</b> Esquema geral do mecanismo de ação da auto-oxidação lipídica (RH – ácido graxo insaturado; R• – radical livre; ROO• – radical peróxido; ROOH – hidroperóxido).....	11
<b>Figura 2.4:</b> Mecanismo de ação para os antioxidantes primários, onde ROO• são os radicais livres, AH os antioxidantes com um átomo de hidrogênio ativo e A• são os radicais inertes. ....	18
<b>Figura 2.5:</b> (a)Estrutura molecular de alguns dos antioxidantes sintéticos mais consumidos pelas indústrias nacionais. (b)Estrutura geral da molécula dos tocoferóis. ....	19
<b>Figura 2.6:</b> Estrutura química do ácido cítrico.....	19
<b>Figura 3.1:</b> Esquema ilustrativo do sistema de controle automático de termo-oxidação dos óleos com e sem ácido cítrico.....	22
<b>Figura 3.2:</b> Representação esquemática de um interferograma tipo Michelson .....	26
<b>Figura 3.3:</b> Espectro de emissão da fonte de IV médio do espectrofotômetro FTIR.....	27
<b>Figura 3.4:</b> (a) Interferograma de uma fonte de frequência única (1 e 2). Interferograma de uma fonte de duas frequências (3); (b) Interferograma de uma fonte de IV médio típica.....	28
<b>Figura 3.5:</b> Espectro IV médio obtido a partir da transformada de Fourier do interferograma da Figura 3.4b.....	29
<b>Figura 3.6:</b> Diagrama esquemático de um acessório FTIR-ATR. Em detalhe o interferograma e, ainda, o espectro obtido para o referido interferograma usando a Transformada de Fourier. ....	30
<b>Figura 3.7:</b> Esquemática da excitação de um elétron no estado fundamental a partir da absorção de radiação UV-Vis.....	32
<b>Figura 3.8:</b> Processo de absorção e emissão entre estados moleculares. ....	34

<b>Figura 3.9:</b> Densímetro digital ANTON PAAR – DMA 5000. Equipamento usado na determinação dos transientes de densidade dos ORMCA e dos ORMSA.....	36
<b>Figura 3.10:</b> Configuração experimental do CRT.....	37
<b>Figura 3.11:</b> Esquema da parte interna do CRT, destacando a posição de colocação da amostra.....	37
<b>Figura 3.12:</b> Placa plana e paralela iluminada por meio de um feixe de luz monocromática ilustrando a reflexão e a formação de interferência em um ponto P.....	42
<b>Figura 3.13:</b> Diagrama esquemático do arranjo experimental da IO. ....	44
<b>Figura 3.14:</b> Perfil da distribuição de intensidade de um laser tipo gaussiano, com modo transversal eletromagnético fundamental TEM <sub>00</sub> . ....	46
<b>Figura 3.15:</b> (a) Diagrama esquemático do aparato experimental da técnica de lente térmica no modo descasado; (b) Posição geométrica dos feixes de excitação e prova próximo da amostra.....	52
<b>Figura 4.1:</b> Espectros de absorção no IV médio dos ORMCA e ORMSA sem aquecimento obtidos por FTIR-ATR. ....	56
<b>Figura 4.2:</b> Representação dos modos vibracionais das moléculas encontrados nas amostras de óleos estudadas. ....	58
<b>Figura 4.3:</b> Estrutura química de um triglicerídeo. Inicialmente o óleo apresenta a configuração cis para a ligação HC=CH, contudo, com a degradação, a dupla ligação se rearranja de forma que o óleo passa a ter uma configuração trans.....	59
<b>Figura 4.4:</b> Absorbância do ORMCA X–0hs, com X = 5, 10, 15, 20, 25 e 30 horas de aquecimento, nos picos em 3008 cm <sup>-1</sup> (a) e em 987 cm <sup>-1</sup> (b); Absorbância do ORMSA X–0hs, com X = 5, 10, 15, 20, 25 e 30 horas de aquecimento, nos picos em 3008 cm <sup>-1</sup> (c) e em 987cm <sup>-1</sup> . ....	60
<b>Figura 4.5:</b> Dependência do máximo de absorbância em 3008 e 987 cm <sup>-1</sup> para o ORMSA em função do tempo de aquecimento Xhs. ....	61
<b>Figura 4.6:</b> Comportamento da absorbância em 3008 cm <sup>-1</sup> em função da absorbância em 987 cm <sup>-1</sup> . ....	62
<b>Figura 4.7:</b> Espectros de absorção dos ORMCA (a) e dos ORMSA (b) em função da termo-oxidação . ....	63
<b>Figura 4.8:</b> Comportamento da absorbância em 320 nm dos ORMCA e ORMSA em função do tempo de termo-oxidação.....	64
<b>Figura 4.9:</b> Espectros de fluorescência dos ORMCA (a) e dos ORMSA (b) em função da termo-oxidação, cuja emissão fora gerada com absorção da luz em 408nm. ....	65



<b>Figura 4.10:</b> Fluorescência das amostras oleaginosas ORMCA e ORMSA em função do tempo de aquecimento. ....	67
<b>Figura 4.11:</b> Picos de fluorescência em função da termo-oxidação dos ORMCA e ORMSA.....	68
<b>Figura 4.12:</b> Comportamento da densidade dos ORMCA (a) e dos ORMSA (b).....	69
<b>Figura 4.13:</b> Densidade dos óleos em 28 °C em função da termo-oxidação .....	70
<b>Figura 4.14:</b> Transiente térmico obtido pelo método de CRT. A curva mais acentuada foi determinada para o substrato, enquanto que a curva mais sutil para o caso do substrato+ORMCA-00hs .....	71
<b>Figura 4.15:</b> Calor específico ( $C_p$ ) dos ORMCA (a) e dos ORMSA (b)em função da termo-oxidação .....	72
<b>Figura 4.16:</b> (a) Intensidade do sinal no fotodiodo em função da temperatura para a amostra ORMSA 00hs; (b) Comportamento de m em função da temperatura para a amostra ORMSA-00hs.....	73
<b>Figura 4.17:</b> Comportamento de $dn/dT$ em função da temperatura. As curvas em (a) representam os ORMCA, enquanto que as curvas em (b) apresentam os ORMSA. ....	74
<b>Figura 4.18:</b> Curvas de LT obtidas para duas das amostras dos óleos de milho sem ácido cítrico: ORMSA-00hs e ORMSA-30hs. ....	77
<b>Figura 4.19:</b> Curvas de LT obtidas para as amostras dos óleos de milho ORMCA-00hs e ORMSA-00hs em (a); e ORMCA-30hs e ORMSA-30hs em (b); ambas obtidas com potência de 50,2 mW. ....	79
<b>Figura 4.20:</b> Curva característica de LT para o ORMSA-15hs, obtido com uma potência de excitação de 21,9 mW. ....	81
<b>Figura 4.21:</b> Difusividade térmica das diferentes amostras de óleos de milho com e sem ácido cítrico.....	82
<b>Figura 4.22:</b> Medidas de $\theta/P_{in}$ para as diferentes amostras dos ORMSA: 10, 15 e 25 hs de aquecimento .....	85
<b>Figura 4.23:</b> Medidas do coeficiente de absorção dos óleos ORMCA e ORMSA determinados por LT.....	86

# Índice de Tabelas

<b>Tabela 2.1:</b> Composição em ácidos graxos do óleo de milho. ....	9
<b>Tabela 2.2:</b> Teor de ácidos graxos de alguns dos óleos mais consumidos nos Brasil.....	9
<b>Tabela 2.3:</b> Principais compostos originados durante a termooxidação de óleos e gorduras..	14
<b>Tabela 3.1:</b> Detalhe da relação entre o número de horas de termooxidação e o nome de cada uma das amostras.....	23
<b>Tabela 3.2:</b> Parâmetros geométricos do sistema usados tanto nos estudos dos óleos refinados de milho com ácido cítrico quanto nos dos óleos com ácido cítrico.....	53
<b>Tabela 4.1:</b> Número de ondas, grupos funcionais e modo de vibração das intensidades dos picos dos espectros de oleaginosas. ....	57
<b>Tabela 4.2:</b> Valores de $dn/dT$ medidos para as amostras dos ORMCA e ORMSA referentes às temperaturas de 300 e 450 K. ....	75
<b>Tabela 4.3:</b> Medidas da condutividade térmica das diferentes amostras de óleos de milho com e sem ácido cítrico.....	84

# Resumo

Neste trabalho, amostras de óleo refinado de milho, com e sem antioxidante ácido cítrico, foram submetidas a estresse térmico em 180°C durante um tempo máximo de 30 horas contínuas. As amostras termoxidadas foram analisadas pelas seguintes técnicas de caracterização óptica, térmica e termo-óptica: absorção no infravermelho médio, absorção no UV-Vis, fluorescência visível, calorimetria de relaxação térmica, interferometria óptica e espectrometria de lente térmica (LT). Com exceção do infravermelho médio, que é um método padrão de avaliação da qualidade de óleos, as demais metodologias foram empregadas pela primeira vez para este propósito, objetivando-se com isso avaliar suas potencialidades para diagnosticar o efeito oxidativo, bem como a influência do antioxidante ácido cítrico na manutenção da qualidade dos óleos. Os resultados obtidos pelas espectroscopias de absorção no UV-Vis e no infravermelho mostraram que as amostras sofreram alterações estruturais durante as 30 horas de aquecimento, o que ocorreu independente da presença, ou não, do ácido cítrico. Ademais, os resultados de fluorescência no UV-Vis mostraram-se muito semelhante ao comportamento dos índices de peróxidos, índice relacionado à degradação dos óleos. Os resultados das propriedades termo-ópticas obtidos pela LT, como a difusividade térmica, mostraram a ocorrência de transformações nas amostras com o tempo de aquecimento, em especial no tempo entre 0 e 20 horas. Esta observação sugere que pela LT é possível detectar as reações de termo-oxidação, como a quebra de moléculas ou agregados moleculares provavelmente presentes na amostra como consequência do aquecimento. Em conclusão, os resultados mostraram que as técnicas empregadas são rápidas, sensíveis e precisas e tem potencial para colaborar com o estudo do controle da qualidade dos óleos comestíveis.

# Abstract

In this work, coin refined oil samples, with and without citric acid antioxidant, were submitted to thermal stress at 180°C during 30 hours. The thermo-oxidized samples were analyzed by the following techniques of optical, thermal and thermo-optical characterizations: medium infrared and UV-Vis spectroscopies, visible fluorescence spectroscopy, thermal relaxation calorimetry, optical interferometry and thermal lens (TL) spectrometry. Excluding the infrared spectroscopy, which is a default method to available the quality of oils, the others methodologies were applied for the first time to this purpose, aiming to verify their potentialities to indicate the oxidative effect, as well as the influence of the citric acid antioxidant in the maintenance of the oil quality. The obtained results for IR and UV-Vis absorptions showed changes in the oil structure during the 30 hours of thermal treatment, what occurred independent of the citric acid. Besides, the UV-Vis fluorescence intensity in function of the time heat showed very similar to the behavior of the peroxide indexes, which are related with the oil degradation. The results of the thermo-optical properties obtained by the TL, as the thermal diffusivity, showed the occurrence of transformations in the samples in function of the heat time, in special between zero and 20 hours. This observation suggests that by TL method is possible to detect the thermoxidation reactions, as the rupture or aggregates of molecules. In conclusion, the results showed that the used techniques are fast and sensible, and they have potential to control de quality of vegetable oils.

# Capítulo 1

## Introdução

O mercado de gorduras vegetais no Brasil iniciou-se na década de 50, com a produção das primeiras gorduras e margarinas, visando substituir a banha e o sebo. Com a expansão da produção agrícola de oleaginosas e do melhoramento tecnológico de esmagamento e refino, passou-se a obter gorduras vegetais de melhor qualidade do que a gordura animal. Em meados da década de 70, o mercado já se constituía quase que totalmente dos produtos de origem vegetal [Albuquerque, 2002].

Atualmente, os óleos vegetais representam um dos principais produtos extraídos de plantas [Faria; Leles; Ionashiro, 2002], sendo cerca de dois terços usados em produtos alimentícios, tornando-se assim parte da dieta humana [Del Ré, 2003].

Óleos e gorduras constituem uma parte do grupo de macronutrientes denominada lipídios, presentes em quantidades altamente variáveis nos diversos tipos de alimentos. São constituídos predominantemente por ésteres de triacilgliceróis (em quantidades superiores a 96%), além de componentes em menor proporção como mono e diacilgliceróis [Lehninger et. al., 1995]. Os lipídeos, juntamente com as proteínas e os carboidratos, são fontes riquíssimas de energia, apresentando grande importância para a indústria de alimentos, na produção de glicerina, lubrificantes, carburantes, biodiesel, além de inúmeras outras aplicações [Ferrari; Scabio, 2003]. Entretanto, o uso diário de óleos vegetais, mundialmente consagrados entre as populações de diferentes países, tem levado a necessidade de se avaliar melhor o seu grau de resistência, principalmente a sua estabilidade ao armazenamento e estresse térmico, uma vez que é muito comum o consumo de óleos e gorduras, mesmo após estes terem sido submetidos

a altas temperaturas em processo de fritura. Neste processo o óleo interage com o ar, a água e substâncias dos alimentos gerando uma infinidade de reações químicas, cujas principais formas de deterioração são a hidrólise, a autoxidação e a termo-oxidação [Lima; Gonçalves, 1995].

Os mecanismos das alterações térmicas e hidrolíticas num óleo submetido a estresse térmico prolongado é extremamente complexo, não apenas por depender de parâmetros, tais como tipo de óleo, tempo e temperatura de fritura, relação superfície/volume, tipo de aquecimento e origem do alimento a ser frito, mas também de seu grau de insaturação, ou seja, número de duplas ligações da cadeia alquila [Dobarganes, 1990; Corsini; Jorge, 2006]. Assim, é muito difícil ter um único método analítico que possa detectar todas as situações que definem quando descartar um óleo de fritura [Corsini; Jorge, 2006].

O resultado do processo de degradação são modificações físico-químicas nos óleos, algumas das quais são visíveis como o escurecimento, aumento da viscosidade, formação de espuma e fumaça. Essas transformações afetam não apenas as características sensoriais do óleo em uso, mas também influenciam na aceitabilidade do produto frito, além de causarem efeitos tóxicos como irritação gastrointestinal, inibição de enzimas, destruição de vitaminas e carcinogênese, quando da ingestão contínua e prolongada de produtos rancificados [Fritsch, 1981; Del Ré, 2003].

Em resposta a tudo isso, tem surgido nos últimos anos uma série de antioxidantes de diferentes tipos com o propósito de prolongar a vida útil dos óleos vegetais durante o seu armazenamento e prevenir as reações de degradação. Com isso, fornecem ao consumidor um alimento mais seguro e agradável ao paladar [Shahidi, 1992; Del Ré, 2003]. Portanto, questões como a que temperatura os óleos comestíveis se decompõem e que produtos são formados quando submetidos ao aquecimento precisam ser estudadas e respondidas. Para tal, a estabilidade de óleos submetidos a estresse térmico prolongado precisa ser estudada, pois

óleos de frituras reutilizados deterioram a qualidade dos alimentos e são potencialmente nocivos à saúde do consumidor [Del Ré, 2003].

Neste trabalho, técnicas de caracterização óptica, térmica e termo-óptica foram aplicadas em óleos refinados de milho, com e sem antioxidante, a fim de avaliar a potencialidade dessas técnicas na indicação do nível de degradação do óleo de milho submetido a tratamento térmico e a eficiência do antioxidante na manutenção da qualidade do óleo. Dentre as técnicas empregadas destacam-se a absorção no infravermelho médio (“Fourier Transform Infrared Spectroscopy – FTIR”), absorção UV-Vis, luminescência visível, calorimetria de relaxação térmica (CRT), interferometria óptica (IO) e espectrometria de Lente Térmica (ELT). Vale destacar que a Sociedade Americana de Química dos Óleos (“American Oil Chemists’ Society – AOCS”) reconhece a espectroscopia no infravermelho médio por FTIR como a metodologia padrão de identificação de óleos comestíveis adulterados [AOCS, 1990; AOCS, 1993]. Em função disto foi aplicada neste trabalho a fim de indicar o real estado de degradação do óleo.

Medidas de absorção e fluorescência baseadas na radiação UV-Vis encontram vasta aplicação para a identificação e determinação de uma infinidade de espécies inorgânicas e orgânicas. Em óleos, quando há qualquer tipo de alteração, como a induzida pela termo-oxidação, por exemplo, o espectro gerado mostra um deslocamento de banda (efeito batocrômico) e aumento da intensidade de absorção, acusando de imediato que o óleo não está em seu estado mais puro. Isto foi notado neste trabalho, e será discutido no Capítulo 4.

Embora não reconhecidas pelos órgãos reguladores da qualidade do óleo comestível, as técnicas de ELT, CRT e IO fornecem fortes indícios sobre as modificações estruturais de amostras oleaginosas, contribuindo para a completa caracterização dos óleos de milho com e sem ácido cítrico adotados neste trabalho.

O Capítulo 2 desta dissertação apresentará detalhes importantes sobre as características básicas dos óleos vegetais de milho, destacando as vias principais de oxidação

deste tipo de amostragem. Outros assuntos importantes abordados no capítulo são referentes aos problemas gerados pela ingestão de óleos degradados e o uso de antioxidantes, como o ácido cítrico, em óleos. Em seqüência, o Capítulo 3 trará uma descrição do material e de todos os métodos envolvidos nesta dissertação. Já os resultados e as discussões serão apresentados no Capítulo 4 e, por fim, concluídos no Capítulo 5.



# Capítulo 2

## Revisão de Literatura

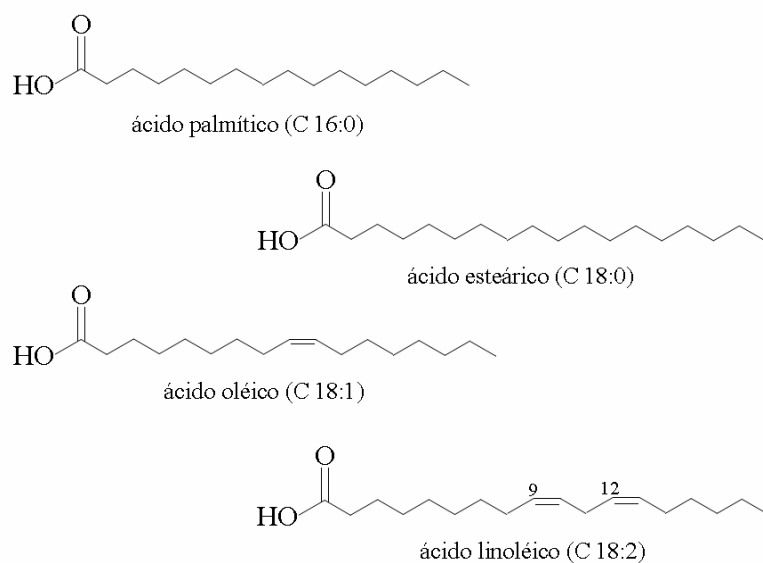
Este Capítulo abordará aspectos gerais inerentes a óleos e gorduras, apontando as particularidades e características principais dos óleos refinados de milho. Serão discutidas as principais vias da oxidação lipídica, assunto este que abrirá espaço para as discussões sobre o uso de antioxidantes em óleos; os efeitos maléficos *in vivo* gerados pela ingestão de óleos termoxidados e; sobre a necessidade de se estudar e compreender melhor a degradação destes produtos. Finalizando o Capítulo serão apresentados os objetivos gerais desta dissertação.

### 2.1. Óleos e Gorduras

Óleos e gorduras são mundialmente reconhecidos como nutrientes essenciais na alimentação humana e animal e proporcionam a fonte mais concentrada de energia que se tem conhecimento [Reda; Carneiro, 2007]. São substâncias hidrofóbicas (insolúveis em água) que pertencem à classe química dos lipídeos, podendo ser de origem animal, vegetal ou microbiana, cuja diferença reside exclusivamente na aparência física. Quando estão sob forma sólida são chamados de gorduras; quando estão sob forma líquida são chamados de óleos [Giese, 1996; Faria et. al., 2002]. Os lipídeos formam a classe de maior abundância na natureza, constituídos basicamente por uma mistura de diferentes compostos químicos, sendo os mais importantes os ácidos graxos e seus derivados [Moretto; Fett, 1998].

Os ácidos graxos são ácidos orgânicos lineares que se diferem pelo número de carbono e pela presença de insaturações (número de duplas ligações entre os átomos de carbono) em sua cadeia hidrofóbica. Estas duplas ligações, também podem gerar isômeros cis ou trans [Solomons, 1996]. Contudo, na natureza dificilmente são encontrados ácidos graxos e seus derivados em isomeria trans [Solomons, 1996]. De fato, esses compostos, largamente reconhecidos como prejudiciais à saúde, são gerados durante o processamento dos óleos, como no aquecimento contínuo e prolongado destas substâncias [Badolato et. al., 1992; Monferrer; Villalta, 1993].

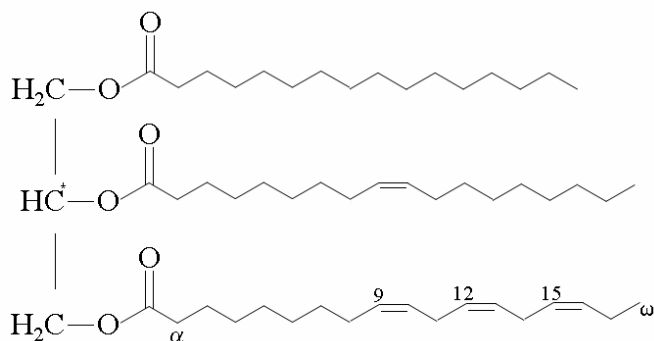
Os ácidos graxos saturados e os poliinsaturados podem diferir entre si pela ausência de dupla ligação ou pela sua posição [Sanibal; Mancini-Filho, 2002]. Existem diversos ácidos graxos de ocorrência natural, sendo alguns dos mais importantes exemplificados na Figura 2.1 [Reda; Carneiro, 2007].



**Figura 2.1: Exemplos de ácidos graxos de ocorrência natural.**

Os ácidos graxos são encontrados na natureza na forma não associada (livres), sendo assim conhecidos como ácidos graxos livres, ou associados (esterificados com glicerol) formando outras classes de compostos como os triglicerídeos e os fosfatídeos [Reda;

Carneiro, 2007]. O esquema da Figura 2.2 apresenta a cadeia molecular de um triglicerol (óleo vegetal) formado por diferentes radicais carboxílicos.



**Figura 2.2: Triglicerol insaturado com radicais carboxílicos diferentes. Porção à esquerda: glicerol. Porção à direita (de cima para baixo): ácido palmítico, ácido oléico, ácido alfa-linolênico.**

Já os fosfatídeos, componentes naturais dos óleos, estão presentes em óleos brutos em índices que oscilam de 0,1 a 1,8% [Moretto; Fett, 2002; Del Ré, 2003]. Sua presença em óleos é indesejável porque eles podem causar perdas nutricionais durante as etapas de refino dos óleos. Mas, em contrapartida, são importantes na indústria de alimentos por apresentarem propriedades únicas (são emulsificantes). Fosfatídeos são, ainda, quelantes (ou sequestrantes) de metais e interferem na quantidade de íons metálicos nos óleos. Sua remoção resulta na eliminação de ferro e cobre, os quais diminuem a estabilidade térmica dos óleos [Del Ré, 2003].

Em geral, a estabilidade termo-oxidativa dos óleos depende de sua estrutura química, principalmente do comprimento da cadeia carbônica e de seu grau de insaturação. Em outras palavras, quanto menor a cadeia carbônica, menor o ponto de fusão, e quanto maior o número de insaturações (ou seja, duplas ligações na cadeia) dos ácidos graxos, menor será o ponto de fusão e a estabilidade termo-oxidativa dos óleos [Ionashiro, et. al., 2002; Del Ré, 2003].

Portanto, como os óleos são muito utilizados na culinária e na indústria, têm-se exigido de pesquisadores e técnicos especializados, novos métodos analíticos capazes de avaliar as condições de processamento e estocagem, sendo, por isso, de fundamental

importância o conhecimento da estabilidade termo-oxidativa dos óleos vegetais para um rigoroso controle de qualidade [Lima; Gonçalves, 1995].

### **2.1.1. Óleo de Milho**

O milho é uma planta pertencente à família das gramíneas, e é provavelmente o grão mais antigo cultivado nas Américas. Tido como fonte essencial de alimento das civilizações que aí habitavam, tornou-se um alimento básico e uma mercadoria base da agricultura norte americana [Albuquerque, 2002]. Oriundo do México, onde há indícios arqueológicos de seu uso que datam 5.000 a.C., com o descobrimento das Américas foi introduzido na Europa, África e Ásia [Sousa, 2004]. Tolerante a diversas condições ambientais, o milho se adaptou a vários climas diferentes (de tropical a temperado), altitudes diferentes (desde o nível do mar até 3.500 m) e diferentes estações de crescimento [Sousa, 2004; Albuquerque, 2002]. Ademais, esta gramínea, de fácil manejo, necessita de cinco meses entre o plantio e a colheita. Em grande parte dos estados brasileiros a primeira safra ocorre nos meses de abril e maio, enquanto que a colheita da segunda safra (ou safrinha) dá-se nos meses de setembro e outubro [Paes, 2006].

Embora mundialmente importante, o grão de milho não é cultivado por seu teor de óleo, mas sim por seu conteúdo em amido (61 a 78%) e proteína (6 a 12%). O grão de milho contém entre 3,1 – 5,7% da massa em óleo, dos quais 83% encontram-se concentrados no gérmen (embrião), que representa 9% do grão. O restante do óleo está distribuído no endosperma (15%), farelo (1,3%) e extremidade (0,7%). Por isso, para facilitar a extração do óleo, o gérmen precisa ser separado do grão [Paes, 1990].

A Tabela 2.1 apresenta a composição em ácidos graxos para o óleo de milho [Reda; Carneiro, 2007]. Da análise desta tabela nota-se facilmente que o óleo de milho é composto em sua maior parte por ácido linoléico (9cis, 12cis-octadecadienóico, ( $\omega$ -6)).

**Tabela 2.1: Composição em ácidos graxos do óleo de milho.**

ácido graxo	Composição (%)
C < 14	< 0,3
C 16:0 palmítico	9,0 – 14,0
C 16:1 palmitoléico	< 0,5
C 18:0 esteárico	0,5 – 4,0
C 18:1 oléico	24,0 – 42,0
C 18:2 linoléico	34,0 – 62,0
C 18:3 linolênico	< 2,0
C 20:0 araquídico	< 1,0
C 20:1 eicosenóico	< 0,5
C 22:0 behênico	< 0,5
C 24:0 lignocérico	< 0,5

Fonte: Reda; Carneiro, 2007.

A Tabela 2.2, por sua vez, apresenta o teor de ácidos graxos de alguns dos óleos vegetais mais consumidos no Brasil, a saber, milho, canola, girassol e soja. Da análise desta tabela, nota-se que a vantagem do óleo de milho em relação ao óleo de soja, por exemplo, é o seu menor teor de ácido linolênico tri-insaturado (C 18:3), já que os hidrogênios próximos às duplas ligações têm mais tendência a reagir quimicamente do que os hidrogênios das ligações saturadas. Os ácidos graxos poliinsaturados com duplas ligações conjugadas são oxidados mais rapidamente que aqueles com duplas ligações não-conjugadas [Moretto; Fett, 1989; Reda; Carneiro, 2007].

**Tabela 2.2: Teor de ácidos graxos de alguns dos óleos vegetais mais consumidos nos Brasil**

Óleos	ácido graxo saturado	ácido graxo monoinsaturado	ácido graxo poliinsaturado	
			linoléico	linolênico
Milho	13%	25%	61%	1%
Canola	6%	58%	26%	10%
Girassol	11%	2%	69%	-
Soja	15%	24%	54%	7%

Fonte: Moretto e Fett, 1989.

Outros fatores relacionados à estabilidade termo-oxidativa do óleo de milho são inerentes à presença de antioxidantes naturais como tocoferóis, tocotrienóis e ácido ferúlico; à sua composição em ácidos graxos; ao grau de insaturação; a posição dos grupos alquila presentes nas moléculas dos triglicerídeos; e a ausência de clorofila, sensor para a foto-oxidação [Moretto; Fett, 1989]. É importante ressaltar que o óleo de milho refinado contém 0,08 a 0,12% de tocoferóis totais, sendo 70 a 80% de  $\gamma$ , 20 a 25% de  $\alpha$ , e 3 a 5% de  $\delta$ -tocoferol. Conseqüentemente, o óleo de milho é considerado como uma boa fonte de vitamina E [Sousa, 2004; Paes, 2006].

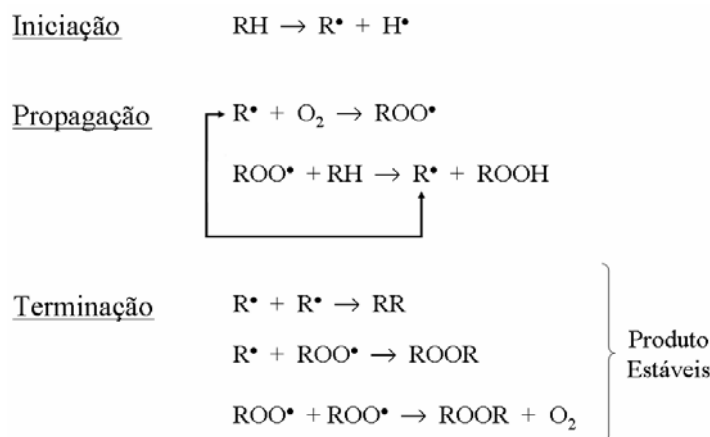
Por todas estas e outras razões, o óleo refinado de milho é utilizado como óleo de cozinha, para a elaboração de margarinas, maioneses, molhos para saladas e uma pequena quantidade para resinas, plásticos, lubrificantes e óleos similares e pela indústria farmacêutica [Paes, 2004].

### **2.1.2. Oxidação de Óleos e Gorduras**

Óleos e gorduras podem ser oxidados por diferentes caminhos, dentre os quais se destacam: as alterações por auto-oxidação e termo-oxidação. Todas estas rotas causam odores e sabores estranhos ao óleo, ocasionando perda do valor nutricional e gerando compostos poliméricos potencialmente tóxicos [Berger; Hamilton, 1995; Fennema, 2000].

A auto-oxidação é o principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras. Ela ocorre em cadeia e sua ação, ainda, não foi completamente entendida devido a sua complexidade. Existem algumas evidências que aponta a auto-oxidação como a responsável pelos primeiros hidroperóxidos formados, e que a iniciação pelo efeito da temperatura também seja possível em amostras aquecidas [Gunstone; Norris, 1983].

Farmer et. al. [Ramalho; Jorge, 2006] propuseram uma seqüência de reações inter relacionadas para explicar o processo de auto-oxidação dos lipídios, conforme ilustra o esquema da Figura 2.3.



**Figura 2.3: Esquema geral do mecanismo de ação da auto-oxidação lipídica (RH – ácido graxo insaturado; R• – radical livre; ROO• – radical peróxido; ROOH – hidroperóxido).**

Fonte: Ramalho; Jorge, 2006.

Conforme ilustrado pelo esquema, a auto-oxidação dos lipídios está associada à reação do oxigênio (O<sub>2</sub>) com ácidos graxos insaturados, resumindo-se em três fases:

1. Fase de Iniciação (ou Indução): ocorre a formação dos radicais livres do ácido graxo devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico (da dupla ligação) na molécula do ácido graxo, em condições favorecidas por luz e calor [Del ré, 2003]. Na formação do radical livre, o grupamento metílico adjacente a uma ligação dupla é ativado pelo elétron da dupla ligação, tornando-se um sítio mais propício ao ataque de uma molécula de oxigênio.
2. Fase de Propagação (ou Continuação): os radicais livres que são prontamente susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico, são convertidos em outros radicais, surgindo os produtos primários da oxidação (como peróxidos e, posteriormente, os hidroperóxidos) cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes. Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando em um processo autocatalítico [Del ré, 2003]. A formação do hidroperóxido inicia-se na

cadeia dos ácidos graxos mais insaturados [Lin, 1991]. A velocidade de oxidação é duas vezes mais alta em triglicerídeos que possuem quantidades de ácido linolênico maiores do que ácido linoléico [Reda; Carneiro, 2007].

3. Fase de Terminação (ou Término): após a oxidação do óleo, com o acúmulo de peróxidos, o hidroperóxido se decompõe dando origem aos compostos de oxidação secundários, como aldeídos e cetonas e, ainda, formando três categorias de produtos oxidados: os compostos voláteis, os polares e os polímeros. A ligação C-C onde está o peróxido e os carbonos adjacentes se rompem para formar moléculas de diferentes tamanhos, dentre as quais destacam-se os polímeros (moléculas grandes). Por isso, muitos hidroperóxidos são formados em diferentes posições na mesma cadeia de ácido graxo e, também, em outras cadeias. Esta divisão ocorre em várias posições diferentes e forma uma grande variedade de compostos [Berger; Hamilton, 1995].

De acordo com Frankel (1991), há diferenças substanciais entre a alteração oxidativa à baixa e à elevada temperatura, porém, em ambos os casos, a via principal de obtenção de compostos de alteração inclui a formação de hidroperóxidos.

Portanto, para impedir a auto-oxidação de óleos e gorduras há a necessidade de diminuir a incidência de todos os fatores que a favorecem, mantendo ao mínimo os níveis de energia (temperatura e luz) que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de formação de radicais livres; evitando a presença de traços de metais no óleo; evitando ao máximo o contato com o oxigênio; e bloqueando a formação de radicais livres por meio de antioxidantes, os quais, em pequenas quantidades, atuam interferindo nos processos de oxidação de lipídios.

A termo-oxidação por sua vez é um tipo de oxidação extremamente complexa, ocorrendo na presença de oxigênio a altas temperaturas, resultando na polimerização térmica dos óleos [Del Ré, 2003; Dobarganes, 1990]. Sob ação de calor, um ácido graxo insaturado



tem como primeiros produtos de reação os hidroperóxidos, que são formados rapidamente e reagem para formar uma complexa variedade de produtos secundários da oxidação (polares), incluindo monômeros, dímeros, polímeros e produtos de degradação voláteis e não-voláteis [Del Ré, 2003].

Os principais compostos obtidos na alteração térmica são os dímeros, os quais uma vez formados, devido à existência de duplas ligações em outros ácidos graxos das moléculas dos triglicerídeos, pode resultar em uma posterior reação gerando trímeros que, por sua vez, continuam a polimerização. Estes polímeros, por terem maior tamanho e peso molecular, tendem a aumentar a viscosidade do óleo, favorecendo a formação de espuma e, portanto, a deterioração e, ainda, gerando maior absorção do óleo.

O tratamento térmico também conduz à formação de compostos cíclicos [Billek, 1985]. Portanto, outra preocupação é a formação de monômeros cíclicos os quais constituem-se como parte dos resíduos não-voláteis. Os monômeros mais comuns provêm de ácidos graxos com 18 carbonos, poliinsaturados, que sofrem uma dupla substituição no anel [Frankel; Bessler et. al., 1991]. A formação de monômeros cíclicos é mais pronunciada nos aquecimentos intermitentes dos óleos. Dependendo das condições de aquecimento, a concentração de monômeros cíclicos varia de 736 ppm (0,07%) a 1803 ppm (0,18%) no óleo aquecido [Perkins, 1995].

Dentre os fatores que influenciam as alterações que surgem nos óleos durante o aquecimento (ou fritura), alguns têm maior influência [Takeoka; Full; Dao, 1997]:

- a) o efeito da temperatura: em temperaturas superiores a 200 °C há decomposição máxima dos óleos;
- b) aquecimento intermitente: onde a formação de peróxidos durante o aquecimento e sua decomposição durante o ciclo de resfriamento, produzem muitos radicais livres e, por conseguinte, severa deterioração dos óleos;

c) efeito da razão superfície/volume: quanto maior a superfície de contato do óleo com o ar, maior será a sua deterioração. O incremento da relação S/V tem drástico efeito sobre a velocidade de alteração, uma vez que o aumento significa uma maior superfície específica do óleo em contato com o ar atmosférico, afetando a velocidade das reações oxidativas. Geralmente, os valores selecionados para a relação S/V oscilam, em média, entre 0,5 a 1,0  $\text{cm}^{-1}$ , correspondendo àqueles normalmente usados nas frituras em fritadeiras domésticas e em frigideiras, respectivamente.

Na Tabela 2.3 têm-se sumarizado as duas principais vias de alteração de óleos e gorduras e, ainda, os principais compostos originados durante o tratamento térmico.

**Tabela 2.3: Principais compostos originados durante a termo-oxidação de óleos e gorduras.**

Tipo de alteração	Causador	Compostos resultantes
Oxidativa	O <sub>2</sub>	Monômeros oxidados, Dímeros e Polímeros; Compostos voláteis (aldeídos, cetonas, álcoois, etc).
Térmica	Temperatura	Monômeros cíclicos; Dímeros e Polímeros.

Fonte: Del Ré, 2003.

Em geral, os produtos da decomposição dos óleos formados durante o aquecimento podem ser reunidos em dois grandes grupos: compostos voláteis e compostos não-voláteis. Os compostos voláteis são parcialmente eliminados durante a fritura e sua importância está intimamente relacionada com as características sensoriais do óleo. Os compostos não voláteis, por outro lado, são de grande interesse sob o ponto de vista nutricional, já que fazem parte da dieta ao permanecerem dissolvidos no óleo. Ademais, também são sumamente importantes sob o ponto de vista analítico, porque tais substâncias

são acumuladas no óleo desde o início do tratamento térmico e seu nível está relacionado com a alteração total do óleo [Dorbaganes, 1988].

### **2.1.3. Consumo de Óleos Termo-Oxidados**

Muitos pesquisadores têm demonstrado que os óleos aquecidos por longos períodos, sob temperaturas extremamente elevadas, apresentam mais de 50% de compostos polares, os quais são produtos da degradação dos triglicerídeos, a saber, polímeros, dímeros, ácidos graxos livres e ácidos graxos oxidados [Del Ré, 2003]. Conseqüentemente, o consumo de óleos termo-oxidados, como verificado na fritura dos mais diversos tipos de alimentos, traz sérios riscos à saúde, pois além de aumentar e muito a saturação dos óleos comestíveis, os produtos formados por termo-oxidação, têm atividade biológica [Del Ré, 2003; Jorge, 1997]. É fato, por exemplo, que a hemaglutinação (ou agrupamento dos glóbulos vermelhos do sangue) é afetada pelos produtos da oxidação e da degradação térmica, os quais agem como aglutininas, promovendo um aumento da coagulação intravascular [Del Ré, 2003].

O alto consumo de gorduras saturadas na alimentação vem contribuindo para o aumento da obesidade, verificado na população norte-americana [Del Ré, 2003; Ferrari, 1998]. Isto, porém, não se verifica nos povos do Mediterrâneo, onde o grande consumo de gorduras insaturadas contribui para o baixo nível de doença arterial coronariana (reconhecida como DAC) [Mann et. al., 1975; Mahan; Arlin, 1995; Kubow, 1990]. Sendo a DAC uma das doenças mais perigosas ao homem, tem sido a principal causa de morte entre os ocidentais [Del Ré, 2003; Kubow, 1990].

Ressalta-se que em países como a Grécia e a Itália, onde a dieta tradicional é baseada no alto consumo de antioxidantes naturais, encontram-se baixos níveis de colesterol plasmático e de doença da artéria coronária [Del Ré, 2003].

O efeito basal do consumo de ácidos saturados, presentes em óleos vegetais termo-oxidados, é o de elevar as frações de LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade), ou “colesterol ruim”, que em excesso no sangue circulante, depositam-se sobre as artérias (aterosclerose) e com o tempo acabam provocando doença coronariana [Kannel; Castelli; Gordon, 1979; Merck, 1999; Steinberg, 1991]. Em outras palavras, a gordura insaturada eleva o nível da lipoproteína de alta densidade no sangue (HDL ou “colesterol bom”) e reduz o nível de lipoproteína de baixa densidade no sangue (LDL, ou “colesterol ruim”). Isso reduz a formação e/ou manutenção de ateroma, isto é, alteração degenerativa do revestimento interno das veias e artérias, que pode causar hipertensão arterial, infarto e derrame cerebral.

Por outro lado, quando as amostras são administradas em animais, observam-se severas irritações do trato gastrointestinal, diarreia, redução no crescimento e, em alguns casos, os animais morrem [Del Ré, 2003; Jorge, 1997].

Portanto, o desenvolvimento de compostos indesejáveis oriundos da oxidação lipídica é um importante problema a ser resolvido a fim de se obter um prolongamento da vida útil de óleos e gorduras. Isto é de fundamental importância, pois conforme visto, os produtos da oxidação lipídica podem desencadear a peroxidação in vivo, resultando em problemas de saúde que podem variar desde o envelhecimento precoce até a instalação de doenças degenerativas, como câncer, aterosclerose, artrite reumática e, também, compostos secundários como aldeídos e cetonas que podem provocar mutações [Del Ré, 2003; Jorge, 1997].

#### **2.1.4. Antioxidantes**

Os antioxidantes apresentam-se como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa dos óleos e minimizar os danos oxidativos nos seres vivos, uma vez que são substâncias capazes de retardar ou reduzir a velocidade da oxidação [Campos; Toledo, 2000].

O uso de antioxidantes na indústria de alimentos e seus mecanismos funcionais têm sido amplamente estudados [Melo; Guerra, 2002]. Segundo a ANVISA, os antioxidantes são substâncias que impedem ou retardam a formação de compostos como peróxidos, aldeídos, cetonas, dímeros e polímeros, produtos formados por termo-oxidação de óleos e gorduras, impedindo a etapa inicial da auto-oxidação e, conseqüentemente, a formação de radicais livres, removendo-os do meio. Com isso, preservam os alimentos, previnem a reversão do sabor e retardam a deterioração por rancificação e descoloração [Melo; Guerra, 2002]. Isto se deve à propriedade dos antioxidantes de estabilizar o radical livre, e assim impedir a propagação de reações radicalares oxidativas no meio [Dobarganes et. al., 1986; Shahidi et. al., 1992].

De acordo com Shahidi (1992), os antioxidantes podem ser agrupados em três categorias:

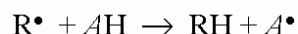
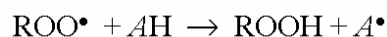
- i.* Eliminadores de radicais livres;
- ii.* Quelantes ou seqüestrantes de íons metálicos;
- iii.* Removedores de oxigênio: reagem capturando o oxigênio presente no meio.

Contudo, segundo o mecanismo de ação, os antioxidantes podem ser classificados em apenas dois grupos, a saber, primários e secundários [Shahidi et. al., 1992].

Os antioxidantes primários, também chamados de bloqueadores, atuam interrompendo a cadeia da reação através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os assim em produtos termodinamicamente estáveis e/ou reagindo com os radicais livres, formando complexo lipídio-antioxidante que pode reagir com outro radical livre.

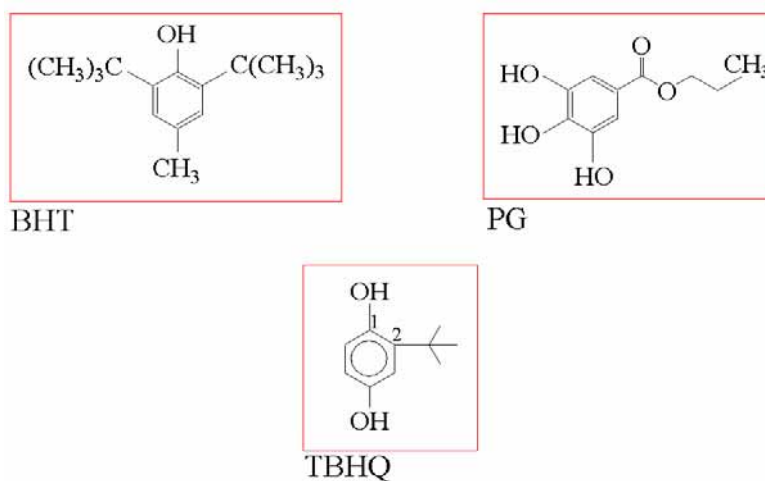
Frankel et. al. (1980) apresentaram o mecanismo de ação dos antioxidantes primários segundo o esquema apresentado na Figura 2.4, onde nota-se que o átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres  $R\cdot$  e  $ROO\cdot$  com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Desta forma, formam-se

espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte ( $A^\bullet$ ) procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas [Ramalho; Jorge, 2006]

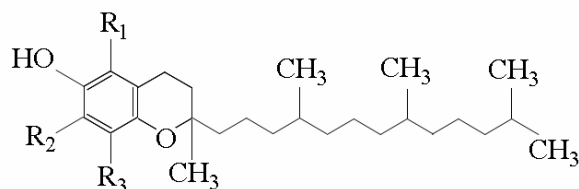


**Figura 2.4: Mecanismo de ação para os antioxidantes primários, onde  $ROO^\bullet$  são os radicais livres,  $AH$  os antioxidantes com um átomo de hidrogênio ativo e  $A^\bullet$  são os radicais inertes.**

Os principais antioxidantes primários são o butil-hidroxitolueno (BHT), o propil galato (PG) e o terc-butil-hidroquinona (TBHQ), que são sintéticos (ver estrutura molecular na Figura 2.5(a)), e os tocoferóis (Figura 2.5(b)), que são naturais e, também, mais benéficos ao consumo humano, visto que doses elevadas de BHT, PG e TBHQ podem causar efeitos maléficos sobre o peso do fígado, proliferação do retículo endoplasmático, entre outras severas doenças [Cella et. al., 2002; Campos; Toledo, 2000]. Como consequência, grande ênfase esta sendo dada à identificação e purificação de novos compostos com atividade antioxidante, provenientes de fontes naturais, que possam atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de óleos e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos [Cella et. al., 2002].



(a)

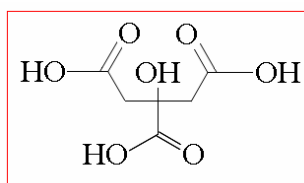


(b)

**Figura 2.5: (a) Estrutura molecular de alguns dos antioxidantes sintéticos mais consumidos pelas indústrias nacionais. (b) Estrutura geral da molécula dos tocoferóis.**

É importante ressaltar que os tocoferóis estão presentes de forma natural na maioria dos óleos vegetais, em especial nas oleaginosas de milho. Existem quatro tipos segundo a localização dos grupos metila ligados ao anel aromático:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ . São chamados de  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ou  $\delta$ -tocoferóis, sendo que a atividade antioxidante decresce do  $\delta$  para o  $\alpha$ -tocoferol [Melo; Guerra, 2002]. Se  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3$  têm-se  $\alpha$ -tocoferol;  $R_1 = R_3 = \text{CH}_3$  e  $R_2 = \text{H}$  têm-se  $\beta$ -tocoferol;  $R_1 = \text{H}$  e  $R_2 = R_3 = \text{CH}_3$  têm-se  $\gamma$ -tocoferol;  $R_1 = R_2 = \text{H}$  e  $R_3 = \text{CH}_3$  têm-se  $\delta$ -tocoferol.

Já a segunda classe dos antioxidantes, os secundários ou complexantes, também conhecidos como antioxidantes preventivos agem por retardar a velocidade de formação da cadeia de iniciação da auto-oxidação, por diversos mecanismos que incluem complexação com metais, seqüestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical, e absorção da radiação ultravioleta ou desativação do oxigênio singlete [Larrauri, 1998]. Dentre esses, destaca-se o ácido cítrico (ver estrutura molecular na Figura 2.6), que é atualmente um dos antioxidantes mais usados pelas indústrias nacionais de óleos, inclusive, as amostras oleaginosas de milho usadas nesta dissertação.



**Figura 2.6: Estrutura química do ácido cítrico.**

Atualmente, centenas de compostos antioxidantes têm sido propostos para inibir a deterioração lipídica das substâncias oxidáveis, contudo, somente alguns podem ser usados em produtos para o consumo humano [Cella et. al., 2002]. Portanto, na seleção de antioxidantes, são desejáveis as seguintes propriedades: eficácia em baixas concentrações (0,001 a 0,01%); ausência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor e em outras características do alimento; compatibilidade com o alimento e fácil aplicação; estabilidade nas condições de processo e armazenamento; e o composto e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos, mesmo em doses muito maiores das que normalmente seriam ingeridas no alimento [Cella et. al., 2002]. Além disso, na escolha de um antioxidante devem-se considerar também outros fatores, incluindo legislação, custo e preferência do consumidor por antioxidantes naturais [Ramalho; Jorge, 2006].

## **2.2. Objetivos**

O objetivo desta dissertação é avaliar o efeito da termo-oxidação induzida em óleo refinado de milho, com e sem anti-oxidante ácido cítrico, através dos métodos de espectroscopia óptica (absorção UV-Vis, absorção no infravermelho médio, fluorescência visível), calorimetria por relaxação térmica (CRT), espectrometria de lente térmica (ELT), densimetria e interferometria óptica (IO). Com exceção do infravermelho médio, que é um método padrão de avaliação da qualidade de óleos comestíveis, as demais metodologias foram empregadas pela primeira vez para este propósito, objetivando-se com isso avaliar suas potencialidades para diagnosticar o efeito oxidativo, bem como a influência do antioxidante ácido cítrico na manutenção da qualidade dos óleos.



# Capítulo 3

## Material e Métodos

As seções seguintes destinam-se à apresentação e detalhamento dos métodos de FTIR, absorção e luminescência no UV-Vis, Densimetria, Calorimetria de Relaxação Térmica (CRT), Interferometria Óptica (IO) e Espectrometria de Lente Térmica (ELT) que foram empregados nos estudos das amostras oleaginosas de milho com e sem antioxidante. Além disso, é apresentado uma descrição do modo de preparo das amostras de óleo no que diz respeito à termo-oxidação.

### 3.1. Oleaginosas

Os óleos refinados de milho com e sem antioxidante, ORMCA e ORMSA, respectivamente, foram selecionados e fornecidos pela Indústria de Alimentos BUNGE de Santa Catarina, SC. A adição do antioxidante no óleo foi feita pela própria empresa na dosagem de 100mg/kg de óleo. O antioxidante usado foi o ácido cítrico, bastante usado na maioria dos óleos comestíveis [Ramalho; Jorge, 2006].

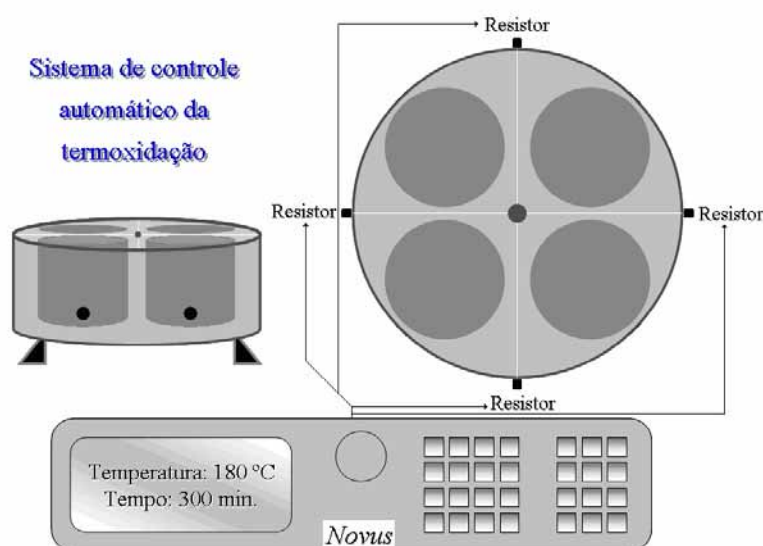
O processo de indução de oxidação pela temperatura nos óleos foi feito aquecendo as amostras a uma temperatura de 180°C<sup>1</sup> na ausência de qualquer tipo de alimento, durante o tempo máximo de 30 horas<sup>2</sup>. Para isto, um sistema de controle automático de temperatura das amostras oleaginosas fora elaborado, o qual constituiu-se basicamente de uma fôrma de

---

<sup>1</sup> 180°C corresponde à temperatura comumente usada no processo de preparo de alimentos por lanchonetes, bares, restaurantes, etc.

<sup>2</sup> Recomenda-se o uso dos óleos usados em fritagem de alimentos por apenas 12 ou 13hs.

alumínio com quatro orifícios cilíndricos onde os “beckers” contendo óleo foram colocados. A esta peça de alumínio está acoplado quatro resistências elétricas, as quais estão conectadas a um controlador de temperatura Novus, com sensor PT-100, que fornece potência ao sistema aquecendo homogeneamente a fôrma de alumínio e, conseqüentemente, as amostras de óleos. A leitura da temperatura é feita com um segundo controlador de temperatura, marca LakeShore, modelo 321s. A Figura 3.1 mostra o esquema do sistema usado para termo-oxidar as amostras. Tal sistema de aquecimento dos óleos, além de garantir melhor controle da relação superfície/volume (S/V), que neste caso foi de  $0,3\text{cm}^{-1}$ , permite controlar a taxa de aquecimento e manter a temperatura constante durante toda a etapa de termo-oxidação dos óleos.



**Figura 3.1:** Esquema ilustrativo do sistema de controle automático de termo-oxidação dos óleos com e sem ácido cítrico.

Os ensaios de termo-oxidação das oleaginosas de milho foram conduzidos em pequenos “beckers” com capacidade total de 100 ml. Contudo, com a intenção de se manter constante a relação S/V durante todo o processo de aquecimento, apenas 36 ml de cada tipo de óleo foi depositada nos “beckers”. É importante destacar que quanto maior a relação S/V, isto é, maior exposição do óleo ao ar, maior a formação de peróxidos e, conseqüentemente, de

hidroperóxidos, visto que os peróxidos são originados pelas reações oxidativas devido à presença do oxigênio do ar, catalisadas pelo aumento de temperatura [Sanibal et. al., 2002].

O modo como as amostras dos ORMCA e ORMSA foram preparadas foi o seguinte: 36 ml de óleo foi depositado no “becker” e, imediatamente, conduzida ao sistema automático de termo-oxidação; em seguida, a temperatura do sistema foi programada para atingir 180°C em 24 min sendo, após este tempo, mantida constante até o final do tempo de termo-oxidação desejado; amostras com e sem ácido cítrico foram preparadas simultaneamente, cada qual em seus respectivos “beckers”; ao fim do tempo de termo-oxidação desejado, o sistema desligava-se automaticamente; os óleos eram então rapidamente coletados, sendo em seguida, filtrados e depositados em seus respectivos recipientes de vidro âmbar; posteriormente armazenados em freezer a uma temperatura de, aproximadamente, -20°C, evitando assim posteriores alterações oxidativas incontroláveis. Todas as amostras foram preparadas da mesma forma, variando o tempo de oxidação de 5 em 5 horas até 30 horas. Elas foram descongeladas apenas no momento das análises. Na Tabela 3.1 têm-se detalhado o tempo de oxidação feito para as diferentes amostragens de óleos. Daqui em diante, usar-se-á a nomenclatura ORMCA-20hs para indicar a amostra de óleo refinado de milho com antioxidante com tempo de termo-oxidação de 20 horas, por exemplo. Este mesmo esquema será usado na nomenclatura de todas as amostras estudadas.

**Tabela 3.1: Detalhe da relação entre o número de horas de termo-oxidação e o nome de cada uma das amostras.**

	Oleaginosas	
	ORMCA	ORMSA
	0	0
	5	5
	10	10
Tempo de termo-oxidação (em horas)	15	15
	20	20
	25	25
	30	30

É importante ressaltar que às 30 horas as quais os óleos foram submetidos foram tomadas com base nos estudos de Cella (2002), a qual estudando amostras de óleos empregados em frituras de alimentos constatou que enquanto os óleos não tratados termicamente apresentam de 3,7 a 5,9% de compostos polares totais (CPT), produtos resultantes da deterioração lipídica, os óleos submetidos a 22,5 horas apresentam cerca de 29,2 a 36,8% de CPT. Os limites permitidos pela legislação de alguns países são de 25% para CPT. Portanto, 30 horas de aquecimento contínuo foram o suficiente para se avaliar o grau de degradação dos ORMCA e ORMSA.

## **3.2. Espectrometria no Infravermelho por Transformada de Fourier FTIR**

O princípio básico das técnicas espectroscópicas é o estudo da interação da radiação eletromagnética com a matéria, sendo um dos seus principais intuitos o estudo dos níveis de energia de átomos ou moléculas. Normalmente, as transições eletrônicas são situadas na região do ultravioleta ou visível, as vibracionais na região do infravermelho e, finalmente, as rotacionais na região de microondas e, em casos particulares, também na região do infravermelho longínquo [Skoog; Holler; Nieman, 2002]. Nesta seção serão abordados detalhes sobre a espectroscopia no infravermelho médio, deixando para as seções seguintes algumas considerações sobre as faixas UV-Vis do espectro eletromagnético.

Para que ocorra absorção de uma radiação infravermelha por uma amostra de estudo é necessário que haja variação do momento de dipolo elétrico da molécula como consequência de seu movimento vibracional ou rotacional (o momento de dipolo é determinado pela magnitude da diferença de carga e a distância entre dois centros de carga). Somente nessas circunstâncias o campo elétrico alternante da radiação incidente interage com a molécula, de forma que a radiação transmitida ou refletida pela amostra passa a ter

informações sobre sua estrutura molecular. De outra forma, pode-se dizer que o espectro de absorção no infravermelho tem origem quando a radiação eletromagnética incidente tem uma componente com frequência correspondente a uma transição entre dois níveis vibracionais [Sherman, Chapter 15].

A vibração dos átomos no interior de uma molécula apresenta energia coerente com a região do espectro eletromagnético correspondente ao infravermelho ( $100$  a  $10.000\text{ cm}^{-1}$ ). A região do espectro eletromagnético correspondente ao infravermelho se estende de aproximadamente  $0,75\mu\text{m}$  até quase  $1\text{ mm}$ , mas a região de grande uso está situado entre  $2,5$  e  $25\mu\text{m}$  ( $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ ), conhecido como região fundamental ou infravermelho médio. Já a região de mais baixa frequência ( $600$  a  $200\text{ cm}^{-1}$ ) é conhecida como infravermelho longínquo e a região de mais alta frequência ( $4000\text{ cm}^{-1}$  até a região do visível) como infravermelho próximo [Sherman, Chapter 15].

O espectro infravermelho de um composto químico é considerado uma de suas propriedades físico-químicas mais características e, por conta disto, a espectroscopia na região do infravermelho tem extensa aplicação na identificação dos compostos [Sherman, Chapter 15].

O interferômetro tipo Michelson-Morley representado no esquema da Figura 3.2, é à base de qualquer espectrofotômetro no infravermelho médio por transformada de Fourier (“Fourier Transform Infrared Spectrometer – FTIR”). Para simplificar seu entendimento será considerada uma fonte de radiação monocromática. Nesse caso, a radiação de uma fonte monocromática hipotética é dividida em dois feixes no “beamsplitter” (divisor de feixe), cada um correspondendo idealmente a  $50\%$  da intensidade original. Um dos feixes (A) segue em direção ao espelho de posição fixa no qual reflete de volta para o “beamsplitter”, onde parte deste feixe reflete de volta para a fonte e parte vai para o detector. O outro feixe (B) parte do “beamsplitter” em direção ao espelho móvel. O espelho móvel também reflete o feixe (B), parte de volta para a fonte e parte para o detector. Se a posição do espelho móvel é tal que o

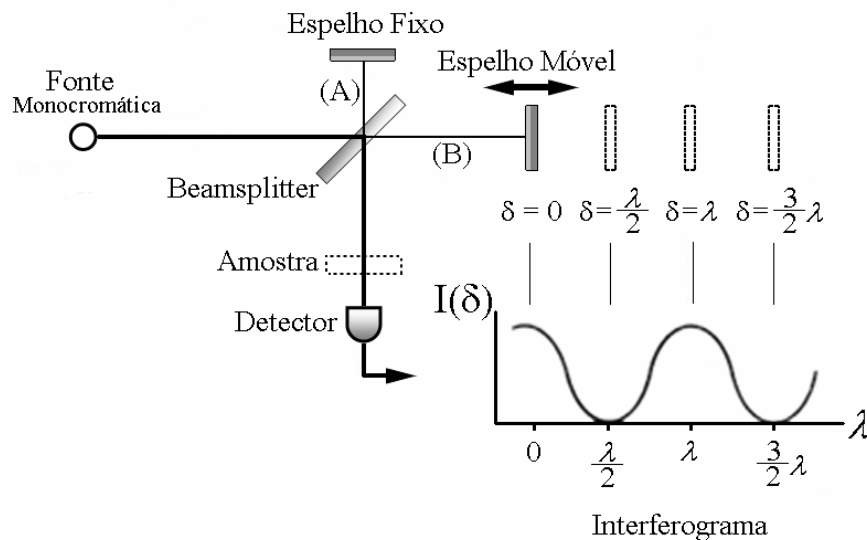
feixe (B) percorre a mesma distância que o feixe (A) antes de chegar ao detector ( $\delta = n\lambda$ , onde  $n = 0, 1, 2, \dots$ ), então os dois feixes estão em fase, reforçando um ao outro (interferência construtiva) e, neste caso, a energia que chega ao detector será máxima. Por outro lado, se a posição do espelho móvel for tal que o caminho do feixe (B) seja diferente daquele do feixe (A) por  $(n+1)\lambda/2$ , então os dois feixes estarão  $90^\circ$  fora de fase, cancelando um ao outro. A energia que chega ao detector, nesse caso, será mínima.

Portanto, à medida que o espelho móvel percorre determinada distância, um interferograma, como o mostrado na Figura 3.2, é formado. A intensidade da radiação  $I(\delta)$  que chega ao detector varia como uma função cosseno da retardação óptica  $\delta$ , dada por [Sherman, Chapter 15]:

$$I(\delta) = B(\bar{\nu}) \cos(2\pi\delta/\lambda) \quad (3.1)$$

ou

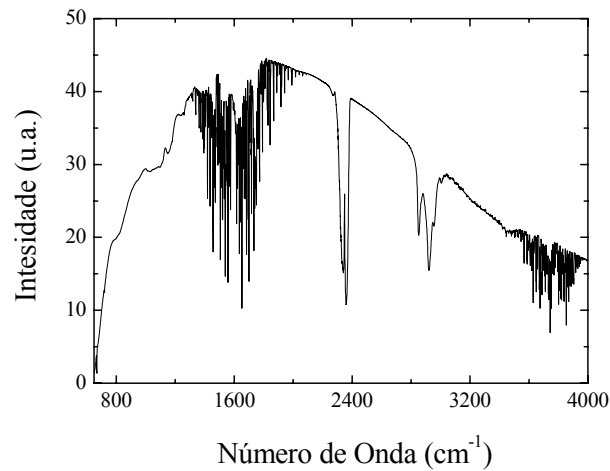
$$I(\delta) = B(\bar{\nu}) \cos(2\pi\bar{\nu}\delta). \quad (3.2)$$



**Figura 3.2: Representação esquemática de um interferômetro de Michelson-Morley.**

Entretanto, em FTIR, a fonte adotada não é uma fonte de única frequência como a tomada no esquema da Fig. 3.2, ao contrário, a fonte de infravermelho emite uma radiação com diferentes comprimentos de onda, ou seja, é uma fonte de emissão de banda larga,

semelhante ao espectro de emissão do corpo negro, como o apresentado na Figura 3.3 para a fonte usada nesta pesquisa.



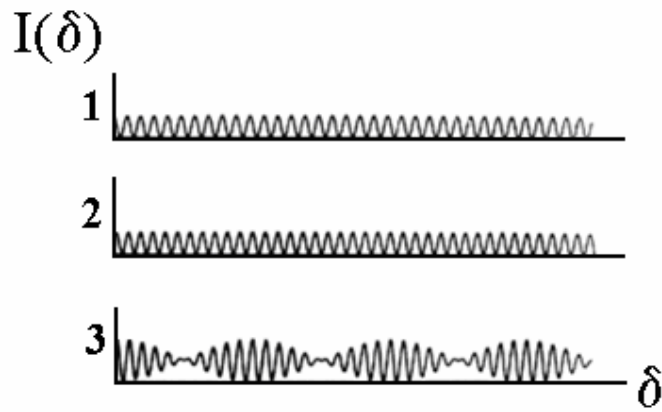
**Figura 3.3: Espectro de emissão da fonte de IV médio do espectrofotômetro FTIR.**

Quando uma fonte de radiação policromática como a da Figura 3.3 é usada, o interferograma pode ser interpretado como a soma dos cossenos das ondas que contribuem para a frequência  $\nu$ , para uma fonte contínua de infravermelho, esta soma torna-se uma integral do tipo [Sherman, Chapter 15]:

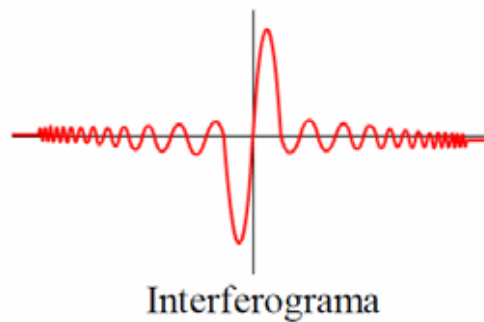
$$I(\delta) = \int_0^{\infty} B(\bar{\nu}) \cos(2\pi\bar{\nu}\delta) d\bar{\nu}. \quad (3.3)$$

O interferograma de uma fonte de frequência única é uma função cosseno com periodicidade que varia com o valor da frequência. O interferograma de uma fonte de duas frequências pode ser calculado pela soma algébrica das duas funções cossenos correspondente a cada uma das linhas individuais da fonte como mostrado na Figura 3.4(a).

Um interferograma típico de uma fonte de infravermelho é mostrado na Figura 3.4(b). Nota-se que quando  $\delta = 0$ , as ondas estão em fase e à medida que o espelho se move, a partir de  $\delta$ , em ambas as direções,  $I(\delta)$  varia de acordo com as contribuições das várias frequências que podem estar em fase ou fora de fase.



(a)



Interferograma

(b)

**Figura 3.4: (a) Interferograma de uma fonte de frequência única (1 e 2). Interferograma de uma fonte de duas frequências (3); (b) Interferograma de uma fonte de IV típica.**

Contudo, embora o interferograma contenha toda a informação fornecida pelo espectrômetro, sob um dado conjunto de condições, a forma com que essa informação se apresenta é difícil de ser analisada. Diante disto, essa informação é convertida em espectro, relacionando-se as intensidades com as respectivas frequências, através da transformada de Fourier. A relação entre o interferograma e o espectro é dada por [Sherman, Chapter 15]:

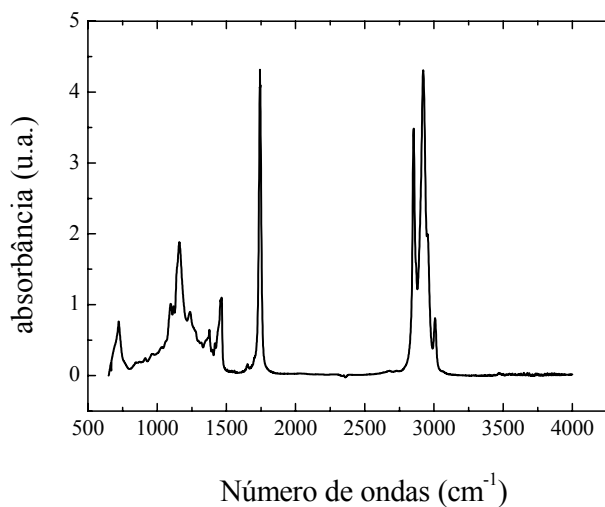
$$B(\nu) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(\delta) \cos(2\pi\nu\delta) d\delta \quad (3.4)$$

onde  $B(\nu)$  é a intensidade do espectro em função da frequência.

O interferograma é, portanto, formado pela soma de todas as ondas de diferentes amplitudes e frequências que chegam ao detector e possui todas as informações espectrais da



amostra. A Figura 3.5 mostra o espectro de infravermelho médio obtido a partir da transformada de Fourier do interferograma da Figura 3.4(b) para uma amostra oleaginosa.

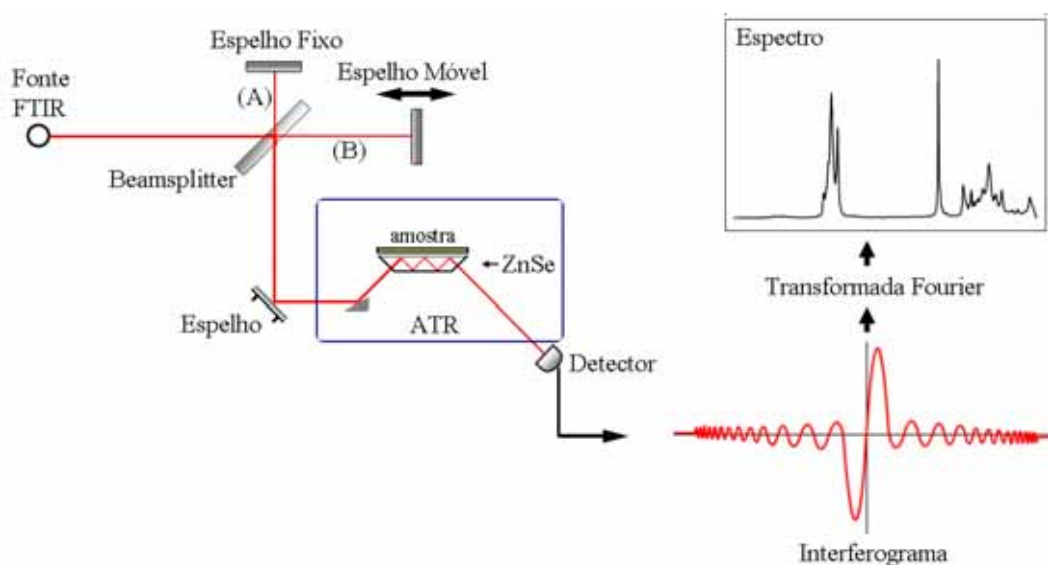


**Figura 3.5: Espectro IV médio obtido a partir da transformada de Fourier do interferograma da Figura 3.4b.**

Para o estudo dos ORMCA e ORMSA foram utilizados como método padrão para determinação dos espectros de absorbância, a reflectância total atenuada (“Attenuated total reflectance”, ATR). Este método requer mínima preparação da amostra para uma análise rápida e fácil de meios altamente absorventes. Ele pode ser útil para dar informações sobre as propriedades de superfície de um material, incluindo identificação, modificação e adsorção em superfícies [Mirabella, 1993].

O princípio da espectroscopia FTIR-ATR baseia-se no fato de que quando uma radiação entra em um prisma feito com índice de refração alto (no presente estudo foi usado um cristal de ZnSe) em relação ao meio externo, a radiação é totalmente refletida em seu interior. Esta reflexão interna cria uma onda evanescente (do latim, significa “tende a desaparecer”), a qual se estende na amostra em contato com o cristal. Se a amostra absorve em certo comprimento de onda evanescente, há uma atenuação da radiação em comprimentos de onda correspondentes às bandas de absorção no infravermelho, originando o espectro [Mirabella, 1993; Harrick, 1973].

A Figura 3.6 mostra um esquema que contém a fonte de infravermelho, o cristal onde se deposita a amostra e o detector, modelando um FTIR-ATR. Como pode ser visto pela figura, a amostra é colocada sobre um material cristalino com índice de refração muito alto, cujo índice de refração é 2,4 [Mirabella, 1993]. Com o ajuste adequado do ângulo de incidência, a radiação sofre múltiplas reflexões totais internas antes de passar do cristal para o detector, sendo que a absorção e a atenuação ocorrem em cada uma dessas reflexões.



**Figura 3.6: Diagrama esquemático de um acessório FTIR-ATR. Em detalhe o interferograma e, ainda, o espectro obtido a partir deste por Transformada de Fourier.**

Como a técnica FTIR-ATR tem grande potencial em análises de soluções, principalmente pelo fácil contato do líquido com toda superfície do cristal, neste trabalho ela foi usada com o intuito de determinar os espectros de infravermelho das amostras oleaginosas de milho com e sem ácido cítrico. Estas medidas foram realizadas no Grupo de Espectroscopia Óptica e Fototérmica (GEOF) da UEMS. Os espectros foram registrados no espectrômetro da Thermo Nicolet (modelo 670), equipado com cristal de reflectância total atenuada (Smart ARK) de ZnSe, material inerte à água, além de nitrogênio líquido para refrigerar o detector e um sistema de ar seco para purgar o espectrofotômetro. Este sistema

consiste de um compressor de ar e de um secador de ar acoplados com filtros de adsorção e de carvão para eliminar impurezas do ar comprimido.

Entre uma medida e outra, o cristal foi limpo e secado com papel absorvente, pois a amostra era depositada diretamente em uma das superfícies do ZnSe. Os espectros foram registrados entre 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$  (2,5 a 15,4  $\mu\text{m}$ ), com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e a velocidade do espelho de 1,27  $\text{cm/s}$ . Este intervalo de frequência compreende a conhecida região de impressão digital, localizada entre 650 e 1500  $\text{cm}^{-1}$ .

Os espectros foram coletados registrando inicialmente um “background” antes das medidas nas amostras de óleo. Os sinais foram coletados utilizando-se o “software” de coleta de dados do próprio equipamento (software OMNIC). Foram efetuadas 64 varreduras (“scans” ou número de medidas) para cada espectro. O número de medidas igual a 64 foi escolhido para que os espectros apresentassem uma razão sinal/ruído alto.

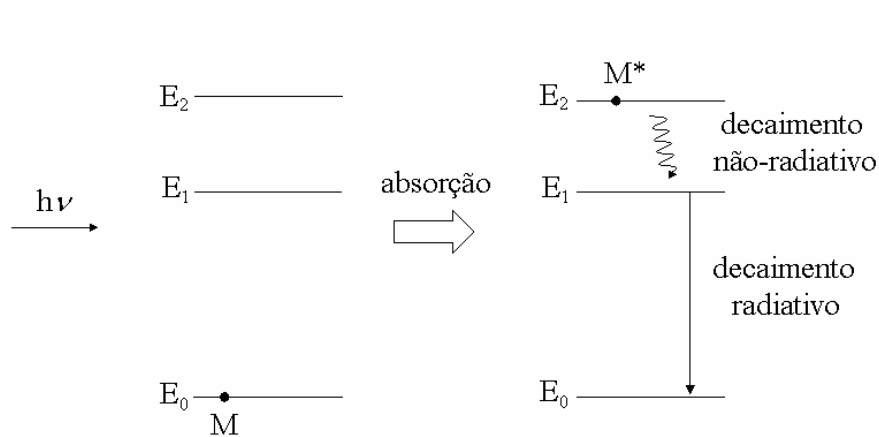
Com o uso de uma pipeta graduada pôde-se ainda padronizar a quantidade de óleo empregada para preencher toda a área do cristal, que neste caso foi de 200  $\mu\text{L}$ , o que é essencialmente importante numa análise comparativa.

### **3.3. Espectroscopias de Absorção e Fluorescência UV-Vis**

Medidas de absorção e fluorescência baseadas em radiação UV-VIS encontram vasta aplicação para identificação e determinação de uma infinidade de espécies inorgânicas e orgânicas. Os métodos de absorção molecular talvez sejam os mais amplamente usados atualmente dentre todas as técnicas de análise quantitativa em laboratórios químicos e clínicos em todo o mundo [Skoog; Holler; Nieman, 2002].

A absorção óptica que ocorre na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), que compreende o intervalo de comprimento de onda de 200 a 800 nm, envolve a excitação dos elétrons dos átomos presentes em um determinado material. Em outras palavras, a absorção

de radiação na frequência UV-Vis, ao incidir sobre uma espécie atômica ou molecular, excita os elétrons de valência, fazendo com que esses elétrons saltem de um orbital de menor energia para outro de maior energia, levando-os a um estado ativado. Na figura 3.7 o processo de absorção é ilustrado de modo simplificado: um elétron no estado fundamental  $E_0$  denominado M é excitado por um fóton de energia  $h\nu$ , que é exatamente a diferença de energia entre o estado fundamental e o estado mais energético  $E_2$ , com  $h$  sendo a constante de Planck e  $\nu$  a frequência da radiação incidente. A interação de um fóton de energia  $h\nu$  com o elétron M resulta em uma transição eletrônica para o nível de energia  $E_2$ , nesta fase o elétron é representado por  $M^*$ .



**Figura 3.7 – Esquematização da excitação de um elétron no estado fundamental a partir da absorção de radiação UV-Vis.**

Os elétrons não permanecem neste estado excitado por muito tempo, assim o retorno dos elétrons ao estado fundamental libera a energia absorvida sob a forma de calor<sup>3</sup>, que pode ser detectada por aparelhos conhecido como espectrofotômetro, o qual gera um gráfico (o espectro) da quantidade de radiação absorvida (absorbância) em função do comprimento de onda em nanômetros (ver Figura 3.8). Desta forma, se a amostra em solução

<sup>3</sup> O tipo mais comum de relaxação envolve conversão da energia de excitação em calor. Contudo, alternativamente, a relaxação também pode envolver reemissão de Fluorescência.

possui estrutura química observável<sup>4</sup> e sofre a incidência de radiação, a parcela da radiação absorvida pela amostra em um determinado comprimento de onda deixa de ser observada pelo detector colocado atrás da amostra, indicando a frequência de absorção de radiação específica para este material [Skoog; Holler; Nieman, 2002]. No caso específico dos óleos, isto é possível porque possuem intrinsecamente uma constituição molecular homogênea de triglicerídeos e ácidos graxos insaturados (ver Tabela 2.1) [Sikorska et. al., 2004]. Logo, quando o óleo sofre qualquer tipo de alteração, como termo-oxidação, por exemplo, o espectro de absorbância no UV-Vis mostra um deslocamento de banda (efeito batocrômico) e aumento da intensidade de absorção, acusando de imediato que o óleo não está em seu estado mais puro [AOCS, 1990]. Isto foi notado neste trabalho, e será discutido mais detalhadamente no Capítulo 4.

Os espectros de absorção das amostras dos ORMCA e ORMSA foram determinados entre a região espectral de 200 e 800 nm (região do UV-Vis) e a coleta desses dados foi feita com o auxílio do equipamento modelo CARY 50 da marca Varian do Grupo de Óptica Aplicada (GOA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Este sistema é composto por uma fonte de emissão na frequência desejada, um monocromador, o qual seleciona os comprimentos de onda que irão incidir na amostra, e um detector que captura os sinais de absorbância em função do comprimento de onda em nanômetros.

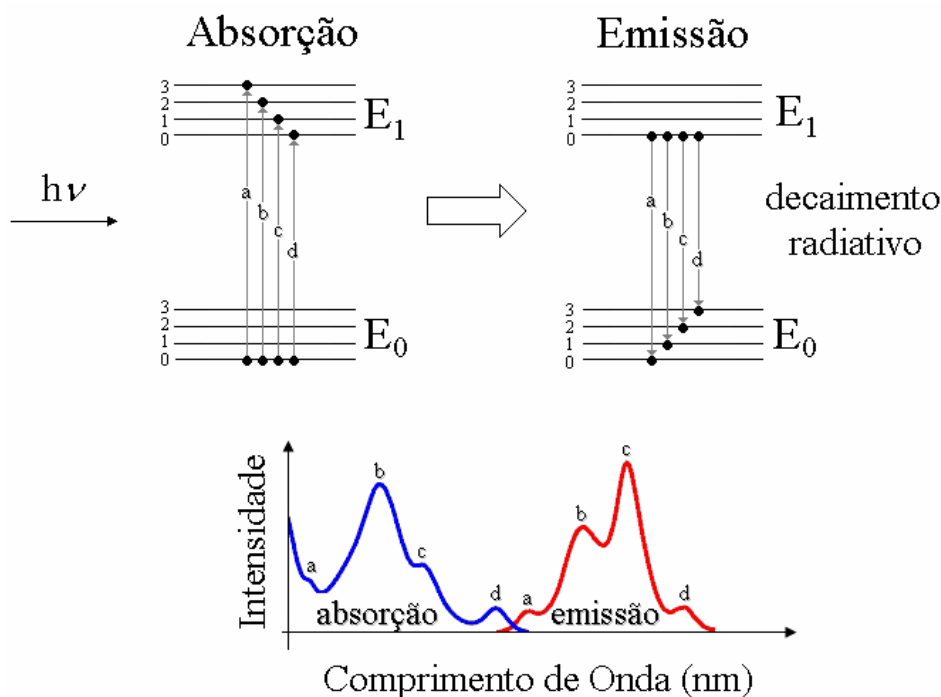
Para efetuar as medidas de absorção foi empregada uma cubeta de quartzo da marca Hellma com espessura de 0,5 mm e a taxa de variação do comprimento de onda foi de 100 nm/min, tendo uma resolução 0,5 nm.

Por outro lado, embora o processo mais comum de relaxamento para o estado fundamental seja a geração de calor, este também pode ocorrer pelo fenômeno de emissão de radiação após a absorção, chamado de fluorescência. A fluorescência pode ser considerada como uma consequência direta do fenômeno de absorção, conforme apresenta o esquema da

---

<sup>4</sup> Tratando-se de amostras de espécies orgânicas e inorgânicas, para serem observáveis necessitam apresentar estruturas moleculares adequadas, como presença de ligações insaturadas (ligações duplas ou triplas) e/ou de

Figura 3.8, a qual mostra as energias do estado fundamental  $E_0$  e excitado  $E_1$ , assim como as energias dos modos vibracionais (estado  $E_0$ : 0, 1, ..., e estado excitado  $E_1$ : 0, 1, ...). Já as transições ópticas entre dois estados (absorção  $E_0 \rightarrow E_1$  e emissão  $E_1 \rightarrow E_0$ ) estão representadas na Figura 3.8 pelas linhas verticais.



**Figura 3.8: Processo de absorção e emissão entre estados moleculares.**

Na Figura 3.8, as transições do lado esquerdo representam as possíveis absorções do estado fundamental de menor energia para os quatro níveis de energia do estado excitado. Depois de excitado, o sistema pode relaxar não-radiativamente para o nível 0 de menor energia do estado excitado. Deste ponto são geradas todas as possíveis transições eletrônicas de fluorescência (linhas verticais a direita da Fig. 3.8) para os estados fundamentais. Dependendo do nível vibracional do estado fundamental aonde o elétron chega, pode-se ainda ter relaxação não-radiativa para o de menor energia [Skoog; Holler; Nieman, 2002].

---

elétrons  $\pi$  ou  $\sigma$  [Skoog; Holler; Nieman, 2002].

Do ponto de vista puramente qualitativo, a existência de uma forte sobreposição entre os espectros de absorção e fluorescência evidencia que não ocorreu uma grande alteração na geometria molecular entre os dois estados envolvidos. Portanto, tendo em vista que esta técnica espectroscópica permite avaliar alterações de geometria com o processo de excitação eletrônica, ela também foi empregada nesta dissertação.

Os espectros de fluorescência foram obtidos a temperatura ambiente ( $\sim 295$  K) por meio do espectrofluorímetro CARY ECLIPSE da marca Varian no GOA-UFGD, o qual possui como fonte de excitação uma lâmpada pulsada de xenônio (80 Hz) com a largura a meia altura do pulso de aproximadamente  $2 \mu\text{s}$  e potência de pico equivalente a 75 KW. Além disso, contêm dois monocromadores, um para a seleção do comprimento de onda de excitação e outro para a seleção do comprimento de onda de emissão e um tubo fotomultiplicador (R928) para coleta da luz emitida pela amostra. Tais espectros foram obtidos com o comprimento de onda de excitação fixado em 408 nm e a emissão coletada no intervalo entre 420 e 750 nm. Em tal configuração, a tensão na fotomultiplicadora estava ajustada para 600 V e a taxa de varredura foi de 120 nm/min.

### **3.4. Densidade**

Os valores de densidade ( $\rho$ ) dos óleos ORMCA e ORMSA foram obtidos em função da temperatura por meio de um densímetro digital da marca ANTON PAAR, modelo DMA 5000, com resolução de  $10^{-5} \text{ g/cm}^3$  (ver Figura 3.9). As medidas foram obtidas entre 0 e 90 °C, numa escala de 0,5 °C/min, no laboratório do Grupo de Estudos dos Fenômenos Fototérmicos (GEEF) do Departamento de Física da UEM .

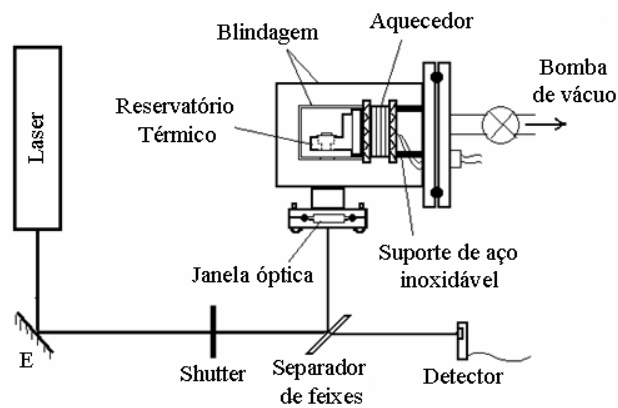


**Figura 3.9: Densímetro digital ANTON PAAR – DMA 5000. Equipamento usado na determinação dos transientes de densidade dos ORMCA e dos ORMSA.**

### **3.5. Calorimetria de Relaxação Térmica**

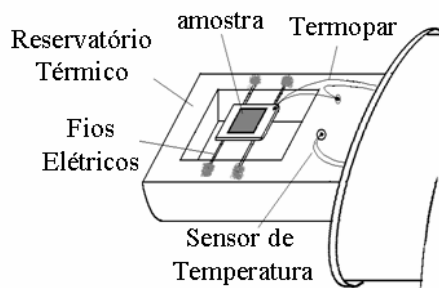
O arranjo da técnica de Calorimetria de Relaxação Térmica (CRT) empregada neste trabalho encontra-se esquematizado na Figura 3.10. Conforme se pode notar pela figura, todo o conjunto da parte interna do calorímetro é protegido por uma “blindagem térmica interna”, a qual possui uma abertura para permitir a passagem da radiação laser, garantindo que todo o sistema seja aquecido com uma melhor homogeneidade, além de diminuir a perda de calor por radiação térmica. Como as medidas são feitas em função da temperatura, o reservatório térmico é aquecido, ficando em uma temperatura bem diferente do ambiente, o que causa uma grande perda de calor por radiação. Buscando diminuir este efeito, o sistema CRT é, ainda, envolvido por uma segunda blindagem, construído com aço inoxidável, que também o protege de correntes de ar vindas do ambiente, o qual possui uma janela óptica para a passagem do feixe de laser.





**Figura 3.10: Configuração experimental do Calorímetro de Relaxação Térmica (CRT). Figura retirada da referência [Steimacher, 1999].**

O calorímetro é constituído por um reservatório térmico de cobre, no qual está acoplado um substrato de prata por meio de fios de cobre presos com tinta prata para se ter um bom vínculo térmico e, conseqüentemente, uma boa condução térmica entre o substrato e o reservatório de calor, conforme pode ser observado pela Figura 3.11. O substrato é usado como suporte da amostra em medidas de CRT.



**Figura 3.11: Esquema da parte interna do CRT, destacando a posição de colocação da amostra.**

Em CRT, as amostras oleaginosas foram colocadas em cápsulas de alumínio durante as medidas e, então, acopladas ao substrato com pasta térmica, garantido desta forma que houvesse um bom contato térmico entre a amostra e o substrato. O calor específico de todo o conjunto (substrato + amostra) é muito pequeno. Para fornecer um pulso de calor ao conjunto foi utilizado um laser de Diodo de potência sintonizável. A incidência desse feixe laser no sistema (substrato + amostra) é controlada por um obturador diafragma tipo “shutter” (ver Figura 3.10), porém, quando o feixe é disparado e atinge a amostra, é induzida uma

diferença de temperatura entre o substrato/amostra e o reservatório térmico. Essa diferença de temperatura é medida através de um termopar em configuração diferencial (substrato + amostra/reservatório térmico), o qual foi ligado a um microvoltímetro. Desta forma, ao se interromper a incidência do laser no conjunto, o osciloscópio digital conectado ao microvoltímetro registra a queda de temperatura do sistema em função do tempo. A curva de decaimento é, assim, transferida para o microcomputador por meio da interface GPIB, para que desta maneira possa ser analisada.

O procedimento laboratorial adotado para a determinação do calor específico das amostras foi realizado em duas etapas, isto é, realizou-se o experimento considerando num primeiro momento somente o sistema (substrato + reservatório térmico) sem a presença da amostra, e, então, depois de concluída a primeira etapa, realizou-se o mesmo procedimento com a presença da amostra.

Para tal, considera-se inicialmente o sistema (substrato + reservatório térmico) a uma temperatura inicial  $T_0$ . Fornecendo potência ao substrato através do laser de Diodo, parte desta energia é absorvida pelo substrato, aquecendo-o, ocasionando uma diferença de temperatura entre o substrato e o reservatório térmico. Parte dessa energia é transferida para o reservatório térmico por meio dos fios que sustentam o substrato, do ar que envolve o sistema e através da radiação térmica. Assim, tem-se que a potência total absorvida pelo sistema ( $P_a$ ) é dada por:

$$P_a = C_{\text{sistema}} \frac{d\Delta T_{\text{sr}}}{dt} + K\Delta T_{\text{sr}} \quad (3.1)$$

sendo  $C_{\text{sistema}}$  a capacidade térmica do sistema,  $K$  a condutividade efetiva total e  $\Delta T_{\text{sr}}$  a diferença de temperatura entre o substrato e o reservatório térmico.

Conforme o substrato absorve energia, há um aumento do  $\Delta T$  e, conseqüentemente, um aumento da quantidade de energia térmica transferida para o reservatório térmico. Depois de um intervalo de tempo de aproximadamente um minuto com

incidência direta do laser, o sistema (substrato + reservatório térmico) entra em regime estacionário, e a partir deste instante a diferença de temperatura mantém-se estável. Deste modo tem-se:

$$P_a = K\Delta T_{sr\ max} . \quad (3.2)$$

Contundo, no instante em que se interrompe a incidência de luz no sistema e considera-se  $t = 0$ , os fios elétricos que sustentam o substrato (ver Figura 3.10) conduzem apenas a energia que ficou acumulada ( $C_s\Delta T_{sr}$ ) no substrato e não mais a energia do sistema como um todo, passando a capacidade térmica do sistema a ser somente a capacidade térmica do substrato. Assim, faz-se  $P_a = 0$  e  $C_{sistema} = C_s$  na Equação 3.1, resultando em

$$C_s \frac{d\Delta T_{sr}}{dt} + K\Delta T_{sr} = 0 \quad (3.3)$$

com  $C_s$  sendo a capacidade térmica do substrato. Conforme os fios elétricos conduzem calor para o reservatório térmico a diferença de temperatura diminui de acordo com a solução da Equação 3.3, até chegar  $T(t) = T_o$ , de acordo com

$$\Delta T_{sr} = \Delta T_{sr\ max} \exp\left(-\frac{t}{\tau_s}\right) \quad (3.4)$$

onde  $\tau_s$  é definido como o tempo de relaxação do substrato, expresso por:

$$\tau_s = \frac{C_s}{K} . \quad (3.5)$$

Deste modo, conhecendo a potência dissipada no substrato e medindo a diferença de temperatura máxima  $\Delta T_{sr\ max}$  entre o substrato e o reservatório térmico obtém-se a condutância térmica ( $K$ ) com a Equação 3.2. Uma vez tendo a curva experimental de decaimento ( $\Delta T_{(t)}$  versus  $t$ ) pode-se determinar o valor da constante de tempo de relaxação do substrato, isto é,  $\tau_s$ . Finalmente, utilizando as Equações 3.2 e 3.5 pode-se determinar a capacidade térmica  $C_s$  do substrato, isto é,

$$C_s = K\tau_s = \frac{\tau_s P_a}{\Delta T_{sr\ max}} . \quad (3.6)$$

Encontrado a capacidade térmica do substrato, dá-se início à segunda etapa do procedimento experimental. Fixa-se a amostra no substrato com pasta térmica, e, em seguida, repete-se todo o procedimento experimental adotado anteriormente. Desta forma, obtém-se  $\Delta T_{\text{substrato+amostra}}$  e  $\tau_{\text{substrato+amostra}}$  (maior que  $\tau_s$ ) a partir da curva de decaimento. Com esses parâmetros e conhecendo a capacidade térmica do substrato ( $C_{\text{substrato}}$  é igual à  $C_s$  da primeira etapa), determina-se o calor específico ( $C_p$ ) da amostra por meio da seguinte relação:

$$C_p = \frac{C_{\text{substrato+amostra}} - C_{\text{substrato}}}{M_{\text{amostra}}} = \frac{\frac{\tau_{\text{substrato+amostra}} P}{\Delta T_{\text{substrato+amostra}}} - \frac{\tau_{\text{substrato}} P}{\Delta T_{\text{substrato}}}}{M_{\text{amostra}}}. \quad (3.7)$$

Para se obter a potência absorvida realiza-se uma medida com uma amostra padrão de alumínio, usando a Equação 3.7 obtém-se,

$$P = \frac{C_{\text{padrão}}}{\left( \frac{\tau_{\text{total}}}{\Delta T_{\text{total}}} - \frac{\tau_{\text{substrato}}}{\Delta T_{\text{substrato}}} \right)}. \quad (3.8)$$

Conhecendo a potência absorvida pelo substrato, de posse das curvas de decaimento e da massa da amostra, por meio da Equação 3.7 determina-se o calor específico das amostras oleaginosas estudadas nesta dissertação.

### 3.6. Interferometria Óptica

O método espectroscópico de Interferometria Óptica (IO) tem-se mostrado nos últimos anos como uma poderosa ferramenta em diversas áreas de pesquisas científicas, desde a astronomia a própria óptica [Sato, 2005; Steimacher, 1999]. Baseando-se em princípios físicos de interferência de ondas, ela tem-se destacado, especialmente, na determinação das propriedades físicas de materiais transparentes, em medidas do coeficiente de expansão e do índice de refração, além da determinação do coeficiente térmico do índice de refração  $dn/dT$  e, também, do coeficiente do comprimento de onda do índice de refração  $dn/d\lambda$  [Constantino,

2006] – parâmetros físicos importantes na caracterização das propriedades físicas e químicas de muitos materiais.

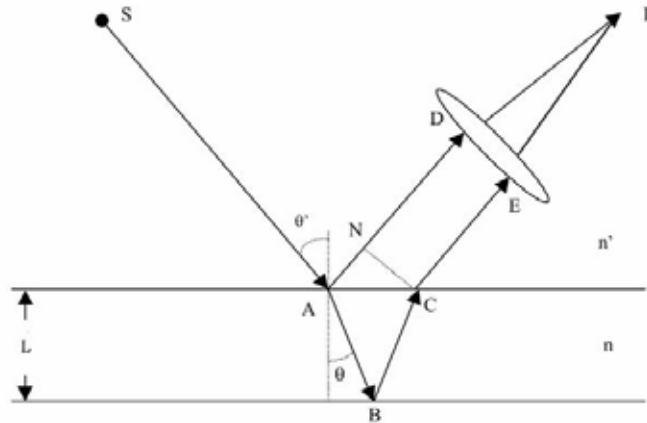
Mesmo existindo atualmente uma infinidade de métodos para medir  $dn/dT$ , a interferometria ainda tem-se mostrado um dos métodos mais confiável e fácil de se desenvolver [Jewell et. al., 1991].

O fenômeno de interferência é baseado no princípio da superposição de duas ou mais ondas numa determinada região do espaço. Este princípio diz que, quando vários efeitos ocorrem simultaneamente, o efeito resultante é a soma dos efeitos individuais, assim quando duas ou mais ondas se propagam em uma região, elas se superpõem produzindo uma onda resultante. O efeito desta superposição não afeta a propagação das ondas individualmente, mas sim o “deslocamento” momentâneo da grandeza física que sofre a perturbação durante a propagação da onda. Em outras palavras, esta superposição proporciona uma intensidade cujas características dependem das intensidades, polarizações, frequências e fases das ondas que geram a interferência.

Tratando-se de ondas em um líquido, o deslocamento de um ponto da superfície é o deslocamento vertical desse ponto, acima e abaixo do nível a que o mesmo se encontrava. Considerando ondas sonoras, o deslocamento se refere ao excesso ou à deficiência de pressão na região considerada. [Sato, 2005]. Em caso de ondas eletromagnéticas, como a luz, o deslocamento se refere à intensidade do campo elétrico ou magnético [Sato, 2005; Constantino, 2006]. Deste modo, a interferência óptica pode ser escrita em termos da superposição do campo elétrico.

Quando duas ondas monocromáticas se propagam em uma mesma região do espaço, devido ao efeito de superposição, a intensidade da onda resultante pode apresentar pontos de máximos e mínimos, dependendo da diferença de fase entre as ondas. Este efeito é denominado interferência. Como a interferência é um fenômeno que ocorre apenas em ondas coerentes, pretende-se estudar de início o efeito em ondas monocromáticas.

Para entender o fenômeno de interferência, considere uma placa plana e de material transparente, com índice de refração homogêneo ( $n'$ ) e de espessura  $L$  sendo iluminada por um feixe de luz monocromático  $S$ , como mostra a Figura 3.12.



**Figura 3.12: Placa plana e paralela iluminada por meio de um feixe de luz monocromática ilustrando a reflexão e a formação de interferência em um ponto P.**

A diferença de caminho óptico entre os dois raios refletidos pode ser encontrada pela observação da Figura 3.12, sendo dada por:

$$\Delta s = n(\overline{AB} + \overline{BC}) - n'\overline{AN} \quad (3.9)$$

com  $n$  e  $n'$  sendo os índices de refração da placa e do meio, respectivamente. Sendo  $L$  a espessura da placa,  $\theta'$  o ângulo de incidência da luz e  $\theta$  o ângulo de refração em relação à normal, tem-se,

$$AB = BC = \frac{L}{\cos \theta} \quad (3.10)$$

$$AN = AC \sin \theta' = 2L \tan \theta \sin \theta'. \quad (3.11)$$

Considerando a lei de Snell [Sato, 2005]

$$n' \sin \theta' = n \sin \theta \quad (3.12)$$

e substituindo as Equações 3.10, 11 e 12 em 3.9, a diferença de caminho óptico será dada por:

$$\Delta s = 2nL \cos \theta. \quad (3.13)$$

Temos também que

$$2nL \cos \theta = \lambda m \quad (3.14)$$

em que  $\lambda$  é o comprimento de onda do laser e  $m$  o número de franjas de interferência.

Para ângulos de incidência e refração pequenos, tem-se que

$$\Delta S = 2nL = \lambda m \quad (3.15)$$

Os máximos de interferência ocorrem para números inteiros de comprimentos de onda, e os mínimos para números semi-inteiros. Assim,

$$S = nL = \frac{\lambda}{2} m \quad (3.16)$$

Diferenciando a Equação 3.16 em relação à temperatura ( $T$ ) e dividindo pela espessura ( $L$ ) da amostra, tem-se,

$$\frac{1}{L} \left( \frac{dS}{dT} \right) = \frac{dn}{dT} + n\alpha = \frac{\lambda}{2L} \left( \frac{dm}{dT} \right) \quad (3.17)$$

na qual  $\alpha = \frac{1}{L} \left( \frac{dL}{dT} \right)$  é o coeficiente de expansão térmico linear, na direção de propagação do feixe de laser e  $dm$  é o número de franjas que passam pelo detector no intervalo de temperatura  $dT$ .

Definindo na Equação 3.17 que  $\frac{1}{L} \left( \frac{dS}{dT} \right) = \frac{ds}{dT}$ , pode-se escrever

$$\frac{ds}{dT} = \frac{dn}{dT} + n\alpha = \frac{\lambda}{2L} \left( \frac{dm}{dT} \right) \quad (3.18)$$

Por esta equação, o  $ds/dT$  pode ser determinado se o comprimento de onda do feixe incidente for conhecido, a espessura da amostra e o  $dm/dT$ , o qual pode ser estimado usando a aproximação que  $dm/dT = \Delta m_i / \Delta T$ , na qual  $m_i$  são medidas inteiras ou semi-inteiras que resultam nos pontos de máximos e mínimos de interferência, respectivamente.

Como as amostras estudadas são líquidas (soluções), durante as medidas de Interferometria as mesmas foram colocadas dentro de uma cubeta de quartzo, cujo coeficiente de expansão térmico é muito pequeno (da ordem de  $10^{-7} \text{ K}^{-1}$ ) comparado com o coeficiente térmico do índice de refração da amostra (aproximadamente  $10^{-4} \text{ K}^{-1}$ ). Deste modo, pode-se desprezar a expansão na direção de propagação do feixe, e assim escrever:

$$\left(\frac{dS}{dT}\right) \approx \left(\frac{dn}{dT}\right) = \frac{\lambda}{2L} \left(\frac{dm}{dT}\right). \quad (3.19)$$

Esta é a equação que será usada no ajuste dos dados experimentais obtidos pela interferometria óptica.

A Figura 3.13 mostra o arranjo da técnica de Interferometria Óptica (IO) usada neste trabalho. Sua montagem tem como princípio básico a técnica de interferometria por múltiplas reflexões, entretanto, como na interferometria os índices de  $ds/dT$  são obtidos considerando apenas os máximos e mínimos de intensidade, pode-se considerar o modelo de reflexão de dois feixes, mais fácil de ser tratado do ponto de vista matemático, e aplicá-los para sistemas que apresentem múltiplas reflexões, como é o caso presente.

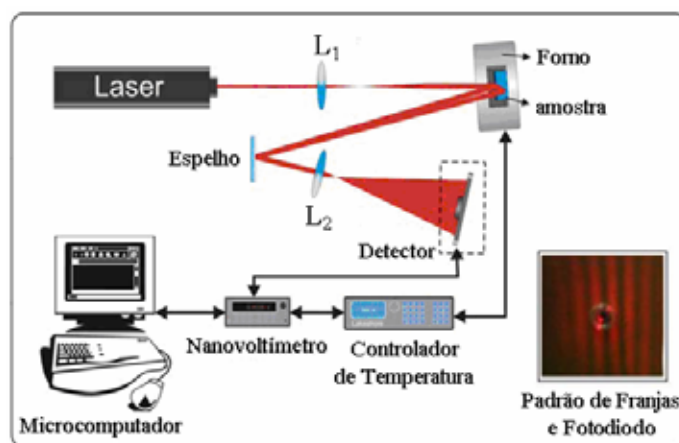


Figura 3.13: Diagrama esquemático do arranjo experimental da técnica de Interferometria Óptica.

Nas medidas de Interferometria foi usado como fonte de luz, um laser de HeNe, com comprimento de onda de emissão em 632,8 nm, não-polarizado e com potência de 3 mW (Coherent). Na figura, o feixe laser ao passar pela lente 1, de distância focal de 10 cm, incide



na amostra que esta na cavidade do forno resistivo a uma distância de aproximadamente 30 cm da lente  $L_1$ . O feixe tem incidência quase perpendicular na amostra ( $\theta \sim 0,8^\circ$ ), de tal modo que a reflexão da primeira superfície venha interferir com a reflexão da segunda superfície. Deste modo, as duas reflexões são expandidas pela lente  $L_2$ , de foco 3 cm, até chegar ao detector, onde as franjas podem ser observadas.

Quando a temperatura do forno resistivo (da amostra) é modificada, devido a um controlador de temperatura (sistema Lakeshore Cryonics Inc. - mod. 340, utilizando um sensor PT - 100), fazendo aumentar a temperatura de ambiente ( $\sim 290\text{K}$ ) até, aproximadamente,  $460\text{K}$ , numa taxa de aquecimento de  $0,5\text{ K/min}$ , ocorre um deslocamento entre os máximos e mínimos das franjas de interferência na área de detecção do fotodiodo. Este por sua vez gera um sinal que é capturado por um nanovoltímetro (Keithley - mod. 2182), e então, é enviado ao microcomputador, através do programa em linguagem Microsoft Quick BASIC V 4.5, para futura análise.

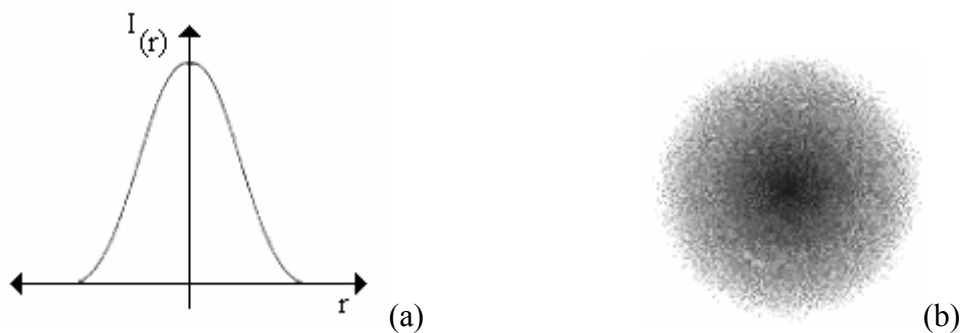
As amostras analisadas por este método foram depositadas numa cubeta de quartzo com 5 mm de espessura e, em seguida, colocadas dentro do forno resistivo. Para tal, as franjas de interferência resultam da superposição das ondas refletidas nas paredes da cubeta. Como o interferômetro apresenta grande sensibilidade a vibrações externas como, por exemplo, pessoas circulando no local da montagem (laboratório), ar condicionado ligado, variações de intensidades de luz tanto do dia quanto a do próprio laboratório, entre outros. Em função disto, os experimentos de IO foram realizados durante o período da noite ou quando era possível nos intervalos de tempo no qual não havia fluxo de pessoas no laboratório.

Outro problema solucionado foi o deslocamento de ar próximo ao forno devido ao aquecimento do mesmo (efeito de convecção), e, assim, para minimizá-lo fora usado uma “blindagem”, que nada mais era do que uma caixa grande de papelão que revestia perfeitamente o forno, isolando o sistema.

### 3.7. Espectrometria de Lente Térmica

O método experimental de Lente Térmica (LT) faz parte de uma família de métodos fototérmicos de grande interesse em análises químicas e físicas de materiais [Snook; Lowe, 1995]. Em todos estes métodos, o princípio básico é medir o calor gerado na amostra após uma radiação luminosa ser absorvida pelo material. Analisando a resposta temporal do efeito gerado pelo aquecimento local é possível determinar as propriedades termo-ópticas dos materiais [Lima, 1999; Lima et. al., 2001]. Nesta seção o método de LT será apresentado focando o princípio teórico deste modelo, o procedimento e a configuração experimental empregada nessa dissertação.

O princípio envolvido na formação da LT pode ser interpretado considerando que o perfil de distribuição de intensidade de um feixe de laser seja gaussiano, com modo transversal eletromagnético fundamental ( $TEM_{00}$ ), como pode ser observada na Figura 3.14(a). Na parte (b) da figura, demonstra-se a distribuição radial da intensidade do feixe de laser, na qual a parte mais escura indica uma maior intensidade luminosa no centro do feixe laser.



**Figura 3.14: Perfil da distribuição de intensidade de um laser tipo gaussiano, com modo transversal eletromagnético fundamental  $TEM_{00}$ .**

Quando uma radiação laser com tais características incide sobre o meio fototérmico, ela atua como uma fonte de calor no material, gerando assim uma distribuição de temperatura com simetria radial  $\Delta T(r)$  na amostra, sendo  $\Delta T(0) > \Delta T(r > 0)$ , isto é, a diferença

de temperatura é maior no centro do laser (em  $r = 0$ ) do que na periferia da região iluminada ( $r > 0$ ). Como resultado desse processo, o índice de refração da amostra sofre uma alteração radial proporcional a,

$$n(r) = n_0 + \frac{dn}{dT} \Delta T(r) \quad (3.20)$$

na qual  $n_0$  e  $n(r)$  são os índices de refração da amostra antes e depois da iluminação, respectivamente, e  $dn/dT$  o coeficiente térmico do índice de refração com a temperatura, apresentando assim um perfil que é semelhante ao da distribuição de intensidade gaussiana do laser, se assemelhando a uma lente óptica. Um segundo laser, denominado laser de prova (ou detecção), prova à existência do fenômeno. Este laser, ao passar na parte central dessa lente, sofrerá mudança na sua propagação devido à variação de fase sofrida pelo laser na região aquecida. A Figura 3.15 mostra um esquema da formação da lente térmica na amostra.

Na maioria das amostras líquidas a lente formada é divergente, já em amostras sólidas, dependendo da composição, pode ser tanto divergente como convergente, depende da combinação entre os valores do coeficiente de expansão térmica e do coeficiente de temperatura do índice de refração ( $dn/dT$ ) [Lima et. al., 2001]. Ademais, o parâmetro  $dn/dT$  está relacionado a dois fatores: primeiro, um aumento no volume específico devido à expansão térmica, causando um decréscimo no índice de refração devido ao maior espaço intramolecular; e segundo, um aumento na polarizabilidade eletrônica fazendo com que o índice de refração sofra um aumento gradual com a estrutura tendendo a um estado mais dissociado [Baesso; Shen; Snook, 1994]. Prod'homme (1960) encontrou uma relação entre  $dn/dT$ , o coeficiente de expansão térmica,  $\beta$ , e o coeficiente de polarização eletrônica,  $\varphi$ , da amostra sendo

$$\frac{dn}{dT} = \frac{(n^2 - 1)(n^2 + 2)}{6n} (\varphi - \beta). \quad (3.21)$$

Esta equação torna claro que o sinal de  $dn/dT$  é determinado, principalmente, por  $\beta$  e  $\varphi$ . Se  $\beta > \varphi$ , tem-se  $dn/dT > 0$ , caso contrário,  $dn/dT < 0$ .

O desenvolvimento teórico da LT segue três passos básicos: i) através da equação de difusão de calor em um meio isotrópico obtém-se uma expressão para a distribuição radial de temperatura no material; ii) em seguida escreve-se uma expressão para o índice de refração, a qual considera a distribuição radial de temperatura; iii) finalmente, calcula-se a sua distribuição de intensidade em um anteparo no campo distante, após este ter passado pela amostra aquecida, através da integral de difração de Fresnel-Kirchhoff [Lima, 1999]. Entretanto, a observação do fenômeno de LT requer também a observação das seguintes condições [Constantini, 2006; Albuquerque, 2002]:

- i.* a espessura da amostra ou da cubeta onde será colocada a solução (no caso de amostras líquidas, como é o caso presente) precisa ser pequena comparada com a distância confocal do feixe laser. Isto é necessário para garantir que o diâmetro do feixe seja aproximadamente constante dentro do material.
- ii.* as dimensões da amostra ou da cubeta precisam ser grandes comparada com o raio do feixe de laser (excitação) na amostra para evitar efeitos nas extremidades. Ou seja, radialmente, o material estudado deve ser bem maior que o diâmetro do feixe de laser.
- iii.* a potência absorvida pelo material deve ser baixa para que seja evitado efeito de convecção induzido na amostra.
- iv.* o coeficiente do índice de refração com a temperatura,  $dn/dT$ , mantêm-se constante com o aumento de temperatura do sistema, dentro do pequeno limite de variação de temperatura provocado pelo aquecimento da amostra com o laser de excitação durante uma medida de LT.

De acordo com este modelo, a variação na intensidade no centro do feixe de laser no campo distante, induzido pelo fenômeno de LT, pode ser escrito segundo a teoria de difração de Fresnel, da seguinte forma [Shen et. al., 1992]:

$$I(t) = I(0) \left\{ 1 - \frac{\theta}{2} \tan^{-1} \left[ \frac{2mV}{\left[ (1+2m)^2 + V^2 \right]^{t_c/2t} + 1 + 2m + V^2} \right] \right\}^2 \quad (3.22)$$

com  $I(t)$  sendo o sinal transiente,  $I(0)$  o sinal transiente quando  $t$  ou  $\theta$  for zero,  $t_c$  a constante de tempo característica de formação da LT dada por  $t_c = w_{oe}^2/4D$ , sendo  $w_{oe}$  o raio mínimo do feixe de excitação na posição da amostra (no plano focal),  $D$  a difusividade térmica e os parâmetros  $m$  e  $V$  são variáveis dependentes da montagem da técnica, dados por

$$m = \left( \frac{w_{1p}}{w_{oe}} \right)^2; \quad V = \frac{z_1}{z_{cp}} \Leftrightarrow z_{cp} \ll z_2 \quad (3.23)$$

com  $w_{1p}$  sendo o raio do feixe de prova na posição da amostra,  $z_1$  a distância entre as cinturas dos feixes de excitação e de prova (forma “descasada”),  $z_{cp} = \pi w_{op}^2/\lambda_p$  o comprimento confocal do feixe de prova,  $\lambda_p$  o comprimento de onda do laser de prova e  $z_2$  a distância da amostra ao detector que fará a leitura do sinal transiente. A Equação 3.22 está escrita na sua forma generalizada e pode ser aplicada para outras configurações, como por exemplo, no caso de uma configuração com feixe único onde o mesmo feixe que excita a amostra é empregado para provar a LT formada (neste caso, faça  $m = 1$ ).

O parâmetro  $\theta$  que aparece na Equação 3.22 é proporcional à diferença de fase induzida pela LT entre  $r = 0$  e  $r = \sqrt{2} \cdot w_o$  e pode ser expresso por [Shen et. al., 1992] como:

$$\theta = - \frac{P_{in} A L}{K \lambda_p} \frac{dn}{dT} \quad (3.24)$$

com  $P_{in}$  sendo a potência de excitação,  $A$  o coeficiente de absorção óptica no comprimento de onda do laser,  $L$  a espessura da amostra,  $K = \rho C_p D$  a condutividade térmica da amostra,  $\rho$  sua densidade,  $C_p$  o calor específico e  $dn/dT$  a variação do índice de refração com a temperatura.

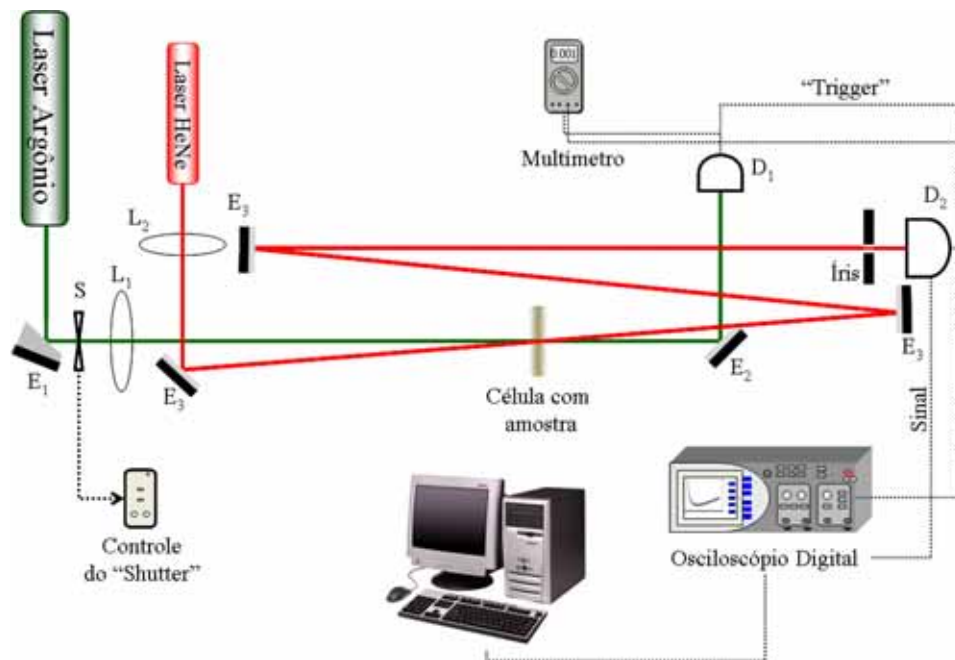
Em suma, pode-se perceber que, com a aplicação da ELT, é possível determinar as seguintes propriedades termo-ópticas de materiais transparentes: difusividade térmica ( $D$ ) e variação do índice de refração com a temperatura ( $dn/dT$ ). Porém, uma vez que a densidade e o calor específico da amostra estudada sejam parâmetros conhecidos, também é possível determinar sua condutividade térmica ( $K$ ), conforme será mostrado em detalhes no Capítulo seguinte.

O modelo teórico para a LT empregada neste trabalho foi o mesmo proposto por Shen et. al. (1992). Existe, no entanto, vários arranjos experimentais para a ELT que utilizam somente um feixe de laser e outros com feixe duplo em configurações diversas. Contudo, no arranjo experimental usado neste trabalho, ambos os feixes de lasers são de onda contínua, e apresentam uma forma “descasada” na posição da amostra, ou seja, as cinturas dos feixes não são coincidentes. Tal modelo considera que o calor gerado pelo feixe de laser vai a zero quando o raio  $r$  da lente vai ao infinito. Este é o denominado modelo aberrante infinito.

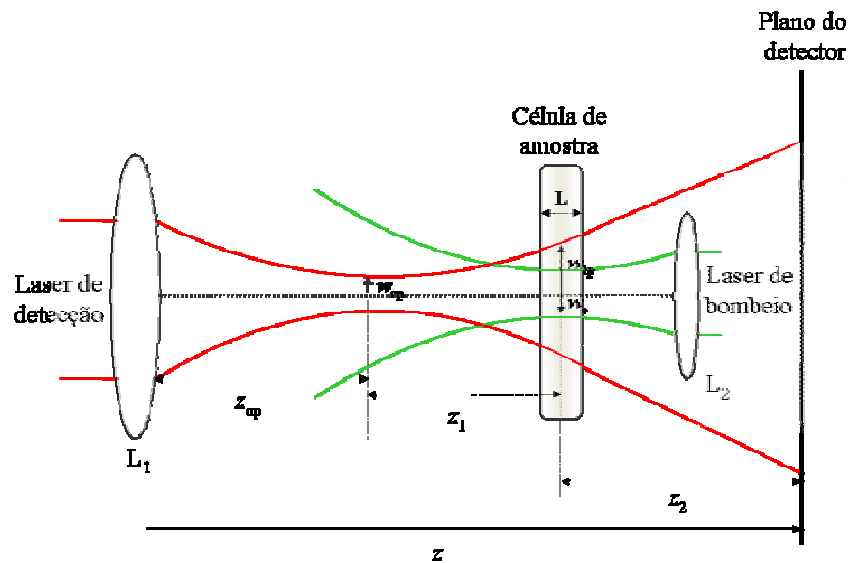
A Figura 3.15(a) mostra um esquema da configuração da LT empregada neste trabalho. Nesta figura, E's representam os espelhos, L's as lentes e D's os detectores. O ângulo  $\alpha$  indica a pequena inclinação entre os feixes de excitação e prova. Nesta montagem, o feixe de excitação (laser de Ar<sup>+</sup>) de alta potência é focado pela lente  $L_1$  e a incidência da luz do laser de Ar<sup>+</sup> na amostra é controlada por um shutter mecânico. Ao passar pela amostra, o feixe de excitação incide no detector  $D_1$  e serve como referência para o sistema de aquisição (osciloscópio). O laser de HeNe (feixe de prova) de baixa intensidade com comprimento de onda de emissão de 632,8 nm é focado por uma lente  $L_2$ , formando um ângulo muito pequeno ( $\alpha < 1,5^\circ$ ) com relação ao feixe de excitação, e durante a medida ele é centrado para passar pela LT e maximizar o sinal no detector  $D_2$ . Logo após atravessar a LT formada, o feixe de prova é direcionado pelos espelhos E's até que o raio do feixe no detector  $D_2$  seja bem maior que a abertura da fenda que é colocada na frente do detector, garantindo assim que apenas a parte central do feixe seja detectada. Uma distância  $z_2$  padrão corresponde a aproximadamente 2 m. O sinal de LT detectado por  $D_2$  é então transferido para um osciloscópio digital que está conectado ao microcomputador, permitindo assim que os dados possam ser transferidos e armazenados em forma de arquivo.

A Figura 3.15(b) que mostra a disposição dos feixes de laser na amostra. A posição da cintura do feixe de prova é tomada como a origem ao longo do eixo  $z$ , enquanto que a amostra é posicionada em  $z_1$ , a qual representa a distância entre as cinturas dos feixes de

excitação e de prova. O plano do detector é posicionado em  $z_1 + z_2$ , sendo  $z_2$  a distância da origem até o detector que captará o sinal do feixe de prova após este passar pela LT gerada. As representações  $L_1$  e  $L_2$  são as lentes convergentes usadas para focar os dois feixes,  $w_{oe}$  e  $w_{op}$  são os raios dos feixes de excitação e de prova nas suas respectivas cinturas. Com o intuito de atingir a maior sensibilidade do método é conveniente utilizar o diâmetro do feixe de prova na amostra maior do que o do laser de excitação, isto resultará num aumento da sensibilidade se comparado tanto ao modo casado quanto ao descasado [Shen et. al., 1992].



(a)



(b)

**Figura 3.15:** (a) Diagrama esquemático do aparato experimental da técnica de lente térmica no modo descasado. (b) Posição geométrica dos feixes de excitação e prova próximo da amostra.

Contudo, previamente à montagem do experimento de LT com dois feixes lasers no modo descasado é necessário determinar os parâmetros geométricos do sistema, isto é,  $m$ ,  $V$ ,  $w_{0e}$ ,  $w_{0p}$  e  $z_1$ . Esses parâmetros são fundamentais na Equação 3.22, usada para ajustar os resultados dos transientes obtidos por LT. Em outras palavras, precisa-se ter conhecimento das posições focais das lentes  $L_1$  e  $L_2$ , bem como seus raios no foco. Esses parâmetros foram obtidos pelo GEOF-UEMS através do método do “Chopper” Mecânico<sup>5</sup>.

Na Tabela 3.2 encontram-se sumarizados os parâmetros geométricos do arranjo da LT empregado neste trabalho. É importante ressaltar que esses valores não são referentes à posição de máxima sensibilidade da LT. Isto porque nesta posição os transientes obtidos para os óleos apresentariam sinais muito grandes, não fornecendo a precisão necessária nas medidas de LT. Por isso, estes valores são inerentes a um deslocamento de 7 cm de  $L_1$ , afastando-se da suposta posição onde  $L_1$  estaria se a sensibilidade da LT fosse máxima.

<sup>5</sup> Método que foi adaptado no GEOF e tema do Trabalho Final de Conclusão de Curso (TCC) do mestrando.



**Tabela 3.2: Parâmetros geométricos do sistema usados tanto nos estudos dos óleos refinados de milho com ácido cítrico quanto nos dos óleos com ácido cítrico.**

Parâmetros Geométricos	
Comprimento de onda do feixe de excitação, $\lambda_e$	514,5 nm
Comprimento de onda do feixe de prova, $\lambda_p$	632,8 nm
Distância confocal do feixe de excitação, $z_{ce}$	1,74 cm
Distância confocal do feixe de prova, $z_{cp}$	11,6 cm
Raio do feixe de excitação na posição da amostra, $w_{oe}$	$22,14 \times 10^{-3}$ cm
Raio do feixe de prova na amostra, $w_{1p}$	$15,26 \times 10^{-3}$ cm
m	0,754
V	0,767
$z_1$	8,9 cm

Estando à amostra na sua devida posição, inicia-se o processo de aquisição de dados com a espectrometria de LT. Com o laser de excitação interrompido por um shutter, posicionado entre os espelhos  $E_1$  e  $E_2$ , inicialmente é feito um alinhamento do laser de prova que, após passar pela amostra, é refletido pelos espelhos  $E_3$  até incidir no detector, conforme pode ser observado pela Figura 3.15. Desta forma, o sinal de LT no detector é maximizado. A longa distância entre a amostra e o detector  $D_2$ , chamada de  $z_2$ , tem por finalidade aumentar o diâmetro do laser de prova no detector. Isto é um dos fatores que aumenta a sensibilidade da técnica, o que é necessário para satisfazer o modelo, no qual apenas a posição central do feixe deve ser medida.

Feito o alinhamento do laser de prova, o “shutter” é, então, aberto de modo que o laser de excitação incida na amostra. Com isso a LT é formada e, quando atinge o estado estacionário, o laser de excitação é alinhado transladando a lente  $L_1$  nas direções perpendiculares à direção de propagação do feixe de laser, em  $z$ . Dessa forma o cruzamento perfeito entre os dois feixes (prova e excitação) é atingido, tal que um aumento de sinal é obtido.

Estando pronto o alinhamento do sistema é dado início ao processo de medida com a LT. O feixe de excitação é rapidamente liberado pelo shutter, criando a LT, e o efeito é detectado por  $D_2$ . Este transiente característico do efeito de LT é, então, transferido para um osciloscópio digital que está interligado com um microcomputador, onde as curvas são armazenadas em forma de arquivo (.dat) para serem analisadas. Uma vez obtida a curva experimental para o transiente de LT, o próximo passo é ajustá-la com a Equação 3.22 para obter os parâmetros  $\theta$  e  $t_c$ , com os quais se podem encontrar diretamente os resultados da difusividade térmica. Como será apresentado no próximo Capítulo, sendo conhecidos outros parâmetros da amostra, como calor específico ( $C_p$ ), coeficiente térmico do índice de refração com a temperatura ( $dn/dT$ ) e densidade ( $\rho$ ), é possível encontrar a condução térmica ( $K$ ) e, ainda, o coeficiente de absorção ( $A$ ) das amostras oleaginosas estudadas nesta dissertação.

# Capítulo 4

## Resultados e Discussões

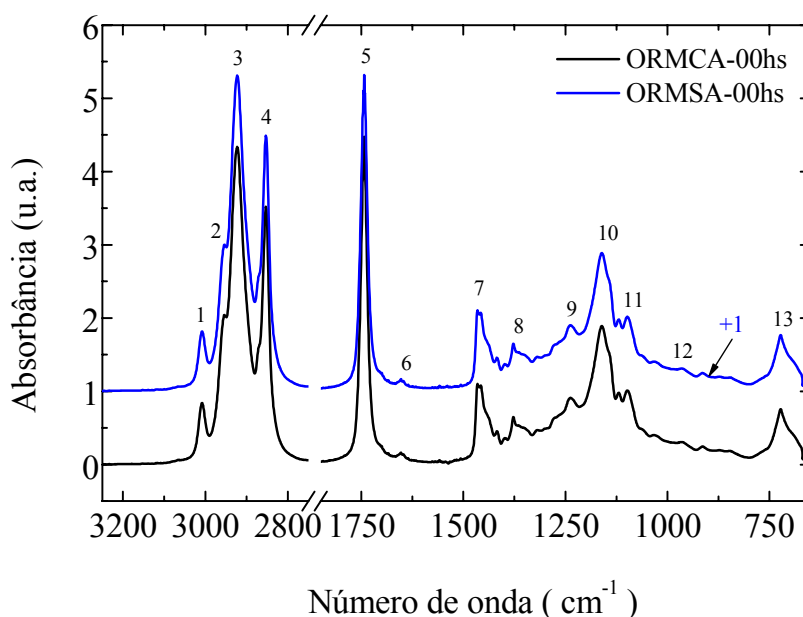
Neste capítulo, serão apresentados os resultados e discussões sobre as medidas de absorção no infravermelho médio, seguidas pelas apresentações dos resultados de absorção e fluorescência no UV-Vis, densimetria, calorimetria, interferometria óptica e espectrometria de LT.

### 4.1. Medidas de FTIR

Os espectros de absorção das amostras dos ORMCA e ORMSA foram obtidos depositando 200  $\mu\text{L}$  de óleo na janela de ZnSe do espectrofotômetro de FTIR. Cada espectro foi obtido entre 4000 e 650  $\text{cm}^{-1}$  com 64 varreduras, resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e velocidade do espelho de 1,27  $\text{cm/s}$ .

A Figura 4.1 mostra os espectros obtidos para as amostras dos ORMCA e ORMSA sem tratamento térmico, ou seja, com zero hora de aquecimento. Para facilitar a visualização das curvas, ao espectro do ORMSA foi adicionada uma unidade 1 na absorbância, por isso a linha de mínima absorbância não está em zero para este espectro, conforme indicado na figura. O intervalo compreendido entre 2750 e 1800  $\text{cm}^{-1}$  foi ocultado da Figura 4.1 por não apresentar nenhuma absorbância referente ao óleo. Devido à semelhança entre os espectros tratados termicamente, os mesmos também não são mostrados na figura.

Conforme ver-se-á a seguir, é impossível identificar uma alteração na estrutura do óleo por uma simples inspeção das intensidades de absorbância para cada um dos picos presentes na Fig. 4.1. Por isso, uma forma alternativa de análise foi usada neste trabalho e será apresentada mais adiante. Antes, porém, é importante identificar os principais picos de absorbância enumerados na Fig. 4.1, os quais se referem aos modos vibracionais dos grupos funcionais característicos dos triglicerídeos, que corresponde à composição básica dos óleos comestíveis. Os picos estão listados na Tabela 4.1, a qual foi elaborada com base no que se dispõe na literatura sobre espectroscopia no infravermelho médio em óleos vegetais [Sherman, Chapter 15; Guillén; Cabo, 1997]. Ademais, devido à alta absorbância dos óleos na região do infravermelho médio, a identificação dos picos de absorção referentes ao antioxidante fica comprometida.



**Figura 4.1:** Espectros de absorção no IV médio para os ORMCA e ORMSA sem aquecimento obtidos por FTIR-ATR.

O esquema da Figura 4.2 apresenta os sete modos vibracionais baseado nos átomos que constituem a molécula dos óleos, inclusive o de milho. O modo “bending scissoring” corresponde à distorção dos átomos de H ligados ao C de modo semelhante ao movimento de corte de uma tesoura, conforme indicam as setas na figura. Por esse

movimento é fácil entender o nome “scissoring” para o modo vibracional. Este movimento se dá no plano da longa cadeia molecular do óleo. Os modos “bending rocking” e “bending symetric” também são facilmente entendidos notando a indicação das setas nas figuras. Os sinais de (+) e (-) no modo “bending” na figura indicam os movimentos para dentro (-) ou fora (+) do plano da cadeia molecular (ou plano da folha). Entende-se por “stretching” os estiramentos ocorridos, no plano da molécula, conforme as indicações das setas em negrito na figura [Sherman, Chapter 15; Guillén; Cabo, 1997].

**Tabela 4.1: Número de ondas, grupos funcionais e modo de vibração das intensidades dos picos dos espectros de oleaginosas.**

Picos	Número de Onda (cm <sup>-1</sup> )	Grupo Funcional	Modo de vibração
1	3008	=C-H (cis)	“Stretching”
2	2957	-C-H(CH <sub>3</sub> )	“Stretching asyemtric”
3	2930	-C-H (CH <sub>2</sub> )	“Stretching asyemtric”
4	2855	-C-H (CH <sub>2</sub> )	“Stretching symetric”
5	1749	-C=O (éster)	“Stretching”
6	1652	C=O, C-N (proteína)	“Stretching”
7	1465	-C-H (CH <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> )	“Bending scissoring”
8	1375	-C-H (CH <sub>3</sub> )	“Bending symetric”
9	1239	-C-O, - CH <sub>3</sub>	“Stretching” e “bending”
10	1160	-C-O, - CH <sub>2</sub> -	“Stretching” e “bending”
11	1095	-C-O	“Stretching”
12	960 – 990	=C-H (trans)	“Bending”
13	721	-(CH <sub>2</sub> )n-, HC=CH-(cis)	“Bending rocking”

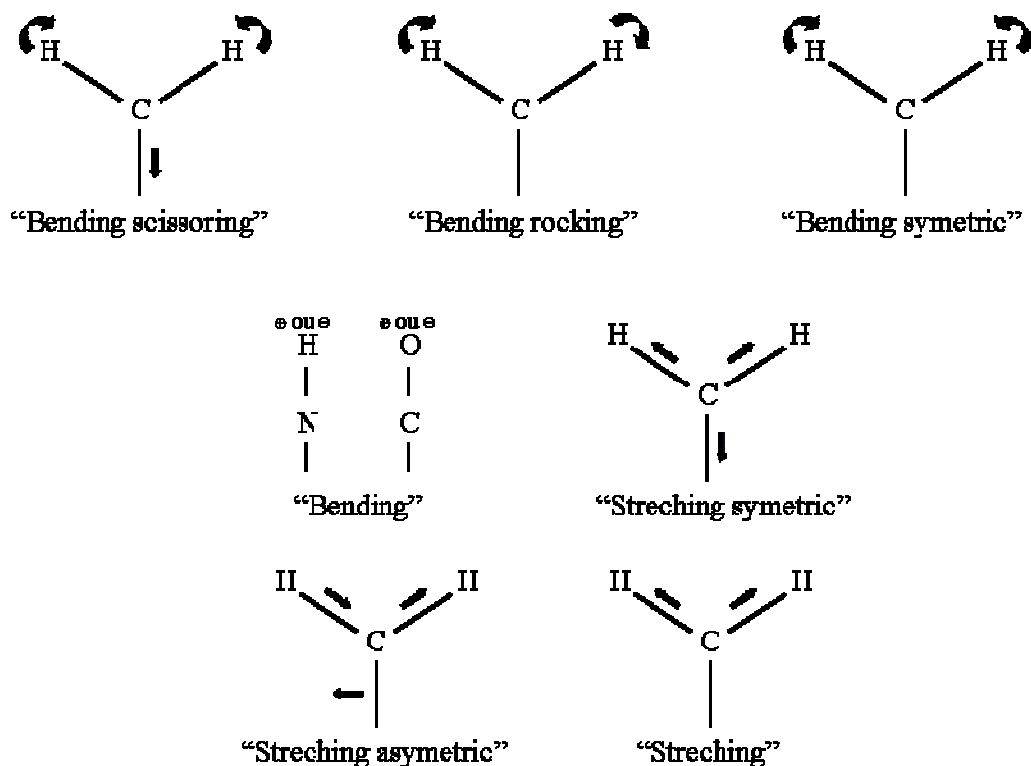
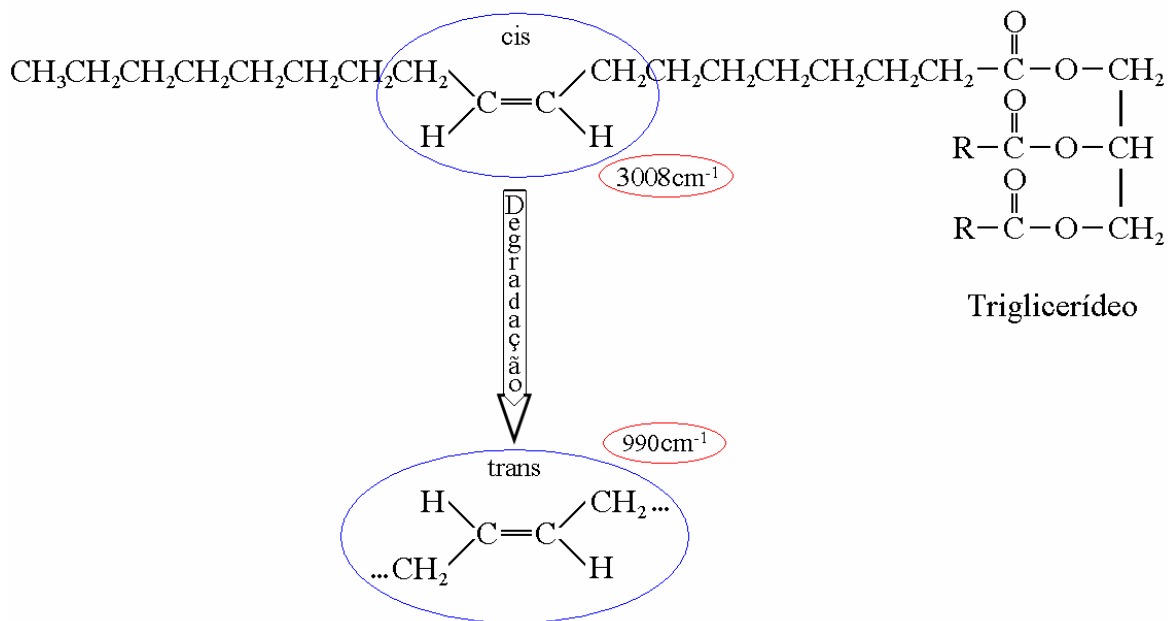


Figura 4.2: Representação dos modos vibracionais das moléculas encontrados nas amostras de óleos estudadas.

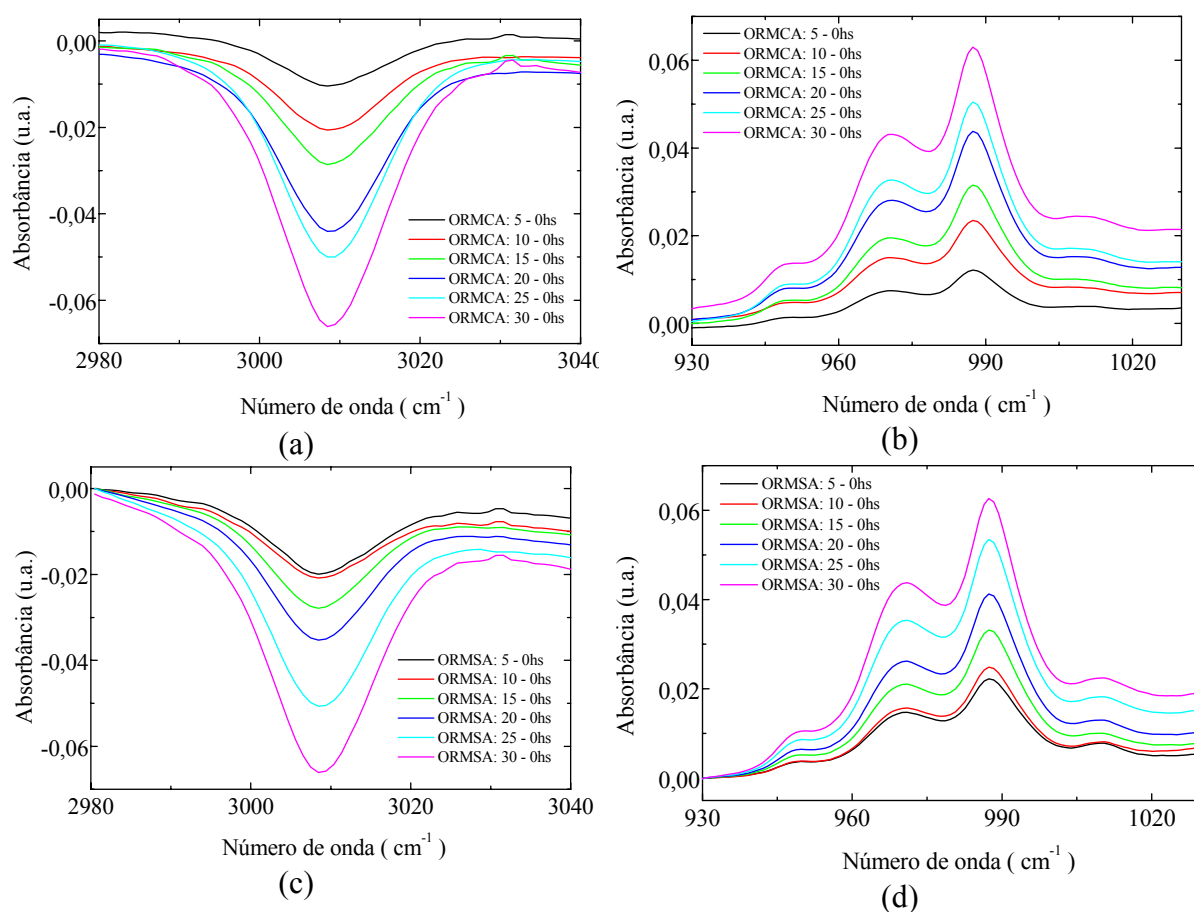
A Sociedade Americana de Química dos Óleos (“American Oil Chemists’ Society, AOCS”) reconhece a espectroscopia no infravermelho como a metodologia padrão de identificação de óleos comestíveis adulterados [AOCS, 1990]. A análise consiste em averiguar o aumento na intensidade da absorvância na região entre  $990$  e  $960\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde à região “bending” do Hidrogênio na configuração isomérica trans (ver Tabela 4.1). Ou seja, inicialmente o óleo apresenta a configuração cis para a ligação  $\text{HC}=\text{CH}$ , mas com a oxidação, um dos H do isômero se rearranja e a molécula passa a ser trans [Skopelitis et. al., 2006; Guillén; Cabo, 1997], conforme nota-se pelo esquema da Figura 4.3. Quando cis, o modo de vibração corresponde ao pico 1 da Fig. 4.1 (em  $3008\text{ cm}^{-1}$ ). Portanto, é de se esperar que com a degradação o pico em  $3008\text{ cm}^{-1}$  diminua em intensidade enquanto que o pico na região de  $990$  e  $960\text{ cm}^{-1}$  aumente.



**Figura 4.3: Estrutura química de um triglicerídeo. Inicialmente o óleo apresenta a configuração cis para a ligação HC=CH, contudo, com a degradação, a dupla ligação se rearranja de forma que o óleo passa a ter uma configuração trans.**

Para confirmar esta alteração nos espectros estudados, procedeu-se com o método de análise diferencial [AOCS, 1990; Sedman, Chapter 23] que consiste em fazer a diferença entre o espectro alterado pelo espectro original, ou seja, subtrai-se o espectro do óleo aquecido pelo espectro do óleo não aquecido. A Figura 4.4 mostra a absorvância do ORMCA X-0hs, com X = 5, 10, 15, 20, 25 e 30 horas de aquecimento, dos picos em 3008 cm<sup>-1</sup> (a) e em 987 cm<sup>-1</sup> (b) e também a absorvância do ORMSA X-0hs, com X = 5, 10, 15, 20, 25 e 30 horas de aquecimento, dos picos em 3008 cm<sup>-1</sup> (c) e em 987 cm<sup>-1</sup> (d). O comportamento dos picos confirma o que se esperava com respeito ao efeito da termo-oxidação sobre a estrutura do óleo refinado de milho. Porém, vale destacar que, embora a redução na absorvância centrada em 3008 cm<sup>-1</sup> indique a alteração sofrida pelo óleo, apenas o aumento da intensidade entre 940 e 1000 cm<sup>-1</sup> é considerado pela AOCS [AOCS, 1990]. Isso porque o pico referente à configuração trans não deve estar presente em grandes proporções nos óleos comestíveis [Skopelitis et. al., 2006; Guillén; Cabo, 1997]. Assim, reconhecem a

espectroscopia FTIR observada próximo de  $1000\text{ cm}^{-1}$  por que apresenta um diagnóstico da presença ou não desta configuração molecular indesejada em óleos.

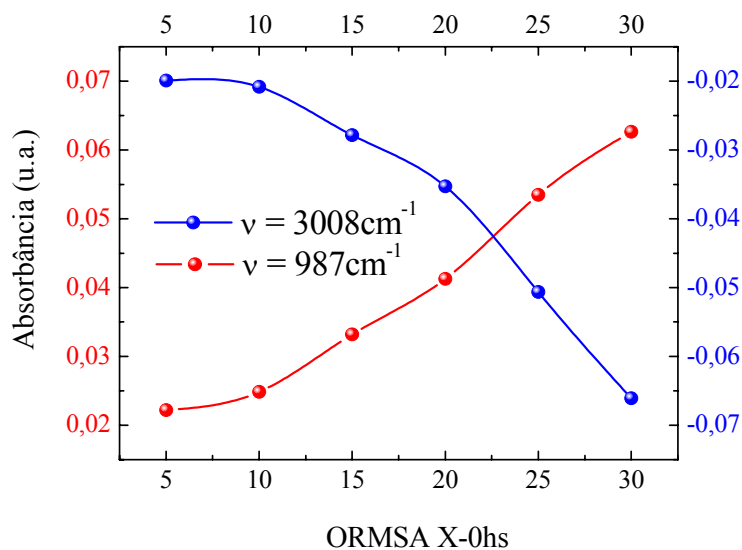


**Figura 4.4: Absorbância do ORMCA X - 0hs, com X = 5, 10, 15, 20, 25 e 30 horas de aquecimento, nos picos em  $3008\text{ cm}^{-1}$  (a) e em  $987\text{ cm}^{-1}$  (b); Absorbância do ORMSA X - 0hs, com X = 5, 10, 15, 20, 25 e 30 horas de aquecimento, nos picos em  $3008\text{ cm}^{-1}$  (c) e em  $987\text{ cm}^{-1}$ .**

Pelo tempo máximo de 30hs de aquecimento dos óleos em  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  pode-se afirmar que a termo-oxidação induzida não foi considerável para indicar possíveis diferenças entre as amostras dos óleos com e sem antioxidante. Esta escolha de tempo foi proposital para testar a potencialidade dos métodos usados nesta dissertação para apontar a degradação dos óleos pela temperatura. Ademais, nota-se ainda que a presença do antioxidante não impediu que o óleo se degradasse, pois ambos tipos de óleo apresentam uma similar alteração na forma do espectro. Para facilitar a visualização desta afirmação a Figura 4.5 mostra a dependência do máximo de absorbância em  $3008$  e  $987\text{ cm}^{-1}$  para o ORMSA em função do tempo de



aquecimento em horas. Pela figura se nota que as curvas são bastante simétricas. Devido à similaridade, a curva para o ORMCA não é mostrada.



**Figura 4.5:** Dependência do máximo de absorbância em 3008 e 987 cm<sup>-1</sup> para o ORMCA em função do tempo de aquecimento de Xhs.

Outra forma de ver essa relação de variação de absorbância com o tempo de oxidação é construir um gráfico da absorbância em 3008 cm<sup>-1</sup> em função da absorbância em 987 cm<sup>-1</sup>, conforme mostrado na Figura 4.6 para o ORMCA. Fazendo um ajuste dos pontos por uma curva linear teórica obteve-se  $-(1,00 \pm 0,03)$  para o coeficiente angular, com fator  $R^2 = 0,982$ . Para o ORMCA obteve-se  $-(0,95 \pm 0,04)$ , com  $R^2 = 0,952$ . Em ambos os óleos estudados o ajuste foi feito mantendo-se constante o coeficiente linear. Pelos valores do coeficiente angular observa-se que as variações de absorbância dos picos estão estritamente relacionadas.

Pelos dados de infravermelho até aqui analisados, pode-se concluir que ambas as amostras estudadas, com e sem o antioxidante ácido cítrico, acabaram sofrendo o mesmo grau de oxidação no intervalo de 30 horas de aquecimento. A seguir, nas próximas seções, serão apresentados os resultados e discussões das demais análises feitas nestes óleos, usando, porém, outras metodologias de análise ainda não reconhecidas pelos órgãos reguladores da qualidade do óleo comestível.

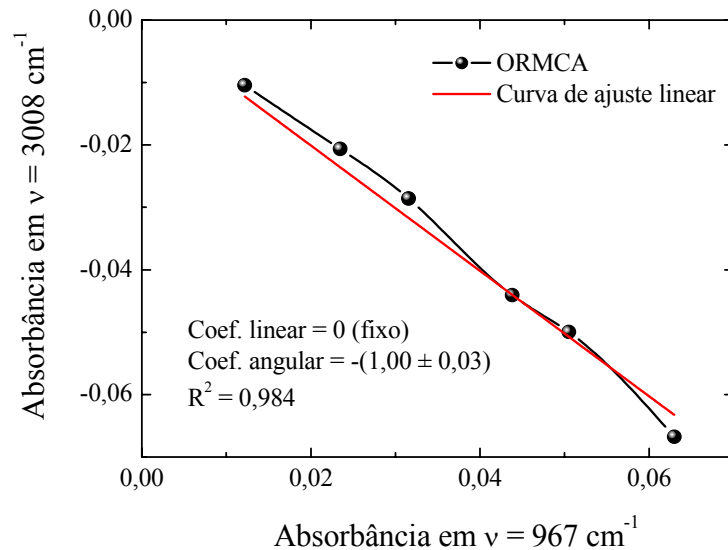


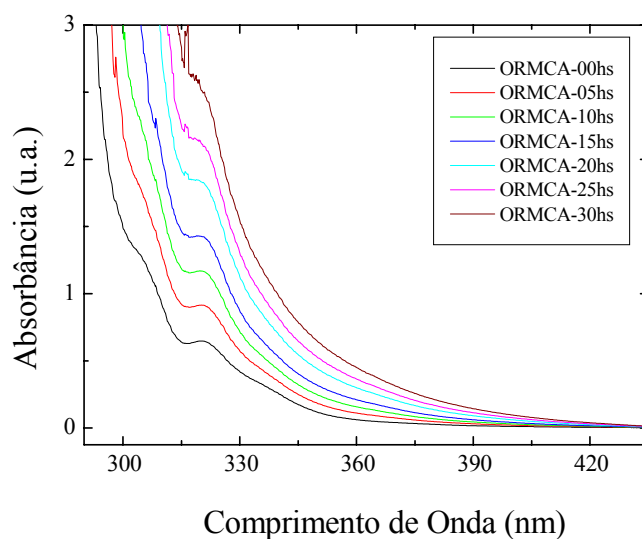
Figura 4.6: Comportamento da absorbância em  $3008 \text{ cm}^{-1}$  em função da absorbância em  $967 \text{ cm}^{-1}$ .

## 4.2. Medidas de absorção e fluorescência no UV-Vis

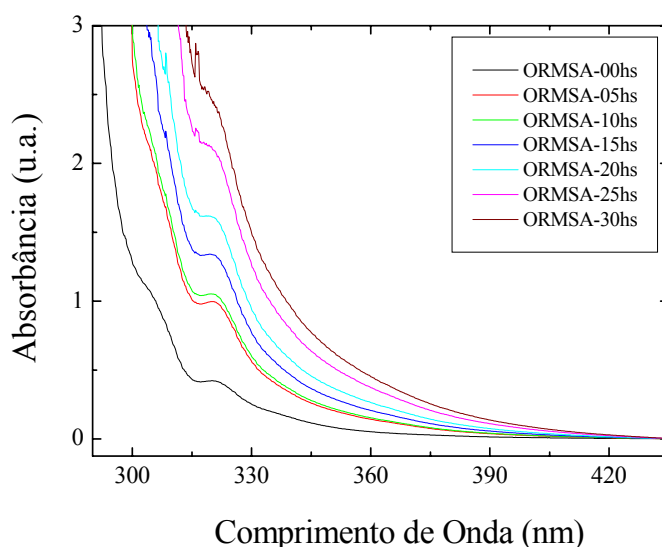
Os espectros de absorção no UV-Vis dos ORMCA e ORMSA são mostrados nas partes (a) e (b) da Figura 4.7, respectivamente. Os espectros foram obtidos a partir das diferentes amostragens dos óleos termo-oxidados. Pelos espectros pode-se notar uma alta absorção na região espectral compreendida entre 280 e 360nm, a qual aumenta em função da termo-oxidação dos óleos, independente da presença ou não do antioxidante. Tais regiões de absorção podem ser atribuídas a alguns dos produtos da oxidação dos óleos analisados, uma vez que os compostos primários deste processo apresentam centros absorvedores em torno de 240 e 320 nm (dienos conjugados). Além disso, os compostos secundários (trienos, aldeídos, cetonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturada, conjugada) apresentam picos de absorção em torno de 280 e 320nm [Cella et. al., 2002].

Alguns autores também atribuem esta alta absorção UV à região das duplas ligações entre os carbonos dos ácidos oléicos ( $\omega$ -9, 18:1), linoléicos ( $\omega$ -6, 18:2) e linolênicos ( $\omega$ -3, 18:3), as quais contribuem para o alto grau de insaturação destes óleos [Owen; Haubner; Mier, 2003]. Oleaginosas de milho são compostas essencialmente de ácido linoléico ( $\omega$ -6, alto

linoléico) chegando a ultrapassar os 60% da composição total do óleo (ver Tabela 2.3, Capítulo 2).



(a)



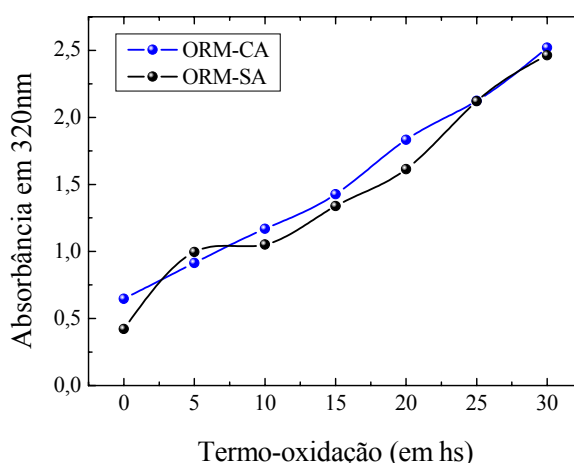
(b)

**Figura 4.7: Espectros de absorção dos ORMCA (a) e ORMSA (b) em função da termo-oxidação**

De acordo com Reda e Carneiro (2007) os espectros das Figuras 4.7, especificamente a região de alta absorção dos óleos, indicam a presença de transições eletrônicas do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  correspondentes a compostos ou grupos cromóforos, ou seja, grupos funcionais que contêm elétrons de valência com energias de excitação relativamente baixas, os quais geram, além de um aumento na intensidade de absorção em função do tempo de aquecimento, um deslocamento batocrômico em direção ao vermelho [Vecchi et. al., 2004;

Skoog; Holler; Nieman, 2002.]. Tais observações são inerentes ao progressivo processo de termo-oxidação dos óleos vegetais, o qual conduz à formação de peróxidos e isômeros trans conjugados, e ao deslocamento das duplas ligações com conseqüente formação de dienos conjugados e de moléculas ricas em ligações  $\pi$ , como a cetona  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturada (conjugada), de alta absorção na região do UV-Vis, conforme dito anteriormente [Skoog; Holler; Nieman, 2002.]. Estas últimas, necessariamente tendem a aumentar a intensidade e a posição da banda de absorção para maiores comprimentos de onda, acusando de imediato que o óleo não está no seu estado mais puro [Glazer, 1990].

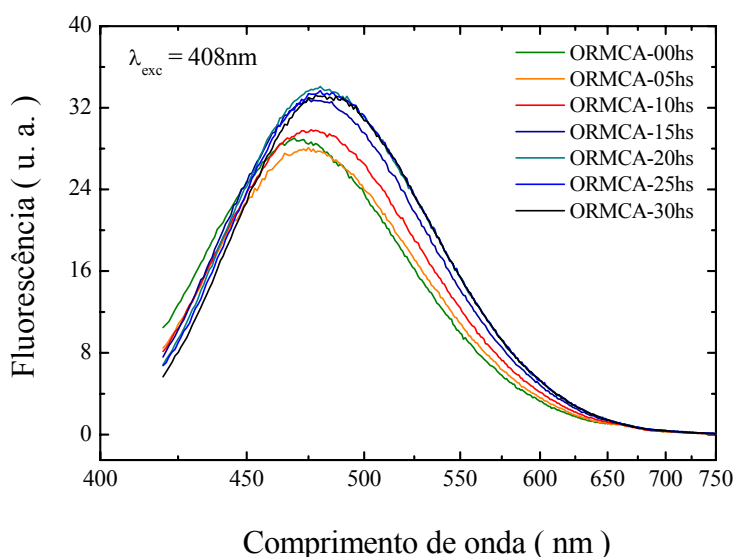
Deste modo, a região do ultravioleta pode ser usada para verificar a variação destes compostos. Isto foi realizado por meio da determinação da absorbância dos óleos em 320nm. Os dados obtidos podem ser visualizados na Figura 4.8. Pode-se observar claramente, portanto, a evolução das bandas de absorbância. Estudos recentes mostraram que este comportamento crescente da absorção é similar ao da porcentagem de dienos conjugados em óleos de soja e girassol usados em frituras de alimentos, um dos produtos da oxidação que provavelmente estão entre os centros absorvedores da região do UV-Vis [Del Ré, 2003].



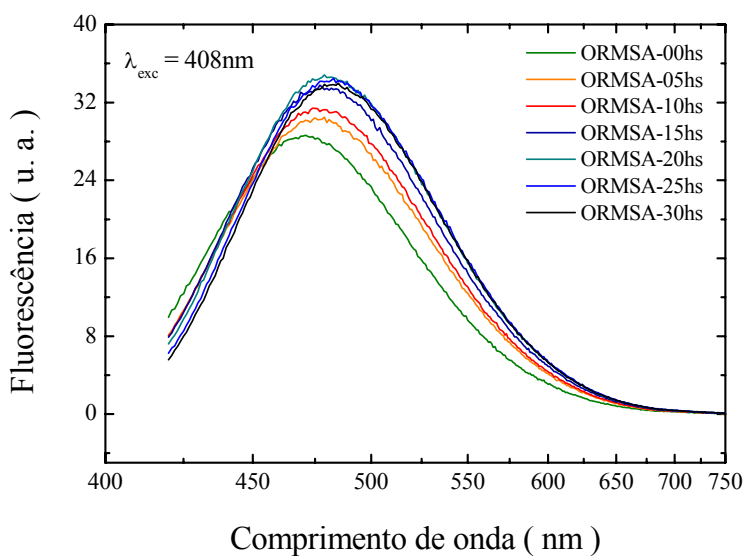
**Figura 4.8: Comportamento da absorbância em 320 nm dos ORMCA e ORMSA em função do tempo de termo-oxidação.**

Por outro lado, assim como a espectroscopia no infravermelho médio, a espectroscopia de absorção UV-Vis não foi capaz de diferenciar o comportamento da absorbância para os dois tipos de óleos de milho, com e sem antioxidante.

Os espectros de fluorescência das amostras ORMCA e ORMSA são apresentados nas partes (a) e (b) da Figura 4.9, cuja emissão foi gerada pela absorção da luz em 408nm. Esta excitação foi selecionada por gerar maior fluorescência para os dois tipos de amostragens. Como os espectros de absorção das amostras estudadas não apresentam diferenças significantes em torno da região de interesse, não há necessidade de normalização dos espectros de fluorescência pelos de absorção.



(a)



(b)

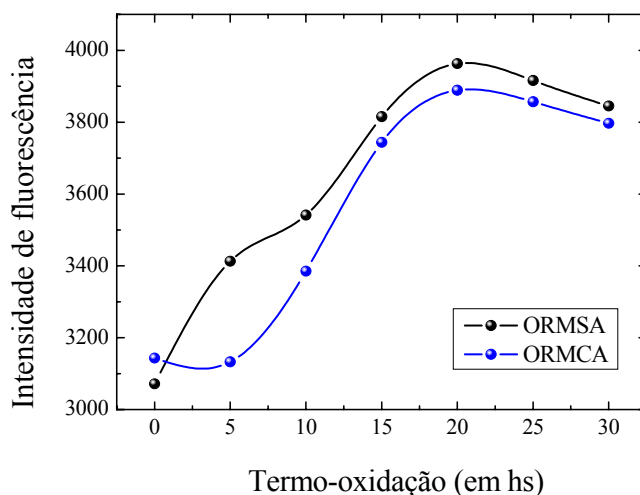
**Figura 4.9:** Espectros de fluorescência dos ORMCA (a) e dos ORMSA (b) em função da termo-oxidação, cuja emissão fora gerada com absorção da luz em 408nm.

Os espectros apresentados nas Figuras 4.9 mostram uma banda larga de emissão, centrada em torno de 460nm, característica dos óleos refinados de milho [Sikorska, 2004], a qual é inerente a certos grupos de moléculas ricas em ligações  $\pi$ , como cetonas insaturadas e conjugadas, típicas em óleos alterados ou não [Netto-Ferreira; Scaiano, 1999]. De fato, a abundância de elétrons  $\pi$  e a presença de aldeídos e cetonas aromáticas em óleos, favorecem o processo de luminescência [Skoog; Holler; Nieman, 2002]. Em outras palavras, no caso da abundância de elétrons  $\pi$ , o livre movimento dos mesmos através dos orbitais moleculares deslocalizados facilita as transições eletrônicas responsáveis pela luminescência [Skoog, et. al., 2002].

Partindo da análise dos espectros de fluorescência apresentados nas Figuras 4.9, facilmente nota-se um aumento inicial na intensidade de fluorescência em função do tempo de aquecimento dos óleos (em torno de 24% entre as amostras não aquecidas e as mais degradadas), seguido por uma aparente estabilização comportamental após as 20hs de aquecimento. Isto, certamente, indica uma acentuada degradação lipídica durante as etapas iniciais do processo de aquecimento dos óleos, mais acentuada nas amostras dos óleos sem antioxidante. Para ficar mais clara esta afirmação, construiu-se a Figura 4.10, onde é apresentado o comportamento das intensidades máximas de fluorescência em função da termo-oxidação dos dois tipos de amostragens. Considerando o fato das amostras iniciais dos óleos ORMSA apresentarem maiores aumentos na fluorescência em relação às dos óleos ORMCA, pode-se dizer que o efeito de degradação, possivelmente, foi maior nos óleos sem ácido cítrico, indicando que tal substância permitiu manter durante as primeiras horas de aquecimento as propriedades originais dos óleos, retardando, temporariamente, a sua alteração.

De acordo com Del Ré (2003) os índices de peróxidos dos óleos possuem comportamento similar ao observado na intensidade de fluorescência dos óleos apresentados

na Figura 4.10, ou seja, aumenta no início do processo de aquecimento até que se chegue próximo às 20 horas de uso do óleo e, a partir deste momento, começa a diminuir [Cuesta et. al., 1991]. Por outro lado, Cella et. al. (2002) relatam que pelo fato dos peróxidos serem instáveis, são rapidamente formados e quebrados em compostos menores, enquanto que os dienos conjugados, conseqüentemente, as cetonas conjugadas, que se formam concomitantemente, permanecem até o final da etapa de termo-oxidação, respondendo pela fluorescência das amostras oleaginosas, em acordo com proposto por Scaiano e colaboradores [Skoog; Holler; Nieman, 2002].



**Figura 4.10: Fluorescência das amostras oleaginosas ORMCA e ORMSA em função do tempo de aquecimento.**

Outra constatação importante inerente a Figura 4.9 é a dependência da posição do pico máximo de fluorescência em função do tempo de oxidação dos óleos, conforme pode ser notado na Figura 4.11. Isto reforça aquilo que fora discutido com respeito à interpretação do espectro de absorção no UV-Vis, ou seja, um deslocamento para o vermelho devido à mudança da estrutura molecular dos óleos.

Conclui-se, portanto, que as intensidades de fluorescência para os dois tipos de óleos, com e sem ácido cítrico, dão melhor indicação da presença do antioxidante no óleo milho do que a espectroscopia de absorção, mas mesmo assim é muito difícil afirmar a ação favorável do antioxidante no óleo.

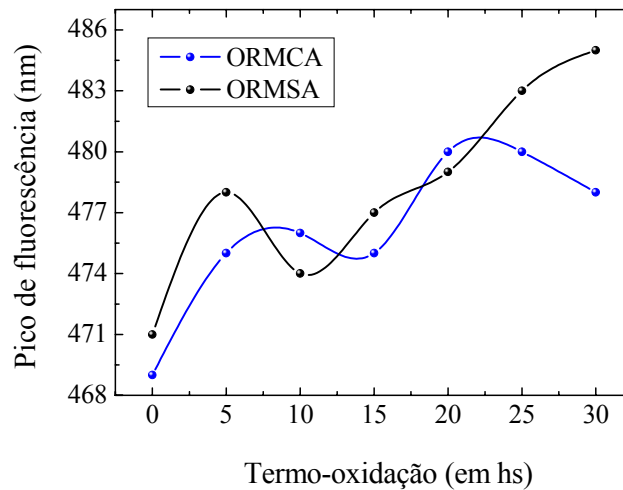


Figura 4.11: Pico de fluorescência em função da termo-oxidação dos ORMCA e ORMSA.

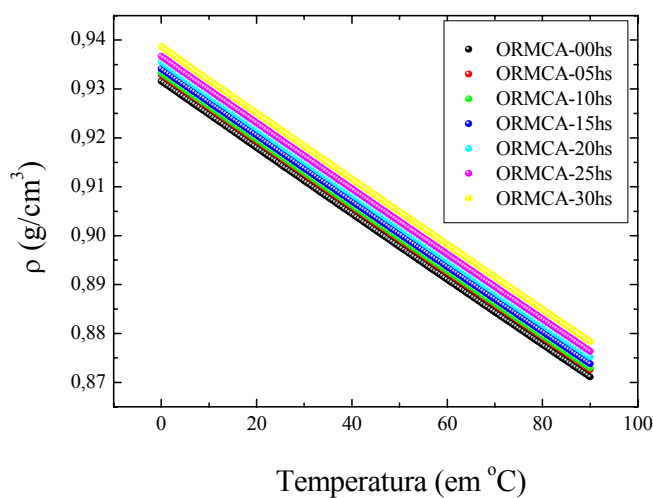
### 4.3. Medidas de Densidade

Os índices de densidade dos óleos ORMCA e ORMSA determinados por meio do densímetro ANTON PAAR – DMA 5000, descrito na seção 3.4 do Capítulo 3, são apresentados nas partes (a) e (b) da Figura 4.12, respectivamente. Cada transiente foi adquirido numa escala de temperatura de 0,5 °C/min numa região compreendida entre zero e 90 °C. A Figura 4.12 mostra que a densidade dos ORMCA e ORMSA: (i) decrescem linearmente com o aumento da temperatura, o que não é nenhuma novidade visto que durante o aumento da temperatura ocorre um aumento do coeficiente de expansão volumétrica das amostras; (ii) crescem progressivamente com o grau de termo-oxidação. Isto, certamente, deve-se a quebra na cadeia molecular dos óleos durante a etapa de aquecimento e, concomitantemente, uma inevitável redução na insaturação dos óleos. Este resultado concorda plenamente com a proposta de Coupland e McClements (1997), os quais afirmam que as densidades das amostras oleaginosas são, de fato, dependentes do comprimento da cadeia dos óleos e do grau de insaturação.

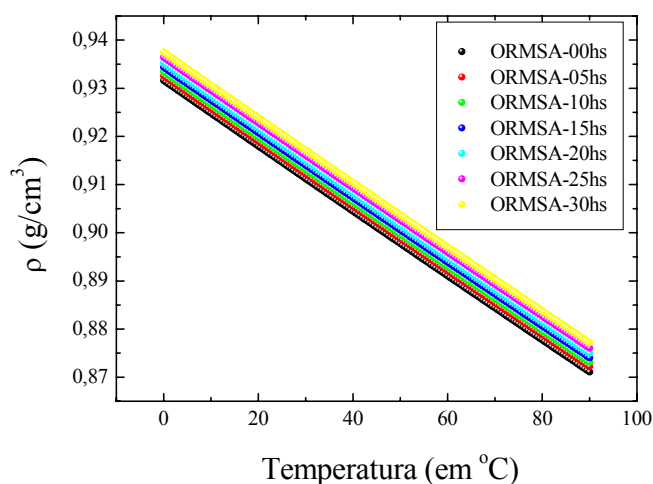
Das Figuras 4.12 pode-se verificar que as variações nos valores da densidade para os óleos com diferentes tempos de aquecimento é muito pequena, mas mesmo assim, bastante



significante. Na Figura 4.13 observa-se mais claramente este comportamento das medidas de densidade referentes à temperatura do densímetro em, aproximadamente, 28 °C.



(a)



(b)

**Figura 4.12: Comportamento da densidade dos ORMCA (a) e dos ORMSA (b).**

É provável que este aumento no valor da densidade em função da temperatura seja devido à polimerização térmica, tendo em vista que estas moléculas são formadas por ligações carbono-carbono e/ou carbono-oxigênio-carbono que podem envolver vários ácidos graxos [Del Ré, 2003]. Assim, os polímeros formados durante a termo-oxidação tendem a aumentar a viscosidade do óleo devido ao tamanho e peso molecular. Isto levaria a um aumento na densidade com o processo de aquecimento, como observado na Figura 4.13. Outro fator seria a variação no índice de peróxidos, relacionada com a formação dos hidroperóxidos, produtos primários da oxidação que são instáveis nas condições do processo de termo-oxidação. Estes

se decompõem em misturas de combinações de aldeídos, principalmente voláteis, deste modo apresentando um comportamento semelhante ao da densidade, como foi mostrado por Del Ré (2003).

Da análise da Figura 4.13 e tendo em vista que a precisão do densímetro é de  $10^{-5}$   $\text{g/cm}^3$ , conclui-se, portanto que este método revela informações satisfatórias quanto ao grau de degradação dos óleos submetidos a estresse térmico de 30hs, mas não evidencia a presença do ácido cítrico na base composicional dos óleos.

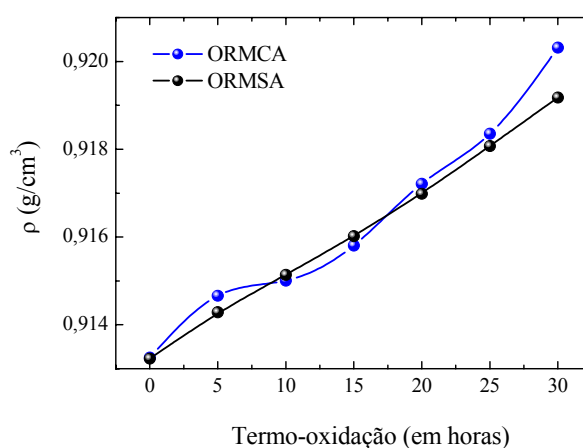
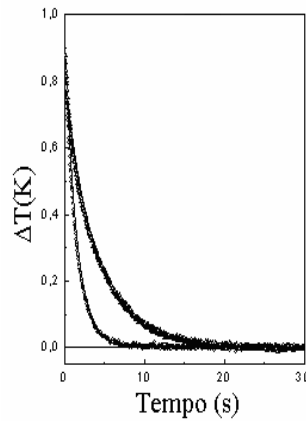


Figura 4.13: Densidade dos óleos em 28 °C em função da termo-oxidação.

## 4.4. Medidas de Calor Específico

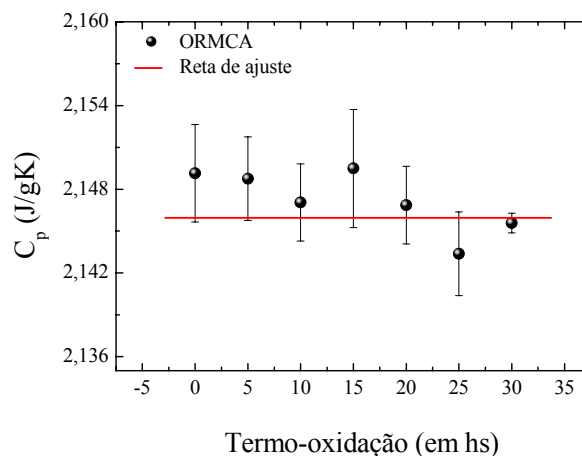
O procedimento laboratorial adotado para a aquisição dos valores de calor específico das amostras oleaginosas encontra-se detalhado na seção 3.4 do Capítulo 3. A Figura 4.14 mostra as curvas características de decaimento térmico ( $\Delta T(t) \times t$ ) do substrato e da amostra de ORMCA-00hs+substrato, conforme requer a metodologia do CRT. A curva mais acentuada foi determinada para o substrato e a curva mais sutil para o caso da amostra ORMCA-00hs+substrato. Ambas as curvas foram obtidas com um laser de Diodo com potência 5 mW. Pelo ajuste das curvas de decaimento foi obtido o valor de tempo  $\tau$  de cada curva, os quais forneceram por meio da Equação 3.6 os valores da capacidade térmica do

substrato e da amostra+substrato. Com esses parâmetros e conhecido a potência absorvida pelo substrato e a massa da amostra, através da Eq. 3.7 determinou-se o calor específico,  $C_p$ , do ORMCA-00hs. Este mesmo procedimento foi usado na determinação do  $C_p$  de cada uma das diferentes amostragens.

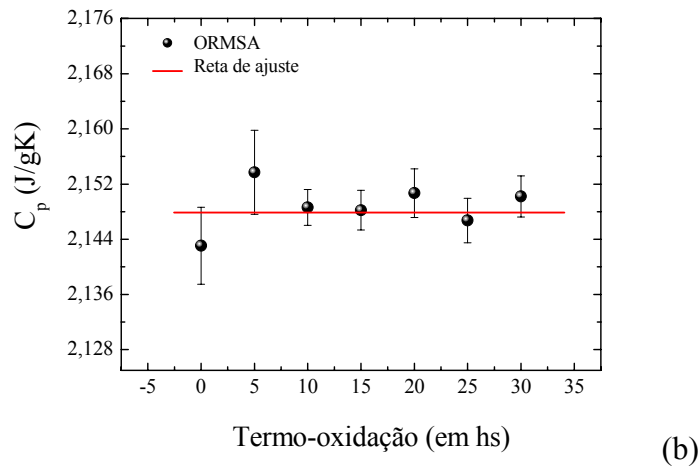


**Figura 4.14: Transiente térmico obtido pelo método de CRT. A curva mais acentuada foi determinada para o substrato e a curva mais sutil para o caso do substrato+ORMCA-00hs.**

Os valores de calor específico dos ORMCA e ORMSA mostraram que além de serem independentes da adição de ácido cítrico em óleos, também permanecem praticamente invariáveis durante as 30hs de estresse térmico, conforme claramente nota-se as Figura 4.15(a) e (b), respectivamente. Há apenas uma mínima indicação de diminuição no valor em função do tempo de aquecimento para o ORMCA, o que pode ser induzido pela oscilação do teor de umidade dos óleos termo-estressados [Del Ré; Jorge, 2007]. Enquanto que o ORMSA apresentou uma pequena tendência de aumento deste mesmo parâmetro.



(a)

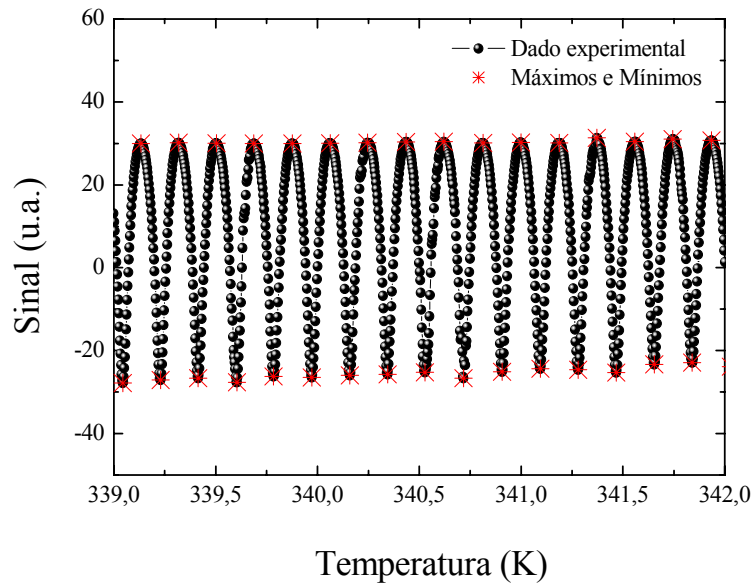


**Figura 4.15:** Calor específico ( $C_p$ ) dos ORMCA (a) e ORMCA (b) em função da termo-oxidação.

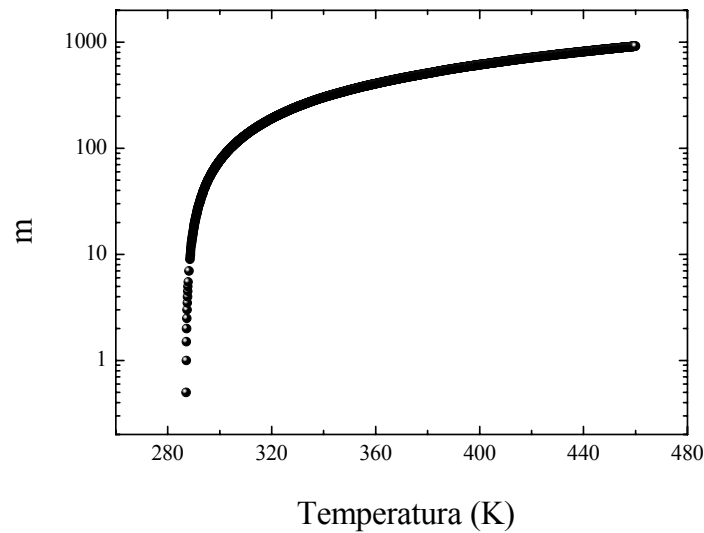
Portanto, dos valores de  $C_p$  apresentados nesta seção, conclui-se que o método calorimétrico CRT não indica, de forma clara e eficiente, a degradação dos óleos quando submetidos à 30hs de termo-oxidação. Ademais, nem mesmo evidência a presença do ácido cítrico na base composicional dos óleos de milho. Entretanto, mesmo assim, os valores de  $C_p$  fornecidos pela CRT, quando combinados aos valores de densidade e interferometria, os quais serão apresentados e discutidos a seguir, são de suma importância na obtenção das propriedades termo-ópticas determinadas pela Espectrometria de Lente Térmica (ELT).

## 4.5. Medidas de Interferometria Óptica

A Figura 4.16(a) mostra um interferograma do ORMCA-00hs do sinal detectado pelo fotodiodo em função da temperatura. Deste dado experimental obtêm-se as temperaturas dos máximos e dos mínimos de intensidade ( $m$ ), a partir dos quais se pode construir a curva de  $m$  em função da temperatura ( $T$ ), como apresentado na parte (b) da Figura 4.16. Em princípio, a escolha do primeiro valor de máximo, ou mínimo, é arbitrário e, portanto pode-se escolhê-lo como zero [Weller, 2004].



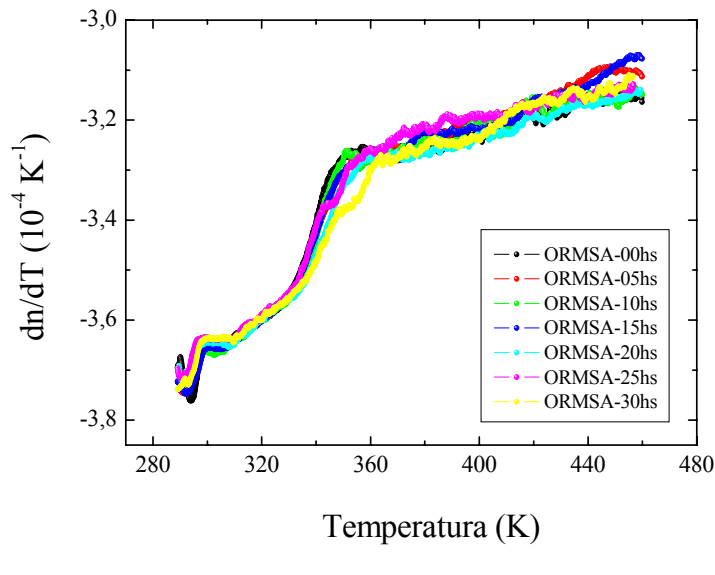
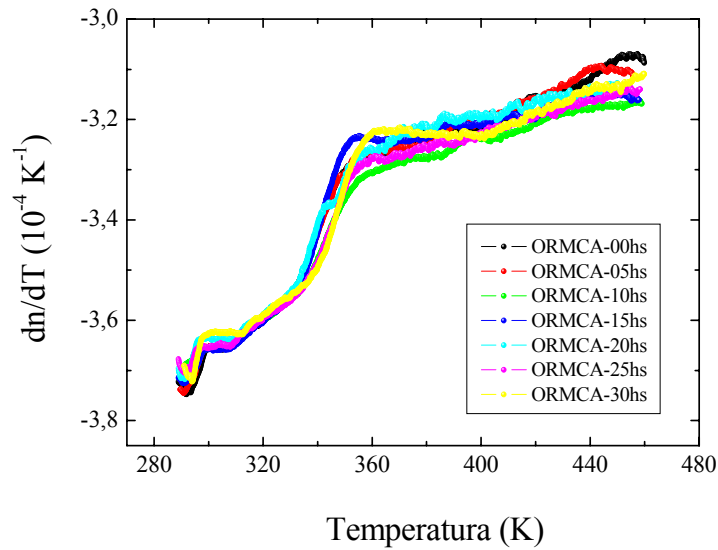
(a)



(b)

**Figura 4.16: (a) Intensidade do sinal no fotodiodo em função da temperatura para o ORMSA-00hs. (b) Comportamento de  $m$  em função da temperatura para o ORMSA-00hs.**

Partindo das curvas de  $m$  versus  $T$  calculou-se a derivada numérica ( $dm/dT$ ) e por meio da equação  $\frac{dn}{dT} = \frac{\lambda}{2L} \left( \frac{dm}{dT} \right)$ , e conhecendo a espessura da amostra ( $L = 5\text{mm}$ , cubeta de quartzo da Hellma) e o comprimento de onda ( $\lambda = 632,8\text{ nm}$ ; laser de HeNe), determinou-se os valores de  $dn/dT$  em função da temperatura para o ORMSA-00hs. Usando este mesmo procedimento, os valores de  $dn/dT$  de todas as amostras dos ORMCA e ORMSA foram obtidos, conforme mostra as Figuras 4.17(a) e (b), respectivamente.



**Figura 4.17: Comportamento de  $dn/dT$  em função da temperatura. As curvas em (a) representam os ORMCA, enquanto que as curvas em (b) apresentam os ORMSA.**

Nota-se pelas Figuras 4.17 que as variações nos valores de  $dn/dT$  em função da temperatura foram da ordem de 16% ao longo da rampa de aquecimento e se observa que não houve mudança significativa, entre os dados das amostras dos ORMCA e SA mais e menos termo-estressados, quando comparado dentro da mesma faixa de temperatura. Isto, pode ser melhor notado se analisado a Tabela 4.2, onde os valores absolutos para o coeficiente térmico do índice de refração nas temperaturas de 300 e 450K, para as amostras dos dois tipos de óleos, são mostrados.

Nota-se ainda pelas Figuras 4.17 que após aumentar até em torno de 320K, há um aumento rápido no valor de  $dn/dT$  com a temperatura até em torno de 360K. Daí em diante, observa-se inicialmente um outro patamar seguido por uma nova variação e/ou comportamento, acima de 410K. Esta mudança de tendência em torno de 320K pode indicar a ocorrência de quebra molecular com o aquecimento, uma vez que pode ser entendido como um aumento do coeficiente de temperatura da polarizabilidade eletrônica,  $\phi$ , em razão do estado mais dissociado das moléculas na amostra [Constantini, 2006].

**Tabela 4.2: Valores de  $dn/dT$  medidos para as amostras dos ORMCA e SA referentes às temperaturas de 300 e 450 K.**

Tempo de Termo-oxidação	Oleaginosas $dn/dT$ ( $10^{-4} K^{-1}$ )			
	ORMCA		ORMSA	
	300 K	450 K	300 K	450 K
0hs	-3,66	-3,08	-3,65	-3,14
05hs	-3,65	-3,10	-3,65	-3,10
10hs	-3,66	-3,17	-3,66	-3,16
15hs	-3,66	-3,15	-3,66	-3,09
20hs	-3,64	-3,13	-3,64	-3,15
25hs	-3,65	-3,15	-3,64	-3,14
30hs	-3,63	-3,13	-3,64	-3,15

Estudos feitos por Pedrochi (2008), sobre a estabilidade e caracterização de óleos de soja e girassol utilizados previamente em processo de fritura de alimentos, mostrou que o comportamento do coeficiente térmico da polarizabilidade eletrônica em função da temperatura confirma que o coeficiente de expansão é fator dominante no comportamento do  $dn/dT$  e que ocorrem mudanças estruturais nas amostras em função do número de frituras e da presença do alimento, reforçando a interpretação das medidas de  $dn/dT$  obtidos para as amostras dos ORMCA e ORMSA, usados nesta pesquisa.

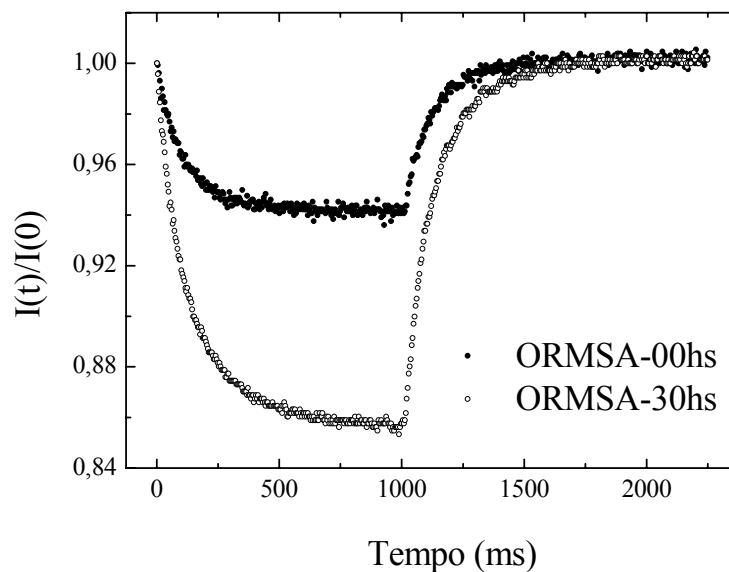
Conclui-se, portanto, que como  $\frac{dn}{dT} \propto (\phi - \beta)$ , com  $\phi$  sendo o coeficiente térmico da polarizabilidade eletrônica e  $\beta$  o coeficiente de expansão térmica volumétrica da amostra, então,  $dn/dT$  depende apenas da base molecular de maior concentração presente nos óleos, que são os triglicerídeos. Em outras palavras,  $dn/dT$  independe de moléculas presentes em menor porcentagem de concentração, como antioxidantes e impurezas em óleos [Pedrochi, 2008].

Dos dados de  $dn/dT$  mostrados na Figura 4.17 e, também, dos valores apresentados na Tabela 4.2 fica muito difícil notar a presença e eficiência do antioxidante no óleo refinado de milho.

## 4.6. Medidas de Lente Térmica

Na Figura 4.18 têm-se dois transientes típicos que descrevem o efeito de LT obtidos para o ORMSA: *i*) uma curva obtida para o óleo de milho não submetido a nenhum tipo de tratamento térmico, ou ORMSA-00hs; *ii*) outra para o óleo de milho submetido a 30 horas de aquecimento, ou ORMSA-30hs; ambas obtidas com uma potência de bombeio de 50,2 mW. Conforme se pode observar, quando se incide luz do laser de excitação na amostra, há na mesma um aumento de calor e, conseqüentemente, geração do efeito de LT. Este por sua vez é representado pelo decaimento do sinal em função do tempo. Geralmente, o sinal de LT para a maioria das soluções, por apresentarem coeficientes de expansão térmica maiores que coeficientes térmicos de polarizabilidade eletrônica, geram um decaimento no sinal de LT, resultando em um  $dn/dT$  negativo, como o apresentado na Figura 4.18. A fim de comparação, o efeito provocado pela LT formada no óleo é similar ao efeito de uma lente esférica divergente. Ao se interromper a incidência de luz na amostra, isto é, após 1 segundo, o efeito de LT é destruído e, então, o sinal tende a voltar ao valor inicial (igual a 1).



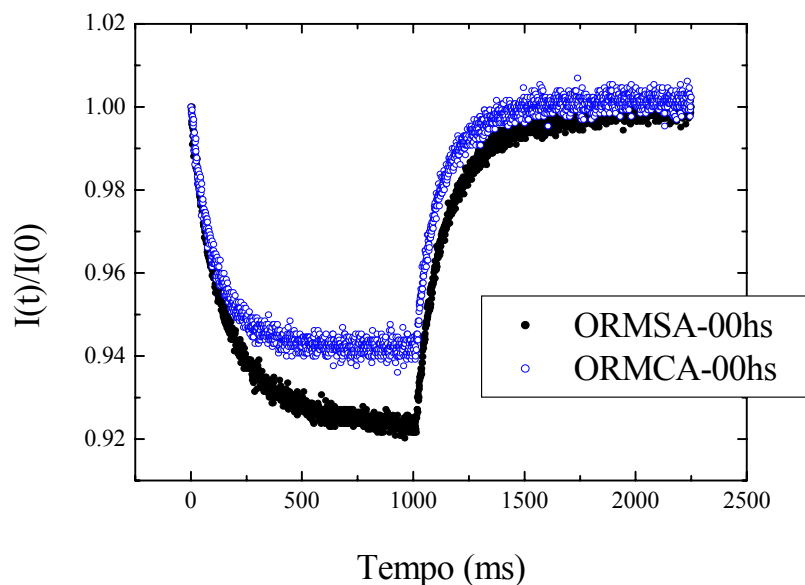


**Figura 4.18:** Curvas transientes de LT obtidas para duas das amostras dos óleos de milho sem ácido cítrico: ORMSA-00hs e ORMSA-30hs.

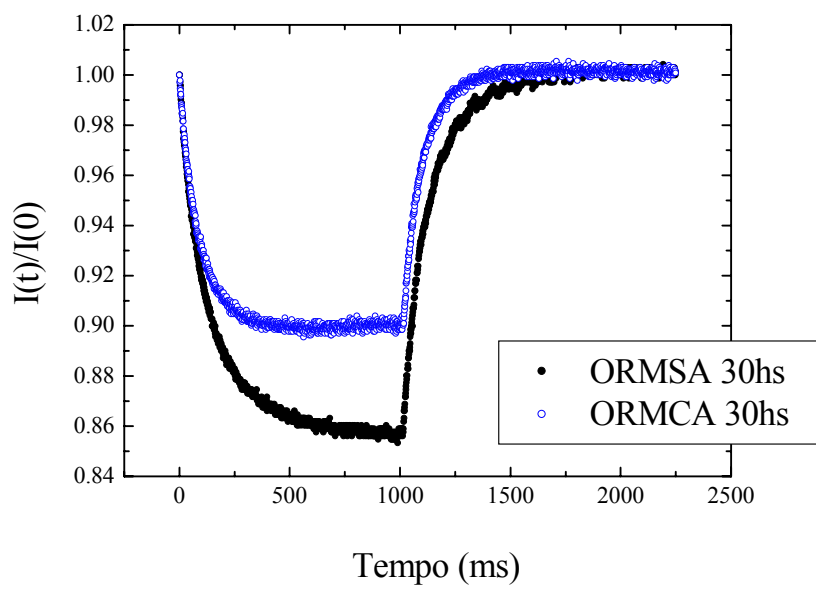
O aumento observado na amplitude dos transientes depende de muitos fatores, como por exemplo,  $K$ , coeficiente de absorção e  $dn/dT$ , e pode ser uma indicação do nível de degradação do óleo. Estudos recentes mostraram que o tempo de uso do óleo em fritura de alimentos provoca degradação do mesmo, que por sua vez é refletida no aumento da amplitude da curva de LT, na diminuição da difusividade térmica do óleo, ou no aumento do coeficiente de absorção do mesmo [Pedrochi, 2008]. Esta afirmação pode ser comprovada com a análise da Figura 4.18, onde se verifica um aumento de quase 133% na amplitude do sinal de LT entre a curva do ORMSA-30hs (mais degradado) e a do ORMSA-00hs (menos degradado). Isto pode ser mais bem entendido se considerado o fato dos principais compostos obtidos na alteração termo-oxidativa, de acordo com Del Ré (2003), serem os dímeros, os quais uma vez formados, devido à existência de duplas ligações em outros ácidos graxos das moléculas de triglicerídeos, podem resultar em posterior reação gerando trímeros que podem, por sua vez, continuar a polimerização térmica. Esses polímeros, por terem maior tamanho e peso molecular, tendem a aumentar a viscosidade do óleo e, conseqüentemente, a absorção do óleo, indicando realmente que, ou o coeficiente de absorção da amostra aumenta, ou que a

difusividade térmica diminui. Portanto, não é nenhuma novidade esperar que com a termo-oxidação  $\theta$  aumente, pois quanto maior for a absorção da radiação, maior será o calor gerado na amostra e, conseqüentemente, maior  $\theta$ . Isto fica claro analisando a dependência entre o coeficiente de absorção ( $A$ ) e  $\theta$  apresentada pelo modelo teórico da LT (ver Eq. 3.24 do Capítulo 3), assunto este discutido mais detalhadamente no decorrer desta seção.

Na Figura 4.19 têm-se as curvas de LT obtidas para duas das amostras dos ORMCA: *i*) uma curva para o óleo refinado de milho não aquecido, ORMCA-00hs, a qual fora comparada a amostra do ORMSA-00hs (Fig. 4.19(a)); *ii*) outra, para o óleo de milho submetido a 30 horas de aquecimento contínuo, ORMCA-30hs, por sua vez comparada ao ORMSA-30hs (Fig. 4.19(b)); todas obtidas com uma potência de excitação de 50,2 mW. Pela figura, nota-se claramente que o comportamento das curvas obtidas para os ORMSA diferem, e muito, do comportamento das curvas dos ORMCA. Em outras palavras, os transientes obtidos para os ORMCA não seguem o comportamento das curvas de LT predito por J. Shen et. al. (1992): apresentam um decréscimo do sinal, ou amplitude, no início da curva e atingem um mínimo em torno de 300 ms, conforme espera-se para a maioria das soluções. Contudo, a partir deste instante ocorre um leve aumento do sinal até 1s, fato este bem mais evidente para o ORMCA-30hs.



(a)



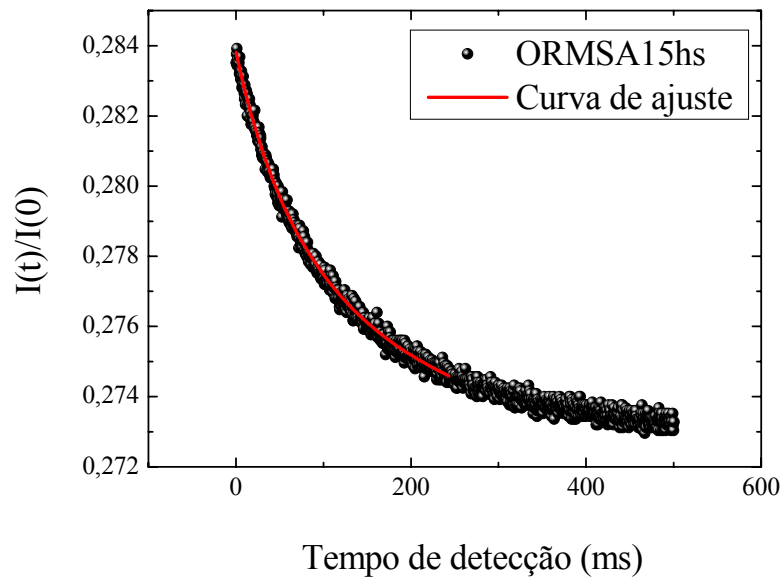
**Figura 4.19:** Curvas de LT obtidas para as amostras dos ORMCA-00hs e ORMSA-00hs em (a); e ORMCA-30hs e ORMSA-30hs em (b); todas obtidas com potência de 50,2 mW.

O comportamento das curvas obtidas para as amostras dos ORMCA podem ser explicadas por: *i*) os óleos apresentam um efeito de fotossensibilidade durante o processo de iluminação, que são bem intensas nos ORMCA. Em outras palavras, as diferentes amostras dos óleos, principalmente dos ORMCA, ao serem iluminadas pela luz do laser de excitação sofrem uma reação química que altera sua absorção de forma proporcional à variação de temperatura causada nas mesmas, fato este que parece não ocorrer nos ORMSA [Albuquerque et. al., 2003]; *ii*) a energia térmica criada pelo laser de excitação provoca na amostra um efeito de difusão de massa, denominada efeito de “Soret” [Georges et. al., 1999]. Neste caso, moléculas de uma dada mistura podem absorver a radiação, enquanto outras não. Estas por sua vez são deslocadas de suas posições devido ao fluxo de calor criado com o aquecimento da amostra pelas moléculas absorvedoras, o que resulta no comportamento observado pela curva da LT. Neste caso, pode-se dizer que o triglicerídeo é a molécula absorvedora da radiação e o antioxidante não, e; *iii*) finalmente, o efeito observado aparentemente tem uma forte relação com a presença do antioxidante no óleo, pois o mesmo efeito não fora observado no ORMSA. Deve-se ressaltar que uma hipótese não elimina a outra, apenas reforça que

ambos os efeitos tem forte dependência com o antioxidante do óleo, tendo em vista que a única diferença entre as amostras é a presença do ácido cítrico.

Com as curvas de LT obtidas para os óleos ORMSA-00hs e ORMSA-30hs, pôde-se ajustá-las com a Equação 3.24 encontrando  $\theta$  e  $t_c$  e, posteriormente, D e K. Devido ao efeito observado nas curvas dos ORMCA, os ajustes teóricos não coincidiam muito bem com as curvas experimentais. Assim, decidiu-se que as curvas experimentais seriam obtidas em tempos mais curtos, em torno de 500 ms, e os ajustes feitos entre o intervalo de 0 a 250 ms, garantindo assim que apenas o efeito de LT estivesse presente nas curvas. Tal procedimento foi empregado para o ajuste das curvas de LT obtidas tanto para os ORMCA quanto para os ORMSA, tornando possível determinar os parâmetros de difusividade e condutividade térmica destes óleos, os quais são importantes por dois motivos: *i*) medem essencialmente o tempo de termalização do material; *ii*) são parâmetros diretamente dependentes das variáveis micro-estruturais e composicionais dos materiais analisados [Lima, 1999].

Na Figura 4.20 têm-se uma curva típica de LT obtida para o ORMSA-15hs sendo excitado em 514 nm com uma potência de 21,9 mW. Esta curva representa a média de 16 transientes. Tal procedimento foi feito para seis valores de potência diferentes, desde 12,5 a 28,2 mW. Conforme se pode observar desta ilustração, a curva teórica coincide muito bem com a curva experimental média para esta potência.

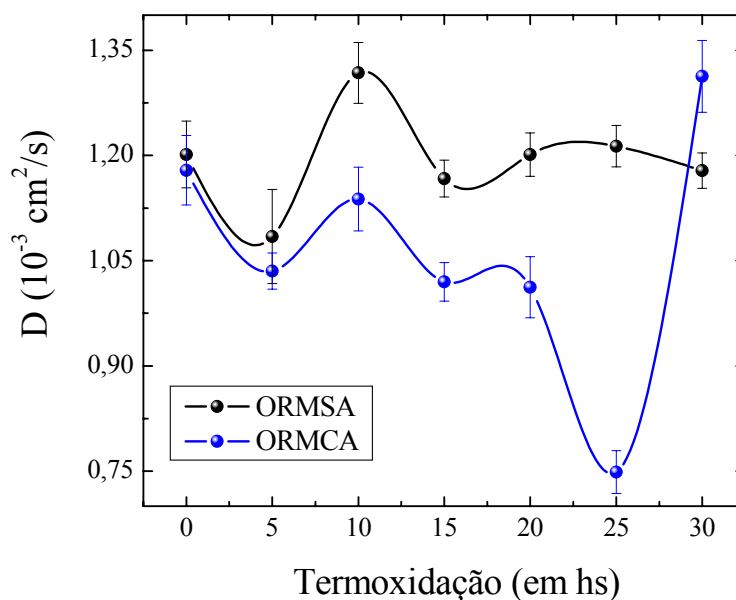


**Figura 4.20:** Curva característica de LT para o ORMCA-15hs, obtido com uma potência de excitação de 21,9 mW.

Com o ajuste da curva experimental pela Equação 3.22 obtém-se os parâmetros  $t_c = (105 \pm 2)$  ms e  $\theta = (0,134 \pm 0,001)$  rad para o ORMCA-15hs. Como a difusividade térmica é dependente de  $t_c$  pela relação  $t_c = w_{oe}^2/4D$ , encontrou-se para esta amostra o valor  $(1,17 \pm 0,05) \times 10^{-3}$  cm<sup>2</sup>/s, usando o  $w_{oe}$  da Tabela 3.2. Esse valor está em bom acordo com o valor de difusividade térmica obtido para óleos vegetais encontrados na literatura [Albuquerque, 2002; Constantini, 2006]. Com os valores da densidade e do calor específico do óleo já determinados e lembrando que  $K = \rho C_p D$ , facilmente determinou-se a condutividade térmica desta amostra  $(2,3 \pm 0,1) \times 10^{-3}$  W/Kcm. É importante ressaltar que Constantini (2006), estudando amostras de biodiesel de mamona, encontrou um valor de  $K$  igual a  $1,6 \times 10^{-3}$  W/Kcm para suas amostras. Albuquerque (2002), no estudo de óleos de canola, milho, soja e girassol não aquecidos, encontrou para  $K$  valores em torno de  $2,2 \times 10^{-3}$  W/Kcm, reforçando a interpretação dos valores de  $K$  obtidos para as amostras dos ORMCA e ORMCA. O procedimento descrito anteriormente foi empregado para determinar  $D$  e  $K$  de cada uma das diferentes amostras dos ORMCA e, também, dos CA.

A Figura 4.21 mostra o comportamento da difusividade térmica determinado para as amostras dos ORMCA e ORMCA. Como esse comportamento é análogo ao

comportamento da condutividade térmica (pois,  $D$  diretamente proporcional a  $K$ ), optou-se por apresentar os valores de  $K$  na Tabela 4.3.



**Figura 4.21: Difusividade térmica das diferentes amostras dos óleos de milho com e sem ácido cítrico.**

O comportamento da difusividade térmica em função da termo-oxidação para os dois tipos de óleos é semelhante até 20 horas de aquecimento. Para tempos maiores, os valores de  $D$  ficam ainda mais diferentes: o ORMCA apresenta um decréscimo acentuado em  $D$  no tempo de 25 horas de oxidação e na sequência um abrupto aumento para um intervalo de tempo de 30 horas de oxidação. A oscilação apresentada no valor de  $D$  desde zero até 20 horas de aquecimento evidencia que neste intervalo os óleos estejam sofrendo alterações de sua estrutura molecular, características do processo de degradação. Essa cinética de alteração não foi observada nos parâmetros analisados até neste momento da dissertação por nenhum outro método de análise usado.

Estudos anteriores demonstraram que os índices de difusão térmica dos óleos apresentam um comportamento semelhante ao índice de peróxidos, os quais são produtos primários da oxidação lipídica tanto à baixa quanto à elevada temperatura, levando, em ambos os casos, a formação de compostos de alteração [Del Ré, 2003; Constantini, 2006]. Entre os

produtos alterados tem-se a formação de hidroperóxidos, os quais podem se decompor dando origem a dienos conjugados, aldeídos e cetonas, e/ou pequenos fragmentos, ou ainda, permanecer na molécula do triacilglicerol e se associarem, conduzindo a triacilgliceróis dimericos e poliméricos [Del Ré, 2003]. Em outras palavras, a formação de hidroperóxidos esta diretamente ligada ao tamanho da cadeia molecular e, também, a viscosidade do óleo. Logo, uma possível interpretação para o comportamento da difusividade térmica dos ORMSA e ORMCA pode estar relacionada à ocorrência de uma diminuição da molécula devido à quebra da cadeia, que pode resultar na redução de D, seguido pela formação de substâncias poliméricas, levando a um aumento de D [Del Ré, 2003; Constantini, 2006].

Fazendo uma análise dos valores absolutos da difusividade térmica no intervalo de tempo de termo-oxidação constata-se que, entre zero e 5 horas, os valores de D para os dois óleos são praticamente iguais, isto considerado a margem de erro experimental indicado. Porém, para tempos de termo-oxidação superiores, os valores de D para ORMSA e ORMCA diferem em valores absolutos. Após 10 horas de aquecimento, o valor de D para o ORMCA começa a diminuir até atingir um valor mínimo ( $0,75 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{s}$ ), após 25 horas de aquecimento, e então aumenta consideravelmente até  $1,3 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{s}$  após 30 horas. Por outro lado, o ORMSA, após 10 horas de aquecimento sofre um decréscimo de apenas 11% até atingir o valor de aproximadamente  $1,2 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{s}$  e seguir constante até o tempo final de 30 horas de oxidação.

Em estudos realizados por Lima (1994), constatou-se que quanto maior a temperatura de fritura, maior a decomposição de peróxidos. De acordo com alguns autores, o índice de peróxidos é um parâmetro químico utilizado para avaliar a formação de hidroperóxidos, porém não distingue entre os vários ácidos graxos que sofreram oxidação nem fornece informações sobre os produtos secundários de oxidação [Cuesta et. al., 1991]. Segundo os autores, este índice aumenta no início do processo de oxidação até que se chegue próximo a 20 horas de utilização do óleo e, a partir deste momento, começa a diminuir,

idêntico ao observado na difusividade do ORMCA. Entretanto, nas temperaturas utilizadas no processo de fritura, os hidroperóxidos se decompõem rapidamente dando origem a produtos secundários de oxidação, fazendo com que este índice não seja um bom indicador do estado de alteração do óleo, uma vez que durante o aquecimento a decomposição dos hidroperóxidos é mais rápida que o acúmulo de peróxidos [Stevenson et. al., 1984].

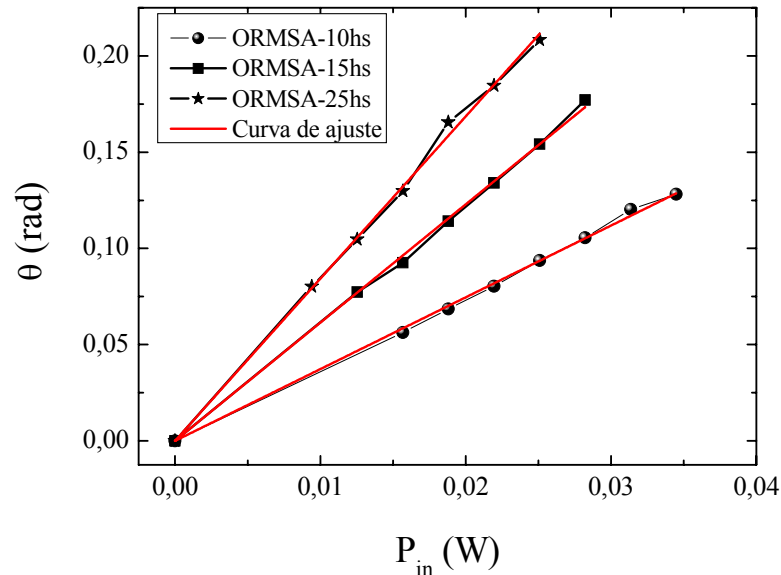
**Tabela 4.3: Medidas da condutividade térmica das diferentes amostras de óleos de milho com e sem ácido cítrico.**

Oleaginosas	ORMSA	ORMCA
	K ( $10^{-3}$ W/Kcm)	K ( $10^{-3}$ W/Kcm)
0	2,4 ± 0,1	2,3 ± 0,1
5	2,1 ± 0,1	2,0 ± 0,1
10	2,6 ± 0,1	2,2 ± 0,1
15	2,3 ± 0,1	2,0 ± 0,1
20	2,4 ± 0,1	2,0 ± 0,1
25	2,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1
30	2,3 ± 0,1	2,6 ± 0,2

Vale relembrar que os ajustes das curvas experimentais de LT fornecem tanto  $t_c$  quanto  $\theta$ , os quais são parâmetros fundamentais para a determinação das propriedades termo-ópticas dos materiais. Com o intuito de continuar a discussão sobre os resultados de LT é importante lembrar que segundo o modelo de LT apresentado por Shen et. al., a dependência entre  $\theta$  (amplitude do sinal de LT) e a potência incidente do laser de excitação ( $P_{in}$ ) deve ser linear, como observado na Equação 3.24. Assim, esta dependência pôde ser testada neste trabalho. Foram determinados a partir de 6 transientes, diferentes medidas de  $\theta$  em função de 6 medidas de potências. Os resultados foram então empregados para construir um gráfico de  $\theta$  versus  $P_{in}$ . Na Figura 4.22 têm-se as curvas obtidas para a amostra ORMSA com as respectivas curvas de ajustes. Curvas semelhantes para todas as amostras dos ORMCA



estudadas neste trabalho também foram obtidas, mas não são mostradas na dissertação. Conforme se pode observar, as curvas possuem um regime praticamente linear com a potência, indicando que no regime de potência trabalhado o modelo de LT tem validade. Os dados de  $\theta/P_{in}$  de todas as amostras foram determinadas pelo ajuste linear dos dados experimentais.



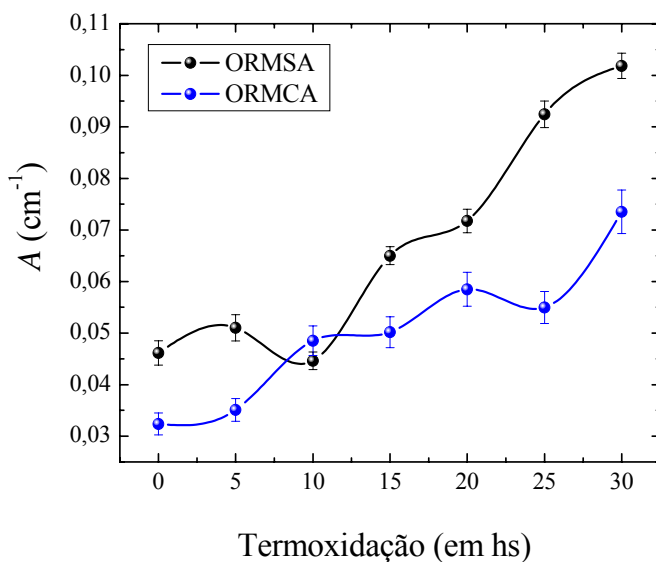
**Figura 4.22: Medidas de  $\theta/P_{in}$  para as diferentes amostras dos ORMSA: 10, 15 e 25hs.**

Conforme explicitado no modelo de LT, é de suma importância que, ao tentar encontrar as propriedades de qualquer amostra, seja ela líquida ou sólida, se conheça previamente alguns parâmetros fundamentais. Por exemplo, conhecendo  $\theta$  e  $t_c$  de uma amostra é possível determinar sua difusividade térmica; por outro lado, medindo a densidade e o calor específico da amostra se encontra a condutividade térmica. Logo, de acordo com a Equação 3.24, ou seja,

$$\theta = -\frac{P_{in}AL}{K\lambda_p} \frac{dn}{dT}$$

é possível por meio da LT encontrar o coeficiente de absorção ( $A$ ) dos óleos estudados nesta dissertação, uma vez que todos os parâmetros envolvidos nesta equação já foram determinados, isso tanto para os ORMSA quanto para os CA. Nesta circunstância, determinar

o coeficiente de absorção dos óleos aplicando o modelo teórico de LT (proposto por J. Shen et. al., 1992) torna-se neste momento, extremamente, fácil e simples. Entretanto, para que melhor se entenda o modo como se determinou  $A$  das diferentes amostras de óleos pelo método de LT, considere a amostra do ORMSA-15hs. Para tal, é sabido que  $K = 2,3 \times 10^{-3}$  W/Kcm (Tabela 4.3),  $\theta/P_{in} = 6,2 \text{ W}^{-1}$  e  $dn/dT = -3,6547 \times 10^{-4} \text{ K}^{-1}$  (seção 4.5),  $L = 0,05 \text{ cm}$  e  $\lambda_p = 632,8 \text{ nm}$  (Tabela 3.2). Substituindo estas medidas na equação de  $\theta$  facilmente se obtém o coeficiente de absorção desta amostra, que por sua vez fora igual a  $0,065 \text{ cm}^{-1}$ . Com as medidas do coeficiente de absorção dos ORMSA e ORMCA determinadas pela LT, pôde-se construir o gráfico da Figura 4.23. O comportamento das curvas torna claro que a absorção dos óleos tende a aumentar com o grau de deterioração dos óleos, reforçando aquilo que foi discutido anteriormente sobre o aumento da amplitude do sinal da LT, isto é, a formação de compostos poliméricos tendem a aumentar a absorção dos óleos.



**Figura 4.23: Medidas do coeficiente de absorção dos óleos ORMCA e ORMSA determinados por LT.**

Estudos realizados por Jorge et. al., (2003) em óleos de milho submetidos à fritura descontínua de lotes de batatas e “snacks” mostraram que os índices de ácidos graxos livres (AGL) e compostos polares totais (CPT), parâmetros relacionados ao processo de degradação dos óleos, aumentam da mesma forma que os coeficientes de absorção dos óleos estudados

neste trabalho. Os CPT's são todos os compostos que têm uma polaridade maior que os triglicerídeos e que correspondem aos elementos não voláteis, resultantes da alteração termo-oxidativa, como os polímeros [Jorge, 1996; Del Ré, 2003]. Já os AGL's são resultados da quebra da cadeia molecular do óleo pelo processo de hidrólise, ainda que em menor quantidade possam ser gerados por reações oxidativas [Del Ré, 2003].

Portanto, dos valores de D, K e A apresentados nesta seção, conclui-se que o método de LT indica, de forma clara e eficiente, não apenas a degradação dos ORMCA e ORMSA submetidos à 30hs de termo-oxidação contínua, mas também, podem de forma clara evidenciar a presença do antioxidante nestes óleos. Outra vantagem desta técnica fora à capacidade de determinar pequenos índices de absorção, parâmetros que dificilmente poderiam ser determinados por métodos convencionais de absorbância.

## Capítulo 5

### Considerações Finais

Neste estudo investigou-se, a partir de várias técnicas de caracterizações ópticas, térmicas e termo-ópticas, as alterações nas propriedades termo-ópticas dos óleos refinados de milho com e sem antioxidante, submetidos a 30 horas de aquecimento. Entre os resultados de destaque obtidos neste trabalho, ressaltam-se os espectros de absorção no IV médio e no UV-Vis, além dos resultados de coeficiente de difusão térmica e absorção óptica registrados pela lente térmica, os quais evidenciaram significativas variações em função do processo de degradação das oleaginosas.

A espectrometria no IV médio, que é um método padrão para avaliar a qualidade de óleos, indicou claramente o aumento da configuração trans para o HC=CH centrada em  $980\text{cm}^{-1}$ . Já a espectroscopia no UV-Vis mostrou-se muito útil, por mostrar o deslocamento batocrômico no espectro dos óleos deteriorados termicamente, com aumento da intensidade de absorção na região de 300 – 340 nm para ambos os óleos.

Os resultados de difusividade térmica determinados pela LT mostraram-se similares aos dos índices de peróxidos, produtos primários da oxidação lipídica tanto à baixa quanto à elevada temperatura, levando, em ambos os casos, à formação de compostos de alteração. Entre os produtos alterados tem-se a formação de hidroperóxidos, os quais podem se decompor dando origem a dienos conjugados, aldeídos e cetonas, e/ou pequenos fragmentos, ou ainda, permanecer na molécula do triacilglicerol e se associarem, conduzindo a triacilgliceróis dimericos e poliméricos. Isto implica na ocorrência de uma diminuição da molécula devido à quebra da cadeia, que pode ter resultado na redução da difusão térmica durante as primeiras 20 horas de aquecimento dos óleos, seguido pela formação de substâncias poliméricas, levando a um aumento na difusividade térmica dessas amostras após

as 20 horas. Por outro lado, esses polímeros formados durante o tratamento térmico dos óleos, por terem maior tamanho e peso molecular, tendem a aumentar a viscosidade e, conseqüentemente, a absorção da molécula triglicéridica, como fora notado no presente estudo. Enfim, outra informação importante fornecida pela lente térmica está no fato desta revelar a presença do ácido cítrico na base composicional da amostra oleaginosa, o que fora praticamente impossível de se notar pelas outras metodologias empregadas neste trabalho.

Embora os resultados obtidos por calorimetria, interferometria e densimetria não terem indicado o real grau de deterioração dos óleos refinados de milho termo-estressados, tais medidas foram de suma importância para a determinação dos principais parâmetros termo-ópticos encontrados com a LT, dentre os quais ressaltam-se os índices de condutividade térmica e absorção óptica.

Finalmente, é sabido que análises químicas requerem equipamentos de alto custo, como cromatógrafos, diferentes reagentes e laboratórios preparados para avaliar a qualidade de óleos. Requerem ainda longos períodos de medida para produzir resultados confiáveis, além de envolver reagentes tóxicos. Portanto, medir mudanças nas propriedades ópticas e térmicas dos óleos e tentar correlacioná-los com suas mudanças na composição química pode ser uma alternativa bastante apropriada e confiável. Ademais, os métodos espectroscópicos e fototérmicos são muito sensíveis, rápidos e precisos, e em alguns pontos podem se destacar sobre as técnicas analíticas. Por isso, respaldados nos resultados deste trabalho podem ser sugeridos para inserção na rotina analítica dos óleos vegetais e seus derivados.

## Capítulo 6

### Referências Bibliográficas

Albuquerque, T. A. S., **Aplicação da espectroscopia de lente térmica na investigação das propriedades ópticas e térmicas de óleos vegetais comestíveis**. Tese de mestrado apresentado ao departamento de Física da Universidade Estadual de Maringá, PR (2002).

AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, AOCS, (1993).

AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. Arlington, AOCS, (1990).

Araújo, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: Editora UFV, 416 p., (1999).

Awl, R. A.; Frankel, E. N.; Weisleder, D., **Cyclic fatty esters: hidroperoxides from autoxidation of methyl 9-(6-propyl-3-cyclohexenyl)-(Z) 8-nonenoate**. Lipids, Vol. 22, No. 10, p. 721-730, (1987).

Badolato, E. S.; Maio, F. D.; Tavares, M., **Composição em ácidos graxos de óleos vegetais comestíveis comercializados no estado de São Paulo**. Revista Inst. Adolfo Lutz, Vol. 52, p. 51-62, (1992).

Baesso, M. L., Shen J. and Snook R. D., **Mode Mismatched Thermal Lens Determination of temperature coefficient of Optical Path Length in Soda Lime Glass at Different Wavelengths**, J. Appl. Phys., Vol. 75, pp. 3733, (1994).

Berger, K.G.; Akehurst, E.E.; 1966. **Some applications of differential thermal analysis to oils and fats**, F. Fd Technol., London, Vol. 1, p. 237-247, (1966).

Berger, K. G.; Hamilton, R. J., **Lipids and oxygen: is rancidity avoidable in practice?** In: Hamilton, R. J. **Developments in oils and fats**. London: Chapman & Hall, cap. 7, p. 192-204, (1995).

Billek, G., **Heated fats in the diet**. In: Padle, F. B.; Podmore, J., **The role of fats human nutrition**. Chichester: Ellis Horwood, cap. 12, p. 163-172, (1985).

Brenes, M.; Garcia, A.; Dobarganes, M. C., et al. **Influence of Thermal Treatments Simulating Cooking Processes on the Polyphenol Content in Virgin Olive Oil**, J. Agric Food Chem, Vol. 50, No. 21, p.5062 – 5967, (2002).

Campos, G. C. M.; Toledo, M. C. de F., **Determinação de BHA, BHT e TBHQ em Óleos e Gorduras por Cromatografia Líquida de alta temperatura**. Braz. J. Food Technol., Vol. 3, p. 65-71, (2000).

Cella, R.C.F.; Regitano-D'arce, M.A.B.; and Spoto, M.H.F. **Comportamento do óleo de soja refinado utilizado em fritura por imersão com alimentos de origem vegetal**. Ciência e Tecnologia em Alimentos, **22**(2): p. 111-116, (2002).

Constantini, R., **Aplicação de Espectroscopia de lente térmica e de técnicas convencionais no estudo do biodiesel de mamona em função da temperatura**. Dissertação apresentada ao Departamento de Física da Universidade Estadual de Maringá, para a obtenção do título de Mestre em Física, (2006).

Corsini, M. S.; Jorge, N., **Estabilidade oxidativa de óleos vegetais utilizados em frituras de mandioca palito congelada**, Cienc. Tecnol. Alim. Vol. 26, No. 1, p. 27-32, jan/mar, (2006).

Coupland, J., and McClements, D. J., **Physical Properties of Liquid Edible Oils**, J. Am. Oil Chem. Soc., Vol. 74, No. 12, (1997).

Cuesta, C.; Sánchez-Muniz, F. J.; Hernadéz, I.; Varela, L. S., **Modificaciones de um aceite de oliva durante lãs frituras sucesivas de patatas. Correlaciones entre distintos índices analíticos y de evaluación global de la degradación**. Revist. Agroquím. Tecnol. Aliment., Vol. 31, No. 4, p.523-531, (1991).

Del Ré, P. V., **Comportamento de Óleos vegetais em frituras descontinuas de produtos pré-fritos congelados**. Tese de mestrado apresentado ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista, UNESP, São José do Rio Preto, SP, (2003).

Del Ré, P.V. and Jorge, N. **Comportamento dos óleos de girassol, soja e milho em frituras de produto cárneo empanada pré-frito congelado**. Ciência e Agrotecnologia, **31**(6): p. 1774-1779, (2007).

Dobarganes, M. C. **Evaluación nutricional de grasas termoxidadas y de fritura**. Grasas y Aceites, Vol. 41, p. 432-439, (1990).

Dobarganes, M. C.; Márquez-Ruiz, G., **Regulation of used fryng fats and validity of quick tests for discarding the fats**. Grasas y Aceites, Vol. 49, No. 3-4, p. 331-335, (1998).

Dobarganes, M. C.; Pérez-Camino, M. C.; Gutiérrez, F., **Acción protectora de los antioxidantes BHA y BHT em grasas calentadas a elevada temperatura**. Grasas y Aceites, Vol. 37, p. 262-266, (1986).

Espín, J.C.; Soler-Rivas, C.; Wichers, H.J. **Characterization of the Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oli Frations Using 2,2-iphenyl-1-picrylhydrazyl Radical**, J. Agric. Food Chem, CEBAS-CSIC, Vol. 48, p. 648-656, (2000).

Faria, A. A.; Leles, M. I. G.; Ionashiro, M., et al. **Estudo da Estabilidade Térmica de Óleos e Gorduras Vegetais por TG/DTG e DTA**, Ecl. Quím, São Paulo, 27, p. 111-119, (2002).

Frankel, E. N., **Recent advances in lipid oxidation**. J. Sci. Food Agric., Vol. 54, No. 4, p. 495-511, (1991).

Frankel, E. N.; Huang, S. W., **Improving the oxidative stability of polyunsaturated vegetable oil by blending with high-oleic sunflower oil**. J. Am. Oil Chem. Soc., Vol. 71, No. 3, p. 255-259, (1994).

Fennema, O.R. **Química de los alimentos**. 2<sup>a</sup>.ed. Zaragoza: Acribia, 1258p., (2000).



Ferrari, C. K. B., **Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas.** Rev. Nutr. Campinas, Vol. 11, No. 1, p. 3-14, (1998).

Ferrari, R.A.; Oliveira, V.S.; Scabio, A. **Óleo neutro de soja usado em fritura como matéria – prima para produção de biodiesel.** In: ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, VIII, 2003, Curitiba: PUC, 2003. p. 434-438.

Fritsch, C. W., **Measurements of frying fat deterioration: a brief review.** J. AM. Oil. Chem. Soc., Vol. 58, No. 3, p. 272-274, (1981).

Gey, K.F., **Lipids, Lipoproteins and Antioxidants in Cardiovascular Dysfunction,** Cardiovascular Dysfunction, Vol. 18, (1990).

Giese, J.; **Fats, Oils, and Fat Replacers.** Food Technology - Especial Repot, (1996).

GLAZER, A. N., **Phycocerytrin Fluorescence – Based assay for reactive oxygen species,** Methods in Enzymology, Vol. 186, (1990).

Grundy, S.M., **Comparison of Monounsaturated Fatty Acids and Carbohydrates for Lowering Plasma Cholesterol,** The New England Journal of Medicine, Vol. 314, No. 12, p. 745-748, (1986).

Guillén, M. D.; Cabo, N., **Infrared Spectroscopy in the Study of Edible Oils and Fats,** J. Sci. Food Agric, Vol. 75, p. 1-11, (1997).

Gunstone, F. D.; Norris, F. A. **Lipids in foods: chemistry, biochemistry ant technology.** Oxford: Pergamon Press, p. 1-14., (1983).

Gunstone, F. D. **Chemical properties.** In: Gunstone, F. D.; Harwood, J. L.; Padley, F. B. (Ed.). **The lipid handbook.** London Chapman & Hall, cap. 10, p. 566-571, (1994).

Halvorsen, J. D.; Mammel, Jr.; and Clements, L. D., **Density Estimation for Fatty acids and Oils Based on Fatty acid Composition,** J. Am. Oil Chem. Soc. 70:875-880, (1993).

- Harrick, N.J., **Internal Reflection Spectroscopy**, Interscience Publishers, New York, (1973).
- Hill, S.E.; Perkins, E.G. **Determination of Oxidation Stability of Soybean Oil with the Oxidative Stability Instrument: Operation Parameter Effects**, JAOCS, Vol. 72, No. 6, (1995).
- Jewell J. M., Apkins C. and Aggarwal I.D., **Interferometric method for concurrent measurement of thermo-optic and thermal expansion coefficient**, Appl. Opt., Vol. 30, pp. 3656-3660, (1991).
- Jorge, N., **Alterações em óleos de fritura**. Hig. Aliment., Vol. 11, No. 52, p. 15-22, (1997).
- Jorge, N. **Estudos do comportamento do óleo de girassol e do efeito do dimetil polisiloxano em Frituras**. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 233p., Campinas-SP, (1996).
- Jorge, N.; Soares, B. B. P.; Lunardi, V; Malacrida, C. R., **Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho e soja em frituras**. Quim. Nova, Vol. 28, No. 6, p. 947-951, (2005).
- Kannel, W.B.; Castelli, W.P.; Gordon, T., **Cholesterol in the Prediction of Atherosclerotic Disease**, Annals of Internal Medicine, Vol. 90, p. 85-91, (1979).
- Kubow, S., **Toxicity of dietary lipid peroxidation products**, Trends in Food Sci. and Technol., Sept., p. 67-71, (1990).
- Larrauri, J.A.; Sánchez – Moreno, C.; Suara – Calixto, F. A., **Procedure do Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols**, J. Sci. Food Agric., Vol. 76, p.270– 276, (1998).
- Lehninger, A.; Nielson, D.L.; Cox, M.M. **Bioquímica**, 3.ed. New York: Worth Publisher, p.1152, (1995).
- Lima, J. R; Gonçalves, L. A. G., **Avaliação analítica de óleos utilizados em processo de fritura**. Bol. Soc. Cien. Tecnol. Alim., Vol. 29, No. 2, p. 186-192, (1995).

Lima, S. M., **Aplicação da técnica de Lente Térmica em materiais ópticos**, tese de mestrado apresentada ao Instituto de Física da USP (1999).

Lima S. M., Sampaio J. A., Catunda T., de Camargo A. S. S., Nunes L. A. O., Baesso M. L., and Hewak D. W., **Spectroscopy, Thermal and Optical Properties of Nd<sup>3+</sup> Doped Chalcogenide Glasses**, J. Non-Cryst. Solids, Vol. 284, pp. 274-281, (2001).

Lin, S. S. **Fats and oils oxidation**. In: Wan, P. J. (Ed.). **Introduction to fats and oils technology**. Champaign: AOCS, cap. 12, p. 211-231, (1991).

Mahan, L. K.; Arlin, M. T. **Lipídeos**, In: Mahan, M. T.; Arlin, M.T. Krause: **Alimentos, nutrição e dietorapia**. São Paulo: Roca, p. 40-51, (1995).

Malacrida C. R., **Alterações de Óleo de Soja e da Mistura de Azeite de Dendê - Óleo de Soja em Fritura Descontínua de Batatas Chips**, Brazilian Journal of Food Technology, vol. 6, p. 245 – 249, Julho / Dezembro, 2003.

Melo, E. A.; Guerra, N.B., **Ação antioxidante de Compostos Fenólicos Naturalmente presentes em Alimentos**, Bol. SBCTA, v.36, No. 1, p. 1–11, jan / jun. (2002).

Merck., **Diagnóstico e Tratamento**. São Paulo: Roca, (1999).

Minn, J. **Determination of Oxidative Stability of Rosin Products by High-Pressure Differential Scanning Calorimetry**, Thermochemica Acta, Amsterdam, Vol.91, p.87-94, março (1985).

Mirabella, F.M., **Principles, Theory, and Practice of Internal Reflection Spectroscopy**, Internal Reflection Spectroscopy-Theory and Applications, ed. F.M. Mirabella, Jr., Marcel Dekker, Inc. New York. (1993).

Monferrer, A.; Villalta, J., **La fritura desde um punto de vista práctico (I)**. Aliment, Equipos y Tecnol., Vol. 21, No. 3, p. 85-90, (1993)a.

Monferrer, A.; Villalta, J., **La fritura desde um punto de vista práctico (II)**. Aliment, Equipos y Tecnol., Vol. 21, No. 4, p. 87-91, (1993)b.

Moretto, E.; Fett, R.; Gonzaga, L.V. et al. **Introdução à Ciência de Alimentos**. Florianópolis: UFSC, 255p., (2002).

Moretto, E.; Fett, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais**. Rio de Janeiro: Varela, (1989).

Moretto, E.; Fett, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais**. São Paulo: Varela, 150p., (1998).

Netto-Ferreira, J. C.; Scaiano, J. C., **Fotólise no estado estacionário e com pulso de laser de 1-benzociclanonas e de seus derivados dimetilados**, Química Nova, Vol. 22, No. 4, São Paulo, julho/agosto (1999).

Owen, R. W.; Haubner, R.; Mier, W., et. at. **Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic e flavonoid compounds in brined olive drupes**, Food and Chemical Toxicology, Vol. 41, p.703 – 717, (2003).

Paes, M. C. D., **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento, Sete Lagoas, MG, (2006).

Pedrocchi, F., **Aplicação de Técnicas Fototérmicas no Estudo de Biomateriais**. Tese de Doutorado apresentada ao Departamento de Física da Universidade Estadual de Maringá, para a obtenção do título de Doutora em Física, (2008).

Prod'homme L., **A new approach to the thermal change in the refractive index of glasses**, Chem. Glasses, Vol. 1, pp. 119, (1960).

Ramalho, V. C.; Jorge, N., **Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos**. Quim. Nova, Vol. 29, No. 4, p. 755-760, (2006).

Reda, S. Y.; Carneiro, P. I. B., **Óleos e gorduras: aplicações e implicações**. Ver. Analytica, No. 27, fev/mar, (2007).

Rovellini, P.; Cortesini, N.; Fedeli, E., Ossidazione dei lipid. Nota 1. **La Rivista italiana delle sostanze grasse**, Vol. 74, No. 5, p. 181-189, (1997).

Sanibal, A. A. E.; Mancini-Filho, J. **Alterações físicas, químicas e nutricionais de óleos submetidos ao processo de fritura**. Food Ingrid. South Am., Vol. 18, p. 64-71, maio/jun., (2002).

Sanibal, A. A. E.; Mancini-Filho, J. **Correlação de compostos polares formados nos óleos e gorduras no processo de fritura de imersão com parâmetros físico-químicos**. Rev. Bras. Ciênc. Farm., Vol. 37, p. 26, (2001).

Sato, F., **Estudo da bebida do café utilizando a espectroscopia de lente térmica e a interferometria óptica**. Tese de mestrado apresentada ao Departamento de Física da Universidade Estadual de Maringá, (2005).

Sedman, J.; Ismail, A. A.; Nicodemo, A.; Kubow, S.; Van De Voort, F. R., **Application of FTIR/ATR Differential Spectroscopy for Monitoring Oil Oxidation and Antioxidant Efficacy**. Chapter 23, Quebec, Canadá.

Sercheli, R.; Schuchart, U.; Vargas, R. M., **Transesterification of vegetable oils: a review**. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 9, p. 1999-210, (1998).

Shahidi, F.; Janitha, P.K.; Wanasundra, P.D., **Phenolic Antioxidants**. Food Science and Nutrition, Vol. 32, No. 1, p.67 – 103, (1992).

Shen J., Lowe R.D., and Snook R.D., **A model for cw laser induced mode-mismatched dual-beam thermal lens spectrometry**, Chem. Phys., Vol. 165, pp. 385-396, (1992).

Sherman, C. P.; Hsu; Ph.D. **Infrared Spectroscopy**. Separation Sci., Research and Product Development, Mallinckrodt Baker Division, Chap. 15.

Sherwin, E. R. **Oxidation and antioxidants in fat and oil processing**. J. Am. Oil Chem. Soc., Vol. 55, p. 809-814, (1978).

Simic, M. G.; Jovanovic, V.; Niki, E., **Mechanisms of lipid oxidative processes and their inhibition**. In: Allen, J. A. **Lipid oxidation in food**. New York: J. Am. Oil Chem. Soc., cap. 2, p. 14-32, (1992).

Sirkoska, E.; Romaniuk, A.; Herance, R.; Bourdelance, J. L.; Sirkoski, M.; Koziol, J., **Characterization of Edible oils Using Total Luminescence Spectroscopy**, Journal of Fluorescence, Vol. 14, No. 1, (2004).

Skoog, D. A.; Holler, J.; Nieman, T. A., **Princípios de Análise Instrumental**. 5ª edição. Tradução de Inês Caracelli. Porto Alegre, RS. Bookman, 2002. Capítulos 13 e 14.

Skopelitis, Y.; Vlachos, N.; Psaroudaki, M.; Konstantinidou, V.; Chatzilazarou, A.; Tegou, E., **Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils**, Anal. Chimica Acta, 459-465, (2006).

Snook, R. D., and Lowe, R.D., **Thermal lens spectrometry - a review**, Analyst, Vol. 120, pp. 2051-2068, (1995).

Solomons, G.T.W. **Química Orgânica**. 6 ed. Rio de Janeiro, (1996).

Sousa, M. P., **Degomagem de miscela de óleo de milho por ultrafiltração**. Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, SP, (2004).

Steimacher, A., **Determinação de propriedades termo-ópticas de vidros e cristais utilizando técnicas de interferometria óptica**, Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Física de Maringá, (1999).

Steinberg, D., **Antioxidants and Atherosclerosis**, Circulation, Vol. 84, No. 3, set. (1991).

Takeoka, G. R.; Full, G. H.; Dao, L. T., **Effect on heating on the characteristics and chemical composition of selected frying oils and fats**. J. Am. Oil Chem. Soc., Vol. 45, p. 3244-3249, (1997).

Timms, R. E., **Physical Properties of Oils and Mixtures of Oils**, J. Am. Oil Chem. Soc. 62:241 – 248, (1985).

Vecchi, C. C. C.; Tarozo, R.; Pinto, J. P.; Faccione, M.; Guedes, C. L. B., **Processo térmico e fotoquímico na degradação de biodiesel do óleo de soja**, 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás, (2004).

Warner, K.; Orr, P.; Glynn, M. **Effect of fatty acid composition of oils on flavor and stability of fried foods**. J. AM. Oil Chem. Soc., Vol. 74, No. 4, p. 347-356, (1997).

Weiller, M. L, **Utilização da interferometria óptica para o estudo do coeficiente térmico do índice de refração de soluções aquosas em função da temperatura**. Tese de mestrado apresentada ao Departamento de Física da Universidade Estadual de Maringá, (2004).