

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**THALITA OLIVEIRA DA SILVA**

**ESTUDO DA EMISSÃO DE ALDEÍDOS E OUTROS  
COV POR ÓLEOS DE DENDÊ E SOJA EM  
DIFERENTES CONDIÇÕES, SOB AQUECIMENTO  
A TEMPERATURA DE PROCESSOS DE FRITURA**

Salvador – 2007

**THALITA OLIVEIRA DA SILVA**

**ESTUDO DA EMISSÃO DE ALDEÍDOS E COV  
POR ÓLEOS DE DENDÊ E SOJA EM  
DIFERENTES CONDIÇÕES, SOB AQUECIMENTO  
A TEMPERATURA DE PROCESSOS DE FRITURA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Química

**Orientador:** Profº Dr. Pedro Afonso de Paula Pereira

Salvador – 2007

*Aos meus pais, Conceição e Luiz Antônio, por todo amor e proteção, pelo apoio nas horas mais difíceis, e pelo estímulo de sempre, minha eterna gratidão.*

*O valor de um ideal pode ser medido  
pela quantidade de sacrifícios que  
você é capaz de fazer por ele. (Golsworthy)*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, que sempre esteve guiando meu caminho, protegendo-me e dando-me coragem para superar todos os obstáculos que surgiram durante esta caminhada.

Ao Prof. Pedro Afonso, meu orientador, por quem tenho grande admiração e respeito. Obrigada pela dedicação, estímulo e carinho sempre demonstrados. Obrigada por ter contribuído com a minha formação acadêmica desde os tempos de Iniciação Científica.

Ao Prof. Jailson Bittencourt, por me ensinar que, na pesquisa científica, as vitórias só são alcançadas com muito trabalho, perseverança e amor ao que se faz.

Aos meus pais, por tudo que representam na minha vida. Por serem exemplo de luta, determinação e coragem. Por sacrificarem seus sonhos em favor dos meus. Por acreditarem em mim.

Aos meus irmãos Luiz Antônio Filho e Luciano, pelo companheirismo, cumplicidade e incentivo de sempre. Eu tenho muito orgulho de vocês.

À Gabriel, pela compreensão, paciência e carinho. O seu apoio me ajudou a vencer os desafios desta jornada.

À Esmeralda Aragão, por todo o carinho, incentivo, conselhos e colaborações durante este trabalho, minha gratidão.

À Eliane, pela amizade, pela ajuda com o meu trabalho e por compartilhar momentos de alegrias e incertezas.

À Prof<sup>a</sup> Márcia Veloso, pelo carinho, pelos ensinamentos (mesmo antes do início do mestrado) e pelo exemplo de pesquisadora que é para mim.

Ao doutorando Frederico Medeiros, pelas incansáveis orientações durante parte experimental e escrita deste trabalho.

Ao prof. Luiz Carvalho, pela contribuição com seu conhecimento, amizade e incentivo.

Ao prof. Wilson Lopes, sempre muito prestativo, pelas inúmeras sugestões e contribuições.

A todos os outros companheiros do LPQ, pela convivência saudável, troca de experiências e valiosas sugestões durante o trabalho.

## RESUMO

---

O consumo de frituras é significativo no hábito dos brasileiros e tem aumentado nos últimos anos, isto por ser este um método rápido de preparação e por conferir características agradáveis de aroma e sabor aos alimentos fritos. Durante o processo de fritura, os óleos vegetais são continuamente ou repetidamente expostos a temperaturas elevadas, na presença de oxigênio atmosférico, levando os mesmos à degradação por diferentes tipos de reação. Alguns dos produtos de degradação formados, como por exemplo compostos carbonílicos, como formaldeído, acetaldeído e acroleína, podem ter efeitos adversos sobre a saúde humana. Neste trabalho determinou-se as taxas de emissão de compostos carbonílicos (CC), produzidos por óleos de dendê e soja quando submetidos a aquecimento a 180°C e exposição ao ar por diferentes intervalos de tempo, em processos contínuo e descontínuo e diferentes razões superfície:volume (S/V). Os CC foram coletados e derivatizados em cartuchos de sílica funcionalizados com C<sub>18</sub> e impregnados com solução ácida de 2,4-DNPH, sendo a seguir extraídos e analisados por CLAE-DAD e, em alguns casos, CLAE-EM com ionização por eletrospray. Dentre os CC identificados nas emissões, destacaram-se no óleo de dendê, formaldeído; acetaldeído; acroleína; propanal; butanal; pentanal; hexanal; (E)-2-heptenal; heptanal; (E)-2-octenal; octanal; nonanal e (E)-2-decenal, enquanto no óleo de soja destacaram-se formaldeído; acetaldeído; acroleína; hexanal e (E)-2-heptenal. Dentre os quantificados, o que apresentou as maiores taxas de emissão nos dois óleos, nas três relações S/V estudadas, foi a acroleína, emitida em maiores taxas pelo óleo de soja. Em seguida, vieram o hexanal e o (E)-2-heptenal. No estudo da influência da relação S/V, as taxas de emissão estiveram, em geral, diretamente relacionadas à razão superfície/volume de óleo utilizado, embora CC saturados e insaturados tenham se comportado de maneira diferente frente à oxidação. Durante aquecimento descontínuo, houve uma tendência ao aumento nas taxas de emissão, ao longo do tempo, para os aldeídos saturados. Aldeídos insaturados, ao contrário, tiveram uma diminuição ao longo do tempo, devida provavelmente à alta reatividade da dupla ligação presente nestes compostos. Outros compostos orgânicos voláteis (COV) foram avaliados qualitativamente por extração do *headspace* e análise por CGAR-EM. As principais classes de compostos identificadas foram, mais uma vez, aldeídos alifáticos saturados e insaturados, embora também álcoois insaturados, ácidos carboxílicos e o 2-pentil-furano, todos provenientes de degradação lipídica. Finalmente, esse estudo mostra que a relação superfície/volume, o tempo de fritura, a forma de aquecimento (contínua ou descontínua), o tipo de óleo utilizado e a presença ou não de antioxidantes são fatores importantes na degradação dos óleos vegetais. Vale ressaltar que embora as emissões de acroleína e de outros aldeídos possam ser elevadas mesmo após períodos curtos de aquecimento do óleo, isso não corresponde necessariamente à altas exposições pelos trabalhadores em cozinha, uma vez que essas vão ser afetadas por outros fatores, tais como o grau de ventilação/exaustão do ar no ambiente. Todavia, elas podem servir como alerta para ações de prevenção.

**Palavras-chave:** óleos vegetais; aquecimento; reações de oxidação; compostos carbonílicos e COV; determinação; CLAE-DAD; CGAR-EM.

## ABSTRACT

---

The consumption of fried dishes is spread amongst the Brazilian people and has been increasing along the last years due to their simplicity in preparing and the nice flavor experienced by consumers. During frying, vegetable oils are continuous or intermittently exposed to high temperatures and atmospheric oxygen, which cause different degradation processes and reactions. Some of the degradation products, for example carbonyl compounds such as formaldehyde, acetaldehyde and acrolein can exert adverse effects to the humans' health. The aim of this work was to determine the emission rates of carbonyl compounds (CC), produced by palm oil and soybean oil when heated at 180°C in the presence of air, through different time intervals at different surface-to-volume ratios (S/V), in continuous and discontinuous processes. The CC were collected and derivatized onto silica C18 cartridges impregnated with 2,4-dinitrophenylhydrazine acid solution, followed by extraction with acetonitrile and analysis by HPLC-DAD and, in some cases, HPLC-MS with electrospray ionization. Amongst CC identified, formaldehyde, acetaldehyde, acrolein, propanal, butanal, pentanal, hexanal, 2heptenal, heptanal, 2octenal, octanal, nonanal and 2decenal were predominant in the palm oil, while formaldehyde, acetaldehyde, acrolein, hexanal and 2-heptenal were predominant in soybean oil. Amongst the CC quantified, acrolein was the major emission in both oils and all S/V ratios, followed by hexanal and 2-heptenal. The soybean oil has presented greater emission rates of acrolein than palm oil. When comparing different S/V ratios, used during the frying process of the oil, the emission rates, in general, were directly related to them, although saturated and non-saturated CC have had different behavior toward oxidation reactions. During the discontinuous heating, there was a trend in increase the emission rates of saturated aldehydes along the time, while the opposite was observed with unsaturated aldehydes, probably due to the reactivity of the double bond present in these compounds. Other volatile organic compounds (VOC) out of CC were also qualitatively screened by HRGC-MS. The main classes detected were, once again, aliphatic saturated and non-saturated aldehydes, but also non-saturated alcohols, carboxylic acids and 2-pentyl-furane, all coming from lipid degradation. Finally, this study has shown that the S/V ratio, the frying time, the frying process (continuous or discontinuous), the oil type and the presence or not of antioxidant additives in the oil are important factors in its degradation. It must be highlighted that although the acrolein and other CC emissions could be high, even after short heating times, this fact not necessarily corresponds to a high exposure of the kitchen workers to these fumes, since it depends on other factors, such as the degree of exhaust / ventilation of the place. Nevertheless, they can be used as a subsidy to preventive actions.

**keywords:** vegetable oils; heating; oxidation reactions; carbonyl compounds and VOC; determination; HPLC-DAD and HRGC-MS.

## SUMÁRIO

	<b>LISTA DE FIGURAS</b>	12
	<b>LISTA DE TABELAS</b>	15
	<b>LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS</b>	17
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	19
1.1	Considerações iniciais	19
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	21
2.1	Óleos vegetais: composição e valor nutritivo	21
2.2	Óleo de dendê	23
2.2.1	Características e composição do óleo de dendê	24
2.2.2	Produção e consumo do óleo de dendê	26
2.3	Óleo de soja	27
2.3.1	Características e composição do óleo de soja	27
2.3.2	Produção e consumo do óleo de soja	28
2.4	Degradação de óleos vegetais	29
2.4.1	Hidrólise lipídica	29
2.4.2	Oxidação lipídica	30
2.4.3	Formação de dímeros e polímeros	33
2.5	Fatores que influenciam a intensidade de degradação dos óleos de fritura	34
2.6	Limites de utilização dos óleos de fritura	35
2.7	Métodos analíticos para o controle de qualidade de óleos vegetais	36
2.7.1	Índice de peróxido (IP)	37



2.8	Determinação de compostos orgânicos voláteis	39
2.8.1	Métodos de amostragem de compostos orgânicos voláteis	40
2.8.1.1	Métodos clássicos	40
2.8.1.2	Métodos limpos	41
2.8.2	Métodos de análise de COV	45
2.8.2.1	Métodos cromatográficos	45
2.8.2.1.1	Cromatografia a líquido de alta eficiência	45
2.8.2.1.2	Cromatografia a gás	47
2.8.2.1.2.1	Cromatografia a gás – Espectrometria de massas	48
2.9	Determinação de compostos carbonílicos em fase gasosa	50
2.9.1	Métodos de amostragem de compostos carbonílicos em fase gasosa	50
2.9.2	Métodos de análise de compostos carbonílicos	50
2.9.2.1	Métodos espectrofotométricos	51
2.9.2.2	Métodos cromatográficos	52
2.9.2.3	Reações de derivatização	53
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>57</b>
3.1	Objetivos específicos	57
<b>4</b>	<b>EXPERIMENTAL</b>	<b>58</b>
4.1	Material	58
4.1.1	Reagentes e solventes	58
4.1.2	Equipamentos e acessórios	58
4.1.3	Sistemas cromatográficos	59
4.2	Métodos	60
4.2.1	Recristalização da 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4-DNPH) e preparo da solução a 0,4%	60

4.2.2	Síntese e recristalização dos padrões de 2,4-dinitrofenilhidrazonas (2,4-DNPHo)	61
4.2.3	Preparo das soluções-padrão de 2,4-dinitrofenilhidrazonas (2,4-DNPHo)	61
4.2.4	Preparo dos cartuchos de C <sub>18</sub> : impregnação com solução de 2,4-DNPH	62
4.3	Obtenção e preparo das amostras compostas	62
4.4	Descrição do sistema de aquecimento dos óleos vegetais	62
4.5	Determinação do índice de peróxido	64
4.6	Determinação de compostos carbonílicos emitidos pelos óleos de dendê e soja durante aquecimento a temperatura de fritura: método de derivatização com 2,4-DNPH e análise por CLAE-DAD-EM	65
4.6.1	Eluição das 2,4-DNPHo-CC dos cartuchos de C <sub>18</sub>	66
4.6.2	Análise das 2,4-DNPHo-CC por CLAE-DAD-EM	66
4.7	Determinação de outros compostos orgânicos voláteis emitidos pelos óleos de dendê e soja por extração direta do <i>headspace</i> e análise por CGAR-EM	67
4.7.1	Método de extração – <i>headspace</i> estático (HS-E)	67
4.7.2	Análise dos COV por CGAR-EM	68
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>69</b>
5.1	Determinação do índice de peróxido nos óleos	69
5.2	Determinação de compostos carbonílicos emitidos durante aquecimento dos óleos de dendê e soja	72
5.2.1	Determinação das taxas de emissão de CC durante processo contínuo de aquecimento	75
5.2.1.1	Estudo da influência da relação superfície / volume de óleo nas taxas de emissão dos compostos carbonílicos	86
5.2.2	Determinação das taxas de emissão de compostos carbonílicos durante processo descontínuo de aquecimento	89

5.2.3	Proposta de mecanismos para a formação dos CC emitidos	93
5.3	Determinação do perfil dos compostos orgânicos voláteis durante processo de aquecimento dos óleos de dendê e soja	102
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO</b>	<b>106</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>110</b>
	<b>ANEXO A</b>	<b>116</b>
	<b>ANEXO B</b>	<b>122</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura geral de acilgliceróis	21
Figura 2	Estrutura dos ácidos graxos $\omega$ -3 e $\omega$ -6	22
Figura 3	Estrutura geral dos tocoferóis e tocotrienóis	25
Figura 4	Esquema geral da auto-oxidação de lipídios	32
Figura 5	Representação esquemática da técnica de <i>headspace</i> estático	42
Figura 6	Representação esquemática da técnica de <i>headspace</i> dinâmico	43
Figura 7	Ilustração esquemática do método MEFS – “headspace”	44
Figura 8	Componentes básicos de um cromatógrafo a líquido	46
Figura 9	Diagrama de blocos com os principais módulos de um cromatógrafo a gás	47
Figura 10	Reação de formação do corante cátion azul. (A): reação entre MBTH e CC com formação da azina; (B): reação de oxidação do MBTH com Fe (III) em meio ácido; (C): reação entre os produtos das etapas (A) e (B) para formação do corante cátion azul (C).	51
Figura 11	Ilustração do sistema de aquecimento dos óleos vegetais	64
Figura 12	Cromatogramas CLAE-DAD de soluções-padrão de CC-2,4-DNPHo 1,0 $\mu\text{g/mL}$	73
Figura 13	Cromatogramas CLAE-DAD (365 nm) de hidrazonas de CC, referentes a amostras após 1 h de aquecimento contínuo para os óleos de dendê (a) e soja (b), na relação $S/V=0,23 \text{ cm}^{-1}$ .	76
Figura 14	Taxas de emissão de formaldeído, acetaldeído, acroleína, hexanal e (E)-2-heptenal para os óleos de dendê e soja em função do tempo de aquecimento contínuo a 180°C na relação $S/V$ igual a $0,23 \text{ cm}^{-1}$ .	78
Figura 15	Taxas de emissão de formaldeído, acetaldeído, acroleína, hexanal e (E)-2-heptenal para os óleos de dendê e soja em função do tempo de aquecimento contínuo a 180°C na relação $S/V$ igual a $0,43 \text{ cm}^{-1}$ .	79

Figura 16	Taxas de emissão de formaldeído, acetaldeído, hexanal e (E)-2-heptenal para os óleos de dendê e soja em função do tempo de aquecimento contínuo a 180°C na relação S/V igual a 0,77 cm <sup>-1</sup> .	80
Figura 17	Taxas de emissão médias dos óleos de dendê e soja (aquecimento contínuo).	81
Figura 18	Taxas de emissão de propanal, butanal e (E)-2-octenal para o óleo de dendê em função do tempo de aquecimento contínuo a 180°C nas razões S/V iguais a 0,23; 0,43 e 0,77cm <sup>-1</sup> .	84
Figura 19	Taxas de emissão dos CC para o óleo de dendê durante aquecimento contínuo a 180°C, nas três relações S/V estudadas, 0,23; 0,43 e 0,77 cm <sup>-1</sup> .	87
Figura 20	Taxas de emissão dos CC para o óleo de soja durante aquecimento contínuo a 180°C, nas três relações S/V estudadas, 0,23; 0,43 e 0,77 cm <sup>-1</sup> .	88
Figura 21	Taxas de emissão dos CC para os óleos de dendê e soja durante aquecimento descontínuo a 180°C, na relação S/V=0,43 cm <sup>-1</sup> .	90
Figura 22	Taxas de emissão dos CC para o óleo de dendê durante aquecimento descontínuo a 180°C, na relação S/V=0,43 cm <sup>-1</sup> .	92
Figura 23	Rota sintética de formação do propanal, (E,E)-2,4-heptadienal, (E)-2-hexenal, (E)-2-pentenal e o 2,4,7-decatrinal a partir do ácido linolênico (? -3).	94
Figura 24	Rota de formação do acetaldeído a partir do (E,Z)-2,4-heptadienal.	95
Figura 25	Rota sintética de formação do acetaldeído e do 2-butenal a partir do ácido linolênico (mecanismo proposto).	96
Figura 26	Rota sintética de formação do octanal e (E)-2-decenal a partir do ácido oléico (mecanismo proposto).	97
Figura 27	Rota sintética de formação do nonanal e 2-undecenal a partir do ácido oléico (mecanismo proposto).	98
Figura 28	Rota sintética de formação do hexanal, 2octenal e 2,4-decadial a partir do ácido linoléico.	99
Figura 29	Rota sintética de formação do pentanal e (E)-2-heptenal a partir do ácido linoléico (mecanismo proposto).	100

Figura 30	Rota sintética de formação da acroleína a partir do ácido linolênico (mecanismo proposto).	101
Figura 31	Formação do 2-pentil-furano a partir do ácido linoléico.	103
Figura 32	Cromatograma do HS-S do óleo de dendê após 1 h de aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V=0,23 cm <sup>-1</sup> .	104
Figura 33	Cromatograma do HS-S do óleo de soja após 1 h de aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V = 0,23cm <sup>-1</sup> .	105

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Produção mundial de óleos vegetais (em milhões de toneladas)	23
Tabela 2	Intervalo da composição de ácidos graxos do óleo de dendê	25
Tabela 3	Intervalo da composição de ácidos graxos do óleo de soja	28
Tabela 4	Reações de derivatização de compostos carbonílicos	54
Tabela 5	Valores médios de índices de peróxidos ( $\text{meq kg}^{-1}$ ) para os óleos de dendê e soja durante aquecimento contínuo a $180^{\circ}\text{C}$ , em diferentes relações S/V	69
Tabela 6	Valores médios de índices de peróxidos ( $\text{meq kg}^{-1}$ ) para os óleos de dendê e soja durante aquecimento descontínuo a $180^{\circ}\text{C}$ , na relação S/V igual a $0,43\text{cm}^{-1}$	71
Tabela 7	Curvas analíticas, tempos de retenção, limites de detecção e de quantificação do método CLAE-UV	74
Tabela 8	Composição média de ácidos graxos principais nos óleos de dendê e soja ( $\text{g}/100\text{g}$ )	82
Tabela 9	Valores mínimos, médios e máximos das taxas de emissão de formaldeído para os óleos de dendê e soja, em processo contínuo de aquecimento a $180^{\circ}\text{C}$	85
Tabela 10	Valores mínimos, médios e máximos das taxas de emissão de acetaldeído para os óleos de dendê e soja, em processo contínuo de aquecimento a $180^{\circ}\text{C}$	85
Tabela 11	Valores mínimos, médios e máximos das taxas de emissão de acroleína para os óleos de dendê e soja, em processo contínuo de aquecimento a $180^{\circ}\text{C}$	86

## Anexo A

Tabela A1	Taxas médias de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ ) $\pm$ desvio-padrão de triplicatas de CC por óleo de dendê em aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V = 0,23 $\text{cm}^{-1}$	116
Tabela A2	Taxas médias de emissão ( $\mu\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ ) $\pm$ desvio-padrão de triplicatas de CC por óleo de soja em aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V = 0,23 $\text{cm}^{-1}$	117
Tabela A3	Taxas médias de emissão ( $\mu\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ ) $\pm$ desvio-padrão de triplicatas de CC por óleo de dendê em aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V=0,43 $\text{cm}^{-1}$	118
Tabela A4	Taxas médias de emissão ( $\mu\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ ) $\pm$ desvio-padrão de triplicatas de CC por óleo de soja em aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V=0,43 $\text{cm}^{-1}$	119
Tabela A5	Taxas médias de emissão ( $\mu\text{g.h}^{-1}.\text{L}^{-1}$ ) $\pm$ desvio-padrão de triplicatas de CC por óleo de dendê em aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V=0,77 $\text{cm}^{-1}$	120
Tabela A6	Taxas médias de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ ) $\pm$ desvio-padrão de triplicatas de CC por óleo de soja em aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V=0,77 $\text{cm}^{-1}$	121

## Anexo B

Tabela B1	Taxas de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ ) de CC por óleo de dendê em aquecimento descontínuo a 180°C, na relação S/V=0,43 $\text{cm}^{-1}$ .	122
Tabela B2	Taxas médias de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ ) de CC por óleo de soja em aquecimento descontínuo a 180°C, na relação S/V=0,43 $\text{cm}^{-1}$ .	123



## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados
AOCS	American Oil Chemists' Society
CC	Compostos carbonílicos
CG	Cromatografia a gás
CGAR	Cromatografia a gás de alta resolução
CGAR-EM	Cromatografia a gás de alta resolução acoplada à espectrometria de massas
CG-EM	Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas
CLAE	Cromatografia a líquido de alta eficiência
CLAE-DAD	Cromatografia a líquido de alta eficiência com detector de arranjo de diodos
CLAE-DAD-EM	Cromatografia a líquido de alta eficiência com detector de arranjo de diodos e espectrômetro de massas
CLAE-UV	Cromatografia a líquido de alta eficiência com detector de absorção na região do ultravioleta
COV	Compostos orgânicos voláteis
DCE	Detector de captura de elétrons
DCT	Detector de condutividade térmica
DFC	Detector fotométrico de chama
DIC	Detector por ionização em chama
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
2,4-DNPH	2,4-dinitrofenilhidrazina
2,4-DNPHo	2,4-dinitrofenilhidrazonas
EFS	Extração em fase sólida
ELL	Extração líquido-líquido

EM	Espectrometria de massas
EM - EM	Espectrometria de massas – espectrometria de massas
HS	<i>Headspace</i>
HS-D	<i>Headspace</i> dinâmico
HS-E	<i>Headspace</i> estático
IE	Ionização por impacto de elétrons
IP	Índice de peróxido
IQ	Ionização química
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MBTH	3-metil-2-benzotianona hidrazona
PFTBA	Perfluortributilamina
SIM	Monitoramento seletivo de íons
SPME	Microextração em fase sólida
S/V	Razão superfície/volume
TBA	Ácido tiobarbitúrico
UV-Vis	Ultravioleta-visível
USDA	United States Department of Agriculture
USEPA	United States Environmental Protection Agency
? -3	Ácido ômega-3
? -6	Ácido ômega-6

## 1. INTRODUÇÃO

---

### 1.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O consumo de frituras é significativo no hábito dos brasileiros e tem aumentado nos últimos anos. Constata-se que este fato tem sido influenciado por razões sociais, econômicas e técnicas, pois as pessoas dispõem de menos tempo para preparação de seus alimentos e, assim, o processo de fritura fornece uma alternativa de preparação rápida, ao mesmo tempo conferindo aos alimentos fritos características agradáveis de aroma e sabor<sup>9</sup>.

No processo de fritura o alimento é submerso em óleo quente, que age como meio de transferência de calor. Esta forma de aquecimento é mais eficiente que o cozimento por ar quente em fornos e mais rápido que o cozimento em água, já que as temperaturas alcançadas pelo óleo, em processo de fritura, são superiores às alcançadas pela água em ebulição<sup>9</sup>.

Existem dois tipos de processos de fritura: as frituras contínuas e as frituras descontínuas. O processo de fritura contínua é normalmente empregado em indústrias de alimentos e a descontínua nos restaurantes, *fast-foods* e, principalmente, nas cozinhas domésticas.

Durante o processo de fritura, os óleos vegetais são continuamente ou repetidamente expostos a temperaturas elevadas, na presença de oxigênio atmosférico. Isto leva à degradação dos óleos através das reações de hidrólise, oxidação e polimerização das moléculas dos acilgliceróis<sup>13</sup>. Alguns destes produtos de degradação podem ter efeitos adversos sobre a saúde humana. Estudos já mostraram que os vapores, resultantes do aquecimento de óleos comestíveis a alta temperatura, exibem mutagenicidade e genotoxicidade<sup>15,16</sup> e uma associação foi observada entre a exposição a vapores de óleos de cozinha e câncer de pulmão<sup>17</sup>.

Há também evidências de que animais de laboratório, alimentados com óleos exaustivamente processados em fritura, podem apresentar alterações metabólicas que resultam na perda de peso, supressão do crescimento, diminuição do tamanho do fígado e dos rins, má absorção de gorduras, aumento da taxa de colesterol no fígado e fertilidade reduzida<sup>19</sup>. O valor

nutricional dos óleos vegetais também é afetado pela perda de ácidos graxos poliinsaturados, os quais são importantes para o metabolismo humano<sup>12</sup>.

Fica claro, portanto, que a compreensão das mudanças que o óleo pode sofrer pode levar à otimização dos processos de fritura, bem como à melhoria da qualidade dos alimentos fritos.<sup>9,10</sup>

Neste trabalho, foram estudadas as taxas de emissão de compostos carbonílicos e sua variação ao longo do tempo sob condições de aquecimento contínuo e descontínuo, em diferentes razões superfície:volume. Além disso, analisou-se o perfil da fração volátil dos óleos de dendê e soja e suas modificações durante o processo de fritura. Através da identificação e quantificação dos produtos gerados nas reações de degradação dos óleos, presentes na fumaça proveniente da fritura, pode-se avaliar a qualidade do ar ao qual estão expostos trabalhadores em cozinha.

Os óleos de dendê e soja foram os escolhidos na condução deste trabalho por serem os óleos mais produzidos e consumidos no mundo. Além disso, o óleo de dendê é de uso típico na culinária baiana. Um prato de grande consumo e aceitação na Bahia é o bolinho de acarajé, feito a base de feijão e frito em óleo de dendê. Já o óleo de soja é amplamente utilizado em frituras não só no setor de restaurantes, lanchonetes, bares e cozinhas industriais, como também nos lares brasileiros pelas donas de casa, devido, essencialmente, ao seu menor preço de mercado<sup>9</sup>.

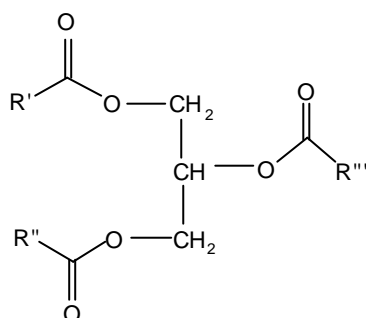
## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

---

### 2.1 ÓLEOS VEGETAIS: COMPOSIÇÃO E VALOR NUTRITIVO

Os óleos vegetais são constituídos principalmente por acilgliceróis (figura 1), que são ésteres de ácidos graxos de alta massa molar e glicerol<sup>1</sup>.

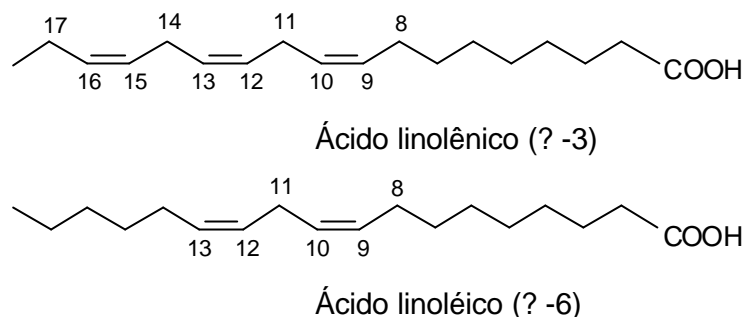
Os acilgliceróis apresentam, de uma maneira geral, as propriedades físicas e químicas semelhantes àquelas dos ácidos graxos constituintes. Os ácidos graxos são, freqüentemente, nomeados em forma abreviada de acordo com suas estruturas químicas e são classificados como saturados, monoinsaturados e poliinsaturados, dependendo do número de duplas ligações. A grande maioria dos ácidos graxos encontrados em óleos vegetais tem número par de carbonos na cadeia, e quando insaturados, na maioria das vezes, têm a configuração cis<sup>22</sup>.



**Figura 1.** Estrutura geral de acilgliceróis<sup>21</sup>. R', R'' e R''' representam cadeias saturadas ou insaturadas.

Os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) se classificam, principalmente, nas séries ômega 6 ( $\omega$ -6) e ômega 3 ( $\omega$ -3), sendo que os mesmos se diferenciam na posição da primeira dupla ligação, contando a partir do grupo metílico terminal da cadeia do ácido graxo. O ácido linoléico (LA em inglês, ácido octadeca-9(Z), 12(Z)-dienóico, C 18:2  $\omega$ -6) é o expoente mais importante da série  $\omega$ -6 e está presente de forma abundante em óleos vegetais como óleo de girassol, algodão, milho, soja, etc. O ácido  $\alpha$ -linolênico (LNA em inglês, ácido octadeca-9(Z), 12(Z), 15(Z)-trienóico, C18:3  $\omega$ -3), representante da família

? -3, é encontrado em quantidades apreciáveis em sementes oleaginosas como soja, canola e linhaça. As estruturas destes ácidos graxos estão representadas na figura 2.



**Figura 2.** Estrutura dos ácidos graxos ? -3 e ? -6.

Os ácidos graxos das séries ? -3 e ? -6 podem influenciar em uma variedade ampla de funções biológicas, devido à associação dos mesmos na incorporação ou formação de parte das membranas celulares, e serem essenciais para o crescimento e funcionamento do organismo humano. Estes ácidos influenciam no metabolismo dos eicosanóides (substâncias envolvidas na regulação do funcionamento das células), na expressão genética e na comunicação intercelular. A composição dos AGPI das membranas celulares depende, em grande dimensão, da quantidade ingerida na dieta. Um balanço da proporção de ? -6/? -3 na dieta é essencial ao metabolismo do organismo humano, levando a prevenção de doenças cardiovasculares e doenças crônicas degenerativas, como também à uma melhor saúde mental<sup>2</sup>.

Além do fornecimento dos ácidos graxos essenciais das séries ? -6 e ? -3, os óleos vegetais implicam em outros aspectos nutricionais importantes, envolvendo a função energética, o transporte das vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K), e também contribuindo para a palatabilidade dos alimentos.

A tabela 1 apresenta dados da produção mundial dos principais óleos vegetais.

**Tabela 1.** Produção mundial de óleos vegetais (em milhões de toneladas)

Óleo	1998/99	1999/00	2000/01	2001/02	2002/03	2003/04	2004/05	2005/06
Soja	24,65	24,64	26,73	28,85	30,57	29,92	32,20	34,02
Dendê	19,25	21,80	24,28	25,42	27,71	29,68	33,17	34,57
Girassol	9,18	9,64	8,46	7,61	8,12	9,21	9,09	10,22
Canola	11,81	13,70	13,03	12,68	12,21	14,15	15,82	16,13
Algodão	3,57	3,55	3,50	3,82	3,51	3,85	4,78	4,65
Amendoim	4,44	4,22	4,34	4,88	4,62	4,77	5,09	4,97
Coco	2,71	3,34	3,64	3,23	3,16	3,05	3,44	3,40
Oliva	2,50	2,37	2,48	2,78	2,51	2,90	2,97	2,59
Palmiste	2,43	2,79	3,06	3,12	3,36	3,45	4,13	4,38

**Fonte:** Foreign Agricultural Service, USDA (2006)<sup>33</sup>

## 2.2 ÓLEO DE DENDÊ

O óleo de dendê é o óleo obtido a partir da extração do mesocarpo do fruto da palma (*Elaeis guineensis*), nativa da costa do Guiné, na África Ocidental, de onde foi introduzida em outros locais da África, Sudeste da Ásia e América Latina, ao longo da linha do Equador (entre as latitudes 15° Norte e 12° Sul).

O óleo de dendê vem conquistando espaço no mercado internacional de óleos e gorduras, pois a palma é uma matéria-prima extremamente versátil, podendo ser empregada na composição de vários produtos da indústria alimentícia, saboeira e oleoquímica<sup>5,14</sup>.

Apesar do segmento de oleoquímica ter um grande potencial, pois o petróleo pode ser substituído em suas diversas aplicações por óleos vegetais, o mercado alimentício é responsável pelo destino da maioria da produção de óleo de dendê, através do seu emprego como gordura para panificação,

margarinas, gorduras para biscoitos, sorvetes, chocolates, etc<sup>3,14</sup>. O óleo de dendê é também usado na indústria de frituras em todo o mundo.

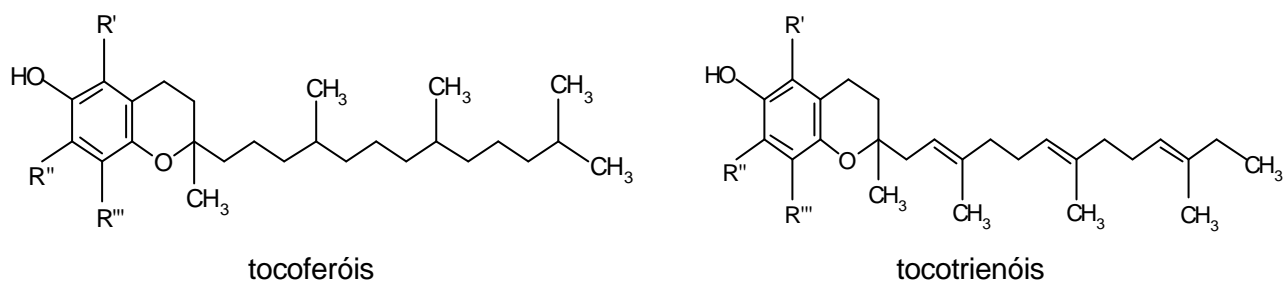
Da palma também obtém-se o óleo de palmiste, extraído da semente do fruto. Mais fino e semelhante aos óleos de coco e babaçu, este óleo é empregado nas indústrias de cosméticos, sabões e alimentícia<sup>3</sup>.

### **2.2.1 CARACTERÍSTICAS E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DE DENDÊ**

O óleo de dendê é totalmente líquido a 30°C e sólido a temperaturas inferiores a 15°C<sup>3</sup>. A cor do óleo bruto é acentuadamente vermelha, devido à presença de carotenóides, que são antioxidantes naturais. A quantidade de carotenóides, os quais apresentam atividade pró-vitamínica A, varia em função do tipo de processamento, do grau de maturação do fruto, do genótipo da planta e do clima. Segundo a legislação brasileira<sup>4</sup>, o teor de carotenóides no óleo bruto deve estar entre 500 e 2000 mg kg<sup>-1</sup> de óleo. Uma parte do caroteno é destruída durante o processo de refino, o qual tradicionalmente produz o óleo com a coloração preferida pela maioria dos consumidores. A degradação térmica do caroteno fornece hidrocarbonetos inertes, removíveis pela desodorização no refino<sup>3</sup>.

O óleo de dendê também é rico em vitamina E, que confere uma estabilidade oxidativa ao produto, suficiente para reduzir a necessidade de adição de substâncias antioxidantes. A vitamina E do óleo de dendê é caracterizada pelo predomínio de tocotrienóis (70%) em relação aos tocoferóis (30%). As estruturas destes compostos estão mostradas na figura 3. Os processos de neutralização, clarificação e desodorização não acarretam perdas significativas de tocoferóis<sup>3</sup>.





	R'	R''	R'''	
1	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	α-tocoferol
2	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	β-tocoferol
3	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	?-tocoferol
4	H	H	CH <sub>3</sub>	d-tocoferol

	R'	R''	R'''	
1	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	α-tocotrienol
2	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	?-tocotrienol
3	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	β-tocotrienol
4	H	H	CH <sub>3</sub>	d-tocotrienol

**Figura 3.** Estrutura geral dos tocoferóis e tocotrienóis.

A legislação brasileira<sup>4</sup> estabelece que o óleo de dendê deve possuir índice de acidez (em g de ácido oléico/100 g de óleo) igual ou inferior a 0,3% no óleo refinado e 5,0% no óleo bruto. Já o índice de peróxido, seja no óleo bruto ou refinado, deve ser, no máximo, 10 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de óleo.

O óleo de dendê contém cerca de 50% de ácidos graxos saturados e 50% de ácidos graxos insaturados. A tabela 2 apresenta a faixa de composição de ácidos graxos do óleo de dendê.

**Tabela 2.** Intervalo da composição de ácidos graxos do óleo de dendê<sup>4</sup>

Ácido graxo	Nomenclatura	(g/100g)
C 12:0	Láurico	< 0,4
C 14:0	Mirístico	0,5 - 2,0
C 16:0	Palmítico	35,0 - 47,0
C 16:1	Palmitoléico	< 0,6
C 18:0	Esteárico	3,5 - 6,5
C 18:1	Oléico	36,0 - 47,0
C 18:2	Linoléico	6,5 - 15,0
C 18:3	Linolênico	< 0,5
C 20:0	Araquídico	< 1,0

**Fonte:** ANVISA, 1999<sup>4</sup>.

## 2.2.2 PRODUÇÃO E CONSUMO DO ÓLEO DE DENDÊ

No contexto atual, o óleo de dendê é o segundo óleo mais produzido no mundo, perdendo apenas para o óleo de soja<sup>33</sup>.

A produção mundial deste óleo durante os anos de 2002 e 2003 foi de 27,23 milhões de toneladas. Institutos internacionais como a “Oil World” (2006) projetaram um crescimento de 1,3 milhão de toneladas / ano na demanda mundial de óleo de dendê. Isso equivale dizer que, por ano, precisam ser plantados 240 mil hectares de palmares<sup>34</sup>.

A Malásia, maior produtor mundial de óleo de dendê, é responsável por 50,6% da sua produção. O Brasil, apesar do seu grande potencial para a produção de óleo de dendê, é responsável por apenas 0,6% da produção mundial<sup>1,3</sup>, sendo o décimo terceiro produtor no mundo (95 mil toneladas métricas por ano).

As áreas produtoras no Brasil são encontradas no Pará, Amazonas, Amapá e Bahia, sendo o Pará o maior produtor, responsável por mais ou menos 85% do total do óleo de dendê produzido no Brasil. Seguindo, pode-se citar em ordem decrescente o Amapá, a Bahia e o Amazonas<sup>5</sup>.

Muitos fatores favorecem a cultura do dendê no Brasil, como: disponibilidade de área; alta produtividade; mercado em expansão; aproveitamento na produção de biodiesel e grande demanda de mão de obra, levando à criação de frentes de trabalho.

O estado da Bahia possui uma diversidade excepcional de solos e clima para a cultura do dendezeiro; a área apta disponível é de 750 mil hectares de terras situadas em regiões litorâneas que se estendem desde o Recôncavo até os Tabuleiros do Sul da Bahia. Entretanto, a maior parte da produção de óleo de dendê é proveniente de dendezeiros de baixa produtividade que somam cerca de 19.650 hectares. Esses dendezeiros apresentam baixa produtividade notadamente por terem ultrapassado o período econômico de produção (25 anos) bem como por apresentarem estado sanitário precário<sup>6</sup>.

## 2.3 ÓLEO DE SOJA

O óleo de soja é o óleo obtido a partir da extração de sementes de *Glycine max L.* (soja).

A soja é uma planta originária do sudeste asiático e cultivada na China, Japão e Coreia. É nativa da Mandchúria, onde seu cultivo estava concentrado em áreas úmidas, próximas a lagos e rios. Apesar de ser originária do Oriente, durante a primeira guerra a soja ingressou na América do Norte, América do Sul e quase todos os países da Europa e da África. Ao lado do arroz, do milho e do trigo, é uma das principais lavouras do planeta<sup>35</sup>.

No Brasil, a soja foi introduzida em 1908, inicialmente na região de São Paulo, por imigrantes japoneses. Teve sua cultura iniciada no Rio Grande do Sul por volta de 1914, porém a expansão desta leguminosa no estado gaúcho só aconteceu na década de 1970, com o interesse crescente da indústria de óleo e a demanda do mercado internacional<sup>35,6</sup>. A soja é um dos principais produtos agrícolas do Brasil, com papel importante na área econômica e social, e a utilização dos seus grãos é predominantemente direcionada para a obtenção de óleo e ração para animais<sup>6</sup>.

A importância econômica da soja é determinada pelo seu elevado potencial produtivo, suas características agrônomicas favoráveis e por sua composição química. Os grãos de soja contém, em média, 40% de proteínas, 20% de óleo, 35% de carboidratos e 5% de minerais, constituintes que, íntegros ou fracionados em produtos ou matérias-primas com características específicas, permitem uma variada gama de utilizações<sup>45</sup>.

### 2.3.1 CARACTERÍSTICAS E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DE SOJA

O óleo de soja é um óleo inodoro, líquido à temperatura ambiente, de cor clara e com alto teor de ácidos graxos essenciais, o que o torna desejável nutricionalmente.

O óleo de soja bruto apresenta entre 0,15 - 0,21% de tocoferóis, os quais devem ser minimamente removidos durante o refino. A produção de óleos refinados de alta qualidade requer o máximo possível de remoção de compostos químicos não desejáveis, com um dano mínimo aos triacilgliceróis e

tocoferóis, associado à perda mínima de óleo neutro. Os tocoferóis proporcionam estabilidade oxidativa ao óleo, assim como são precursores da vitamina E.

Pela legislação brasileira<sup>4</sup>, o óleo de soja refinado (óleo pronto para consumo) deve possuir teor máximo de acidez (em g de ácido oléico / 100 g de óleo) igual a 0,3%. Já o índice de peróxido deve ser, no máximo, igual a 10 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de óleo.

A tabela 3 apresenta a faixa de composição de ácidos graxos do óleo de soja.

**Tabela 3.** Intervalo da composição de ácidos graxos do óleo de soja<sup>4</sup>

Ácido graxo	Nomenclatura	% (g/100g)
C < 14	-	< 0,1
C 14:0	mirístico	< 0,5
C 16:0	palmítico	7,0 - 14,0
C 16:1	palmitoléico	< 0,5
C 18:0	esteárico	1,4 - 5,5
C 18:1	oléico	19,0 - 30,0
C 18:2	linoléico	44,0 - 62,0
C 18:3	linolênico	4,0 - 11,0
C 20:0	Araquídico	< 1,0
C 20:1	Eicosenóico	< 1,0
C 22:0	Behênico	< 0,5

**Fonte:** ANVISA, 1999<sup>4</sup>.

### 2.3.2 PRODUÇÃO E CONSUMO DO ÓLEO DE SOJA

O óleo de soja é o óleo mais produzido e consumido no mundo. A sua produção mundial em 2002 e 2003 foi de 30,46 milhões de toneladas, havendo uma tendência a um aumento crescente<sup>33</sup>.

Os principais produtores da soja são, em ordem decrescente, os Estados Unidos, Brasil, Argentina e a China. Já no Brasil, os principais

produtores são os estados do Paraná, Rio Grande do Sul, Mato Grosso e Goiás<sup>36</sup>.

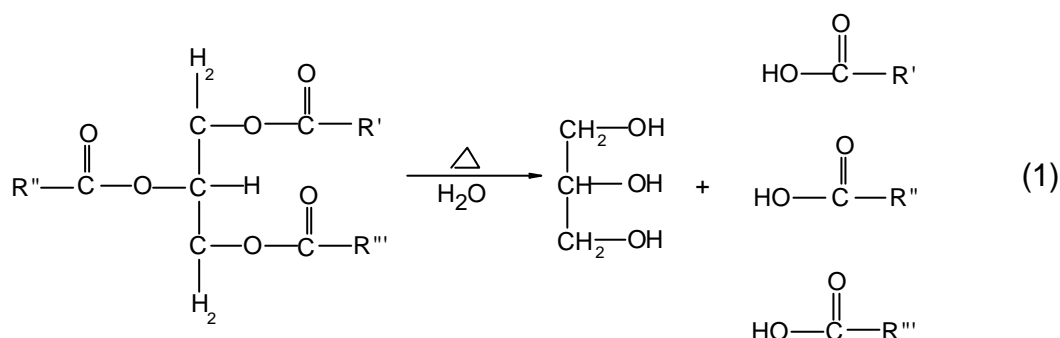
O óleo de soja é responsável por 98% da produção brasileira de óleos vegetais, o que equivale a 4,05 milhões de toneladas métricas por ano.

## 2.4 DEGRADAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS

A degradação dos óleos vegetais pode ocorrer por meio dos processos de hidrólise, oxidação e polimerização dos lipídios constituintes.

### 2.4.1 HIDRÓLISE LIPÍDICA

A hidrólise das ligações éster dos lipídios (reação 1) produz-se por ação enzimática ou por aquecimento em presença de água, e se traduz na liberação de ácidos graxos, responsáveis pela rancidez hidrolítica<sup>22</sup>.



Os ácidos graxos de 14-22 átomos de carbono liberados são sensorialmente inativos, mas ácidos graxos contendo de 4-10 átomos de carbono conferem um típico “*off-flavor*” em alimentos ou atuam como precursores de outras substâncias de “*flavor*” ativo. Por exemplo, os ácidos octanóico, decanóico e dodecanóico, produzidos pela hidrólise das gorduras de coco e dendê, conferem sabor de sabão a produtos de confeitaria. O limiar de percepção em água dos ácidos butírico (C4), capróico (C6) e caprílico (C8) é de 0,5 a 10,0 ppm para o butírico e de 3,0 ppm para o capróico e o caprílico<sup>31</sup>.

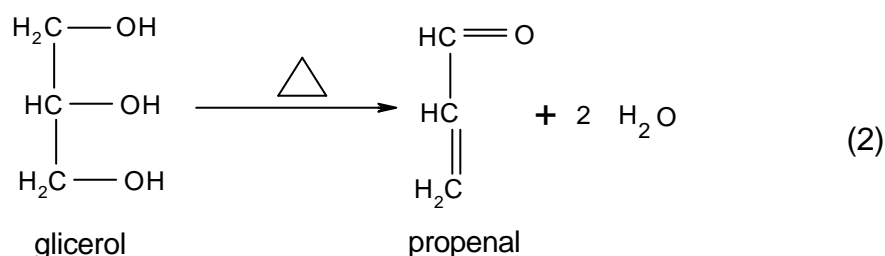
As enzimas envolvidas na rancidez hidrolítica são as lipases (fosfolipases e glicolípido-hidrolases), originárias do alimento ou produzidas

por bactérias e fungos contaminantes. A hidrólise não-enzimática de lipídios é muito lenta, exceto quando aquecidos na presença de água à temperatura elevada, sob pressão ou durante tempo de aquecimento prolongado<sup>31</sup>.

Ácidos graxos podem ser liberados durante processo de extração dos óleos. Contudo, estes ácidos graxos livres são removidos em grande parte durante o refino dos óleos vegetais, mais especificamente na etapa de neutralização<sup>31</sup>.

A hidrólise lipídica é uma reação importante durante o processo de fritura, devido ao grande conteúdo de água no alimento e às temperaturas relativamente altas a que se mantém o óleo. O desenvolvimento de níveis altos de ácidos graxos livres ao longo do processo de fritura está geralmente associado à diminuição do ponto de fumaça e da tensão superficial do óleo, e também a uma redução da qualidade dos alimentos fritos. Além disso, os ácidos graxos livres são mais susceptíveis à oxidação do que os ácidos graxos que se encontram esterificados ao glicerol<sup>22</sup>.

A partir da cisão homolítica oxidativa da ligação C-O do glicerol, que é outro produto proveniente desta hidrólise, pode ser formada a acroleína (propenal)<sup>7</sup>, que é uma substância extremamente tóxica ao homem (reação 2).



#### 2.4.2 OXIDAÇÃO LIPÍDICA

A oxidação é a maior causa de deterioração dos lipídios. É de grande interesse econômico na indústria alimentícia, já que conduz ao desenvolvimento de diversos sabores e odores inaceitáveis em óleos comestíveis e produtos à base de gordura, o que representa para o consumidor, ou para o transformador industrial, uma importante causa de depreciação ou rejeição. Pode, ainda, diminuir a qualidade nutricional dos alimentos, sendo que certos produtos de oxidação, como por exemplo o

formaldeído, acetaldeído e a acroleína, são potencialmente tóxicos. Por outro lado, sob certas condições, é até desejável um certo grau de oxidação lipídica, como na produção de aromas característicos em queijos e alguns alimentos fritos.<sup>22</sup>

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo, podendo ocorrer também durante as fases de processamento e armazenamento dos óleos vegetais.<sup>31</sup> O processo oxidativo se inicia por mecanismos químico (auto-oxidação), de fotooxidação ou enzimático, a depender do meio e dos agentes catalisadores.<sup>21</sup>

### **Mecanismo da auto-oxidação de lipídios**

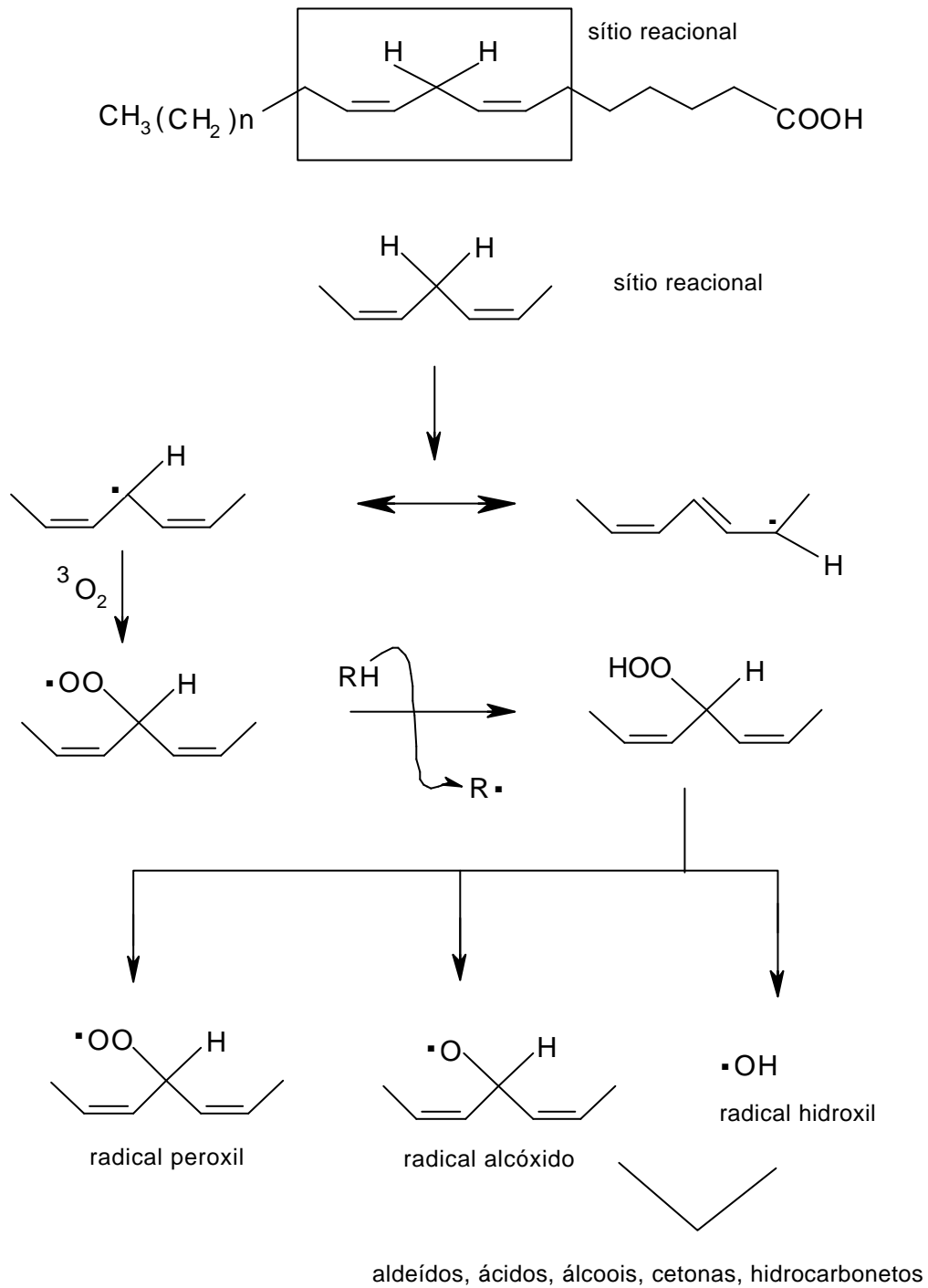
A auto-oxidação de lipídios é bastante complexa e envolve um grande número de reações intermediárias interligadas. A complexidade da reação tem sido elucidada até um certo limite e grande parte de seus detalhes e suas conseqüências permanecem desconhecidas<sup>22</sup>.

A oxidação de lipídios ocorre via uma reação radicalar em cadeia e é dividida em três estágios: iniciação, propagação e término<sup>37</sup>.

Os AGPI possuem duplas ligações, com configuração espacial do tipo *cis=Z*, não conjugadas e separadas por grupo metilênico ( $\alpha$ -CH<sub>2</sub>). Cada dupla ligação junto com o carbono  $\alpha$ -metilênico forma um sistema alílico, ou bis-alílico, possuindo, portanto, hidrogênios mais susceptíveis à abstração pelos radicais oxidantes que os hidrogênios metilênicos dos lipídios totalmente saturados. Assim, a etapa inicial da reação envolve a abstração de um átomo de hidrogênio do carbono  $\alpha$ -metilênico para formar um radical alil, que pode ser estabilizado por ressonância. A adição de oxigênio (<sup>3</sup>O<sub>2</sub>) ocorre então neste radical, dando origem a um radical peróxi (ROO.), que pode a seguir retirar um átomo de hidrogênio de um carbono  $\alpha$ -metilênico de outro ácido graxo insaturado, produzindo um hidroperóxido (ROOH) e outro radical livre, que propaga, assim, a reação<sup>37</sup>.

Os hidroperóxidos são muito instáveis e sofrem cissões homolíticas imediatamente após sua formação, formando radicais peroxil, alcóxido e hidroxil, que são precursores dos compostos finais que darão início à rancidez oxidativa<sup>37</sup>.

As reações que representam o mecanismo da auto-oxidação lipídica estão mostradas no esquema da Figura 4.



**Figura 4.** Esquema geral da auto-oxidação de lipídios<sup>37</sup>



Os hidroperóxidos, produtos primários da oxidação lipídica, embora representem um risco para a saúde, não são importantes do ponto de vista da formação do ranço, e sim os produtos secundários, tais como hidrocarbonetos, ácidos carboxílicos, álcoois e compostos carbonílicos<sup>37</sup>. Dentre os compostos secundários, os aldeídos têm sido descritos como os mais importantes marcadores na determinação da rancidez oxidativa de óleos.

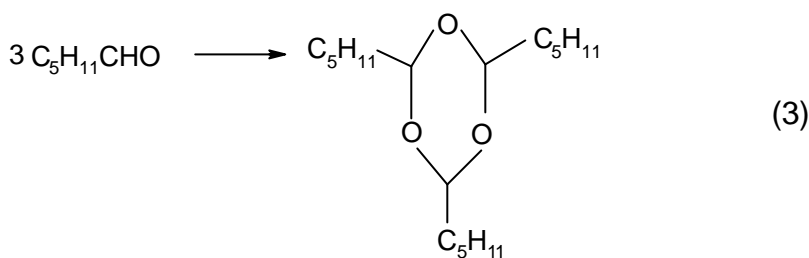
O processo de oxidação pode ser acelerado através da presença de contaminantes, tais como metais, encontrados na maioria dos óleos comestíveis, originários da própria terra onde suas sementes foram cultivadas, ou através dos equipamentos utilizados no processo de refino, de estocagem ou de cocção<sup>31</sup>.

Para evitar a auto-oxidação de óleos e gorduras há a necessidade de diminuir a incidência de todos os fatores que a favorecem, mantendo em um mínimo as fontes 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 oxigênio e bloqueando a formação de radicais livres por meio de antioxidantes, os quais, em pequenas quantidades, atuam interferindo no processo de oxidação de lipídios, inibindo ou retardando-o<sup>23</sup>.

### **2.4.3 FORMAÇÃO DE DÍMEROS E POLÍMEROS**

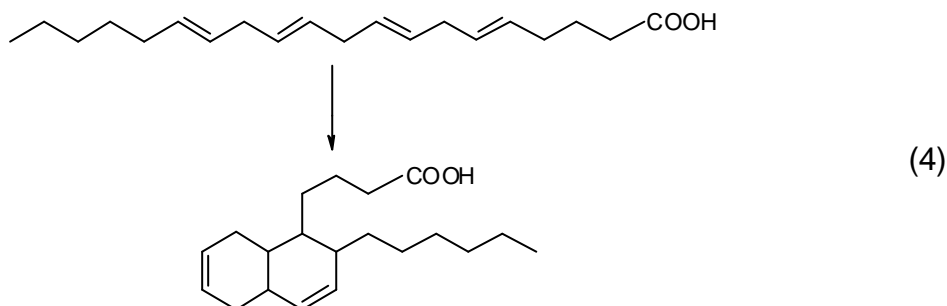
A dimerização e polimerização são reações importantes durante o processo de fritura, uma vez que os óleos comestíveis são normalmente aquecidos a altas temperaturas por períodos prolongados. A formação destes compostos leva a um aumento da massa molar, da viscosidade e do índice de refração do óleo<sup>22</sup>.

Os aldeídos saturados formados durante a fritura podem participar de reações de condensação e dimerização. Por exemplo, três moléculas de hexanal podem combinar-se para dar tripentiltrioxano<sup>22</sup> (reação 3).



Pode, também, ocorrer a formação de dímeros entre os grupos acil de duas moléculas de acilglicerol ou entre dois grupos acil da mesma molécula; uma combinação de radicais livres produzindo dímeros não-cíclicos e, ainda, a adição de um radical livre a uma ligação dupla. Este processo dá lugar a um radical dimérico, que pode captar um hidrogênio de outra molécula ou atacar outra ligação dupla formando compostos acíclicos ou cíclicos<sup>22</sup>.

A adição de um radical livre a uma ligação dupla pode produzir-se na mesma molécula, dando lugar a monômeros cíclicos. A ciclização ocorre mais facilmente no caso de AGPI de cadeia longa, como para o ácido araquidônico<sup>22</sup> (reação 4).



## 2.5 FATORES QUE INFLUENCIAM A INTENSIDADE DE DEGRADAÇÃO DOS ÓLEOS DE FRITURA

A intensidade com que as reações de degradação ocorrem, depende de vários fatores, tais como: temperatura e tempo de fritura, relação superfície:volume de óleo, tipo de aquecimento, tipo de óleo empregado, adição de óleo novo e natureza do alimento a ser frito<sup>12</sup>.

Assim, por exemplo, quanto maior a relação superfície / volume, maior a taxa de degradação do óleo. Isto acontece porque o desenvolvimento das reações oxidativas está diretamente relacionado à superfície de óleo em contato com o ar. Portanto, sendo esta superfície grande, tem-se uma

velocidade de alteração elevada<sup>12</sup>. O tipo de óleo empregado na fritura também é um fator importante a ser considerado no estudo da degradação. Óleos vegetais que possuem uma grande quantidade de AGPI estão mais sujeitos à oxidação do que óleos que possuem uma maior quantidade de ácidos graxos saturados<sup>12</sup>. Além da insaturação, a qualidade inicial do óleo, resultante de efeitos do processamento (temperatura, adição de ácido cítrico e agentes antiespumantes, etc), assim como a presença de componentes em nível traço e antioxidantes naturais, são fatores importantes na estabilidade dos meios de fritura<sup>10</sup>.

A influência do alimento sobre a alteração termoxidativa é difícil de ser analisada, dada a complexidade das interações envolvidas no processo e as diferentes composições dos substratos que são submetidos à fritura<sup>9</sup>.

## **2.6 LIMITES DE UTILIZAÇÃO DOS ÓLEOS DE FRITURA**

As formas de se determinar quando um óleo chegou ao ponto de descarte não são simples. Muitos alimentos são fritos em diferentes tipos de óleo, em diversos tipos de fritadeiras e condições de operação. A combinação de todas estas variáveis é que determina a taxa em que as reações de degradação ocorrem e, portanto, um método específico pode ser bom para avaliar em determinado sistema e não ser aplicável a outros<sup>8,9,11</sup>.

A determinação do ponto de descarte tem impacto econômico significativo, implicando em maior custo quando o óleo for descartado muito cedo e a perda da qualidade do alimento, quando descartado tardiamente.

Em alguns países existem normas estabelecidas para o descarte de óleos utilizados para fritura, mas no Brasil, como em muitos outros países, não existem leis e regulamentações que estabeleçam limites para as alterações destes óleos. A legislação alemã adota limite máximo de 24% para compostos polares totais, 2% para ácidos graxos livres, 170°C para ponto de fumaça e 0,7% para ácidos graxos oxidados; enquanto que os Estados Unidos adotam 1% como valor máximo para ácidos graxos livres<sup>9</sup>. Por outro lado, alguns países como Bélgica, Chile e França permitem para utilização em frituras, óleos vegetais com, no máximo, 2% de ácido linolênico em sua constituição<sup>10,11</sup>, uma

vez que este ácido graxo é poliinsaturado e apresenta, portanto, maior susceptibilidade à oxidação.

Tendo em vista que o Brasil não possui legislação específica para avaliação da qualidade de óleos de fritura, o controle baseia-se, na maioria dos estabelecimentos comerciais, em análises subjetivas, as quais consistem em observar a formação de espumas; o aumento da viscosidade e densidade, relacionado com a presença de compostos de polimerização e surfactantes; as mudanças nas propriedades organolépticas, caracterizadas pelo desenvolvimento de odores e sabores típicos dos óleos aquecidos a altas temperaturas ou dos alimentos neles fritos e, finalmente, pelo escurecimento atribuído à presença de compostos não-polares dos alimentos, solubilizados no óleo<sup>9,13</sup>.

Levando em consideração o exposto, alguns valores são recomendados como limites para o descarte dos óleos e gorduras de frituras, quando são utilizados métodos analíticos simples. Para compostos polares totais, existem regulamentações que estipulam valores de descarte superiores ou iguais a 25%; para ácidos graxos livres, valores superiores a 1%; para o índice de peróxidos, valores acima de 15 meq/Kg de amostra; diminuição do índice de iodo de 16 g I<sub>2</sub>/100g em relação ao índice de iodo do óleo fresco; redução do ponto de fumaça de 50°C em relação ao ponto de fumaça do óleo fresco, presença constante de espuma na fritadeira, etc. Diante destas recomendações, aconselha-se do ponto de vista prático, combinar pelo menos três provas simples para estabelecer o ponto de descarte dos óleos<sup>9,10</sup>.

É de fundamental importância salientar que o presente trabalho não visou substituir os métodos analíticos simples e rápidos, utilizados na avaliação do estado do óleo de fritura, mas conhecer mais detalhadamente a capacidade do processo de fritura de gerar compostos potencialmente tóxicos, que afetam o consumidor e, principalmente, quem os utiliza na cozinha.

## **2.7 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DE ÓLEOS VEGETAIS**

Há uma diversidade de metodologias analíticas propostas na literatura para o controle de qualidade de óleos vegetais. Os métodos mais empregados

consistem em avaliar as alterações nos índices de peróxido, iodo, acidez, anisidina e ponto de fumaça. São também usados a medida de dienos conjugados, o teste com o ácido tiobarbitúrico (TBA), a determinação de compostos carbonílicos e a análise sensorial.

A determinação do índice de peróxido e a medida de dienos conjugados são indicadores sensíveis da fase inicial da oxidação lipídica, enquanto que os produtos finais da oxidação são medidos pelo teste do ácido tiobarbitúrico, índice de anisidina e pela determinação de compostos carbonílicos<sup>37</sup>.

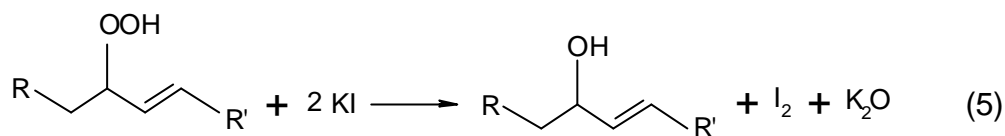
O índice de peróxido apresenta algumas vantagens em relação aos testes de TBA e anisidina. O teste de TBA mede a concentração total de aldeídos presentes no óleo e se baseia na reação de cor entre o ácido tiobarbitúrico (TBA) e o malonaldeído produzido durante a oxidação de AGPI. Porém, este teste requer que seja formado o malonaldeído no sistema oxidativo. Além disso, ele é mais sensível a AGPI contendo três ou mais duplas ligações, não sendo adequado para a determinação de produtos da oxidação de lipídios contendo principalmente os ácidos graxos oléico e linoléico<sup>68</sup>. Logo, não é apropriado para avaliação do grau de oxidação de óleos como os de dendê e soja. Já o teste de anisidina detecta principalmente 2-alquenais, produtos secundários da oxidação de lipídios. No entanto, este método apresenta alto custo, é trabalhoso e sofre interferência de umidade, uma vez que a reação entre a p-anisidina e os aldeídos resulta na formação de água<sup>68</sup>. Na presença de água em quaisquer dos reagentes ou amostras, a reação não se completa, gerando valores mais baixos. Isso ocorre devido ao deslocamento do equilíbrio em favor dos reagentes, em presença de água. Além disso, este teste envolve o manuseio de substâncias muito tóxicas, como a anisidina, que é carcinogênica<sup>68</sup>.

A seguir será discutida brevemente a determinação do índice de peróxido em óleos submetidos a processos de fritura.

### **2.7.1 ÍNDICE DE PEROXIDO (IP)**

Índice de peróxido é um dos índices analíticos que avalia o grau de oxidação de óleos e gorduras. Ele é usado para quantificar os hidroperóxidos – produtos primários da rancidez oxidativa – e é dado em unidades de

miliequivalentes de oxigênio por massa, em kg, de óleo. Os métodos oficiais da AOCS Cd 8-53 e Cd 8b-90 (AOCS, 2003)<sup>32</sup> consistem de uma titulação iodométrica, a qual está baseada na liberação de iodo pela oxidação de iodeto de potássio pelos peróxidos, representada nas reações 5 e 6.



Segundo a literatura<sup>20,21</sup>, este procedimento é altamente empírico e sua eficácia é questionável. Alguns fatores podem levar a erros na determinação do índice de peróxido, a saber: o método é ineficiente para medir adequadamente baixos valores de peróxidos, devido a dificuldades na determinação do ponto final da titulação (mesmo em presença de indicador); baixa sensibilidade; necessidade de grandes quantidades de lipídios; o iodo libertado pode fixar-se às duplas ligações dos ácidos graxos insaturados, conduzindo a um valor menor que o real; o oxigênio presente no meio pode levar à formação de iodo e dar origem a um desvio positivo no valor do IP<sup>21</sup>. Além disso, o ácido acético pode não proporcionar íons H<sup>+</sup> suficientes para a reação se completar.

Entretanto, apesar das limitações que este índice analítico apresenta, ele ainda é muito utilizado na avaliação do grau oxidativo de óleos e gorduras, por ser um método rápido e de grande simplicidade.

Segundo autores<sup>12,13,31,38</sup>, o IP deve ser determinado nos primeiros estágios do processo oxidativo. A variação do nível de peróxidos ao longo do tempo ocorre de uma forma gaussiana, pelo que um nível baixo de peróxidos não constitui uma garantia de boa estabilidade oxidativa, podendo, pelo contrário, ser sinônimo de alteração pronunciada.

Jorge e Malacrida (2003)<sup>12</sup> determinaram os índices de peróxido (segundo a metodologia da AOCS Cd 8-53) em óleo de soja e na mistura azeite de dendê-óleo de soja, submetidos a processo de fritura durante diferentes intervalos de tempo. As relações superfície / volume de óleo (S/V) empregadas foram 0,5 e 1,0 cm<sup>-1</sup>. Observou-se que, para a mistura azeite de

dendê-óleo de soja, houve um aumento do índice de peróxido em função do tempo de fritura e da relação S/V, enquanto que o óleo de soja apresentou um comportamento instável no decorrer do processo. Segundo alguns autores<sup>12,13,31,38</sup>, em temperaturas utilizadas no processo de fritura, os hidroperóxidos se decompõem rapidamente dando origem a produtos secundários de oxidação. Portanto, a velocidade de degradação dos peróxidos e formação de compostos secundários é maior que a velocidade de formação dos peróxidos. Além disso, o índice de peróxido não distingue entre os vários ácidos insaturados que sofreram oxidação nem fornece informações sobre os produtos de oxidação secundária.

Outro método usado para medir a quantidade de peróxidos, presentes em óleos e gorduras, consiste em uma técnica colorimétrica, na qual os peróxidos oxidam  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{+3}$ , que é a seguir determinado por colorimetria ( $\lambda=500$  nm), sob a forma de cloreto ou tiocianato férrico<sup>21</sup>.

## **2.8 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS**

O aroma dos alimentos e óleos, utilizados em frituras, pode ser explicado pela ocorrência de compostos químicos, cuja principal característica é a volatilidade, a qual permite que tais compostos sejam percebidos pelos receptores nasais, tanto durante a degustação do alimento (detecção retro-nasal), como pelo odor exalado a distância. Estima-se que o processo de percepção pelo olfato (aroma) seja mais sensível do que pelo paladar (sabor), em fatores que variam na ordem de  $10^6$  a  $10^9$ . Ao contrário do paladar, milhares de compostos voláteis podem ser detectados e diferenciados, em menor ou maior escala, pelo olfato. Isso depende de diversos fatores, dentre os quais a estrutura química do composto volátil e a interação deste com a matriz alimentícia. Tais fatores, por sua vez, são responsáveis por características importantes dos compostos, a exemplo do valor do limiar de odor (limiar de detecção ou "threshold"), que pode ser definido como a concentração mínima para a qual um composto passa a ser detectado pelo sentido do olfato<sup>30</sup>.

## **2.8.1 MÉTODOS DE AMOSTRAGEM DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS**

Os compostos orgânicos voláteis (COV) emitidos pelos óleos vegetais durante o processo de fritura estão presentes em concentrações a nível de traços, possuindo diferentes estruturas químicas e sendo alguns deles termolábeis.

O método para o isolamento e enriquecimento dos COV deve ser simples, rápido, eficiente e de baixo custo. Idealmente, compreenderia uma única etapa, separando os componentes voláteis da matriz de não voláteis e ao mesmo tempo concentrando-os, com mínima manipulação da amostra. A etapa de isolamento não pode causar mudanças no perfil da composição total, o que alteraria a caracterização do produto estudado<sup>40</sup>.

Na extração de COV existem os chamados métodos clássicos e os métodos “limpos”, ou seja, de baixo impacto para o meio ambiente e para o analista. Os métodos clássicos, além de agredirem o meio ambiente, são considerados “não-limpos” porque componentes não voláteis podem ser introduzidos no cromatógrafo a gás, contaminando a coluna ou degradando-se no injetor, levando à formação de artefatos e/ou diminuição da vida útil da coluna cromatográfica.

Dentre os métodos clássicos, os principais são a destilação e a extração com solventes (extração líquido-líquido e a extração líquido-sólido - tipo “Soxhlet”). Já dentre os métodos “limpos” estão o *headspace* estático e dinâmico, a extração em fase sólida e a microextração em fase sólida.

Estes métodos serão brevemente discutidos a seguir.

### **2.8.1.1 MÉTODOS CLÁSSICOS**

#### **a) Extração com solventes**

Nas extrações líquido-líquido e líquido-sólido (tipo Soxhlet) ocorre a partição da amostra entre duas fases imiscíveis. A eficiência da extração depende da afinidade do soluto pelo solvente de extração, da razão entre as fases e do número de extrações.



As técnicas de extração com solventes, apesar de simples, têm como desvantagens a grande demanda de tempo e o uso de grandes quantidades de solventes, sendo necessária uma posterior concentração do extrato por aquecimento, o que pode acarretar mudanças na composição de voláteis<sup>40</sup>.

## **b) Destilação**

Esta técnica envolve aparelhagens simples, porém é demorada, de difícil automação e requer grande quantidade de amostra (> 100 g). Entretanto, apesar das limitações, permite a análise total do aroma, que compreende o isolamento de todos os voláteis presentes no alimento<sup>40</sup>.

O sistema mais utilizado pelos pesquisadores nesta abordagem é a unidade de destilação-extração simultânea, ou então modificações desse sistema. Seu uso envolve emprego de aquecimento, o que pode causar perdas ou modificações na composição original dos compostos voláteis, como também produzir artefatos<sup>40</sup>.

### **2.8.1.2 MÉTODOS “LIMPOS”**

#### **a) Extração em fase sólida**

O método de extração em fase sólida tem sido aplicado, com sucesso, na análise de componentes voláteis de alimentos, principalmente quando outras técnicas falham na obtenção do aroma característico.

O princípio geral da extração em fase sólida (EFS) é análogo ao da extração líquido-líquido (ELL), isto é, baseado na distribuição diferencial de um ou mais analitos entre duas fases imiscíveis (líquido-sólido ou gás-sólido).

A fase sólida, contida em uma microcoluna ou cartucho, pode ser representada por vários tipos de materiais (como por exemplo, Tenax, C18, etc). As etapas no procedimento de extração envolvem o condicionamento do cartucho, a adsorção/partição dos voláteis pela passagem da amostra e a remoção dos analitos adsorvidos por processo térmico ou com solventes.

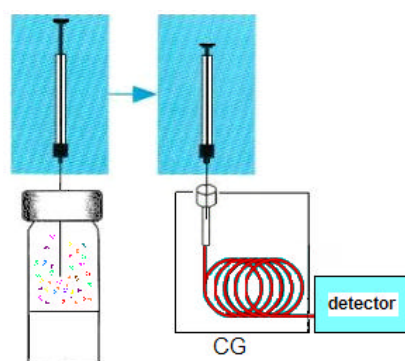
A EFS apresenta vantagens sobre a ELL, como o uso de pequenas quantidades de amostras, não formar emulsão, necessidade de tempo reduzido de análise e baixo consumo de solvente.

## b) *Headspace* (HS)

*Headspace* (HS) é o termo usado para designar a fase vapor que se encontra imediatamente acima de uma matriz sólida ou líquida. A análise do *headspace* é conseqüentemente a análise dos componentes presentes nessa fase.

Existem duas formas de aplicação deste técnica: o *headspace* estático e o *headspace* dinâmico.

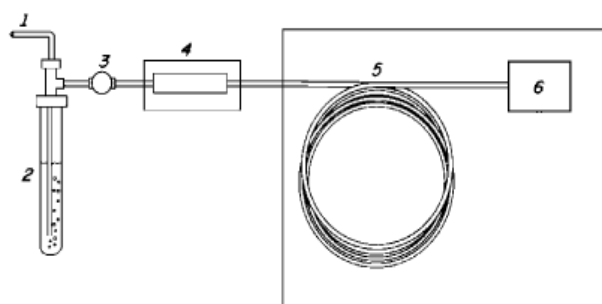
O *headspace* estático (figura 5) é um método direto de extração, onde os analitos voláteis da matriz se distribuem, em equilíbrio a uma temperatura constante, entre as duas fases – a vapor e a sólida / líquida – em um recipiente de vidro hermeticamente fechado com um septo polimérico. Após um tempo de equilíbrio pré-determinado, uma pequena quantidade de vapor é removida do *headspace* através do septo – utilizando-se uma microseringa de vidro, apropriada para análise de gás (*gastight*) – e injetada em um cromatógrafo a gás para análise. Esta técnica possui como vantagens a simplicidade e pouco manuseio da amostra, além de ser facilmente automatizada e de baixo custo<sup>26</sup>. Porém, permite determinar apenas os componentes que apresentem maior pressão de vapor e, portanto, maior concentração no *headspace*, de um sistema fechado.



**Figura 5.** Representação esquemática da técnica de *headspace* estático<sup>37</sup>.

Já a técnica de *headspace* dinâmico (figura 6) envolve a passagem dos vapores do *headspace* através de um leito de uma superfície ativa – que pode ser um adsorvente poroso (por exemplo, Tenax) ou um suporte sólido

funcionalizado (ex. sílica com  $C_{18}$ ) – forçada pela passagem de um gás inerte pela amostra, seguida de eluição dos COV retidos pelo emprego de solvente ou aquecimento. O headspace dinâmico pode também ser classificado como extração em fase sólida, pois segue os princípios gerais desta, que já foram apresentados anteriormente. A vantagem da dessorção por aquecimento sobre a dessorção com solventes é que não ocorre a diluição dos componentes, havendo um ganho na sensibilidade. Porém, podem ocorrer reações entre analito / sorvente ou entre os analitos, nas temperaturas requeridas no processo, e apenas uma análise pode ser feita a partir da extração. O isolamento dos compostos voláteis em polímeros porosos tem sido largamente empregado na investigação de aromas em alimentos.



- |                            |                          |
|----------------------------|--------------------------|
| 1. Entrada do gás de purga | 4. Trap                  |
| 2. Tubo contendo a amostra | 5. Coluna cromatográfica |
| 3. Válvula                 | 6. Detector              |

**Figura 6.** Representação esquemática da técnica de *headspace* dinâmico<sup>26</sup>.

### c) Microextração em fase sólida (SPME — *solid phase microextraction*)

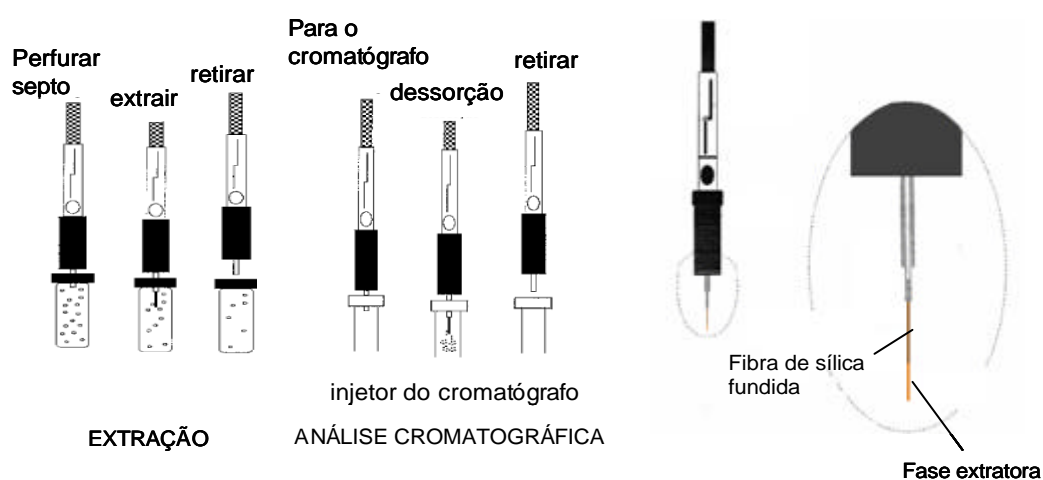
A técnica de microextração em fase sólida tem sido considerada como potencialmente útil para a caracterização de compostos voláteis de óleos vegetais e outros tipos de alimentos.<sup>63</sup> Basicamente, o sistema consiste de uma seringa com uma fibra de sílica fundida, revestida com diferentes fases estacionárias de variadas espessuras. Para a análise do *headspace*, a fibra é posicionada na fase gasosa em equilíbrio com a amostra, a uma determinada temperatura, para que os compostos voláteis sejam absorvidos / adsorvidos e, posteriormente, por exposição da fibra no injetor do cromatógrafo, a dessorção

térmica é realizada (figura 7). Tem como principais vantagens a simplicidade, a rapidez e a não-utilização de solvente.<sup>62</sup> Porém, este tipo de amostragem tem custo relativamente elevado, pois as fibras utilizadas têm tempo de vida limitado.

De Andrade et al (2006)<sup>46</sup> determinaram os principais COV que contribuem para o aroma de três variedades de pimentas empregando a técnica de SPME como método de extração e análise por CGAR-EM. A metodologia desenvolvida foi capaz de extrair e identificar 34 COV presentes no *headspace* das três variedades de pimentas utilizadas, tais como o humuleno, o tetradecano e o 2-metil-tridecano<sup>46</sup>.

Pereira et al (2005)<sup>47</sup> utilizaram a SPME na extração dos COV responsáveis pelo *flavor* de três frutas muito comuns no Brasil: tamarindo, umbu e pitanga. A análise foi feita por CGAR-EM. Alguns dos COV identificados foram o undecen-1-ol e o nonen-1-ol no tamarindo;  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, ocimeno, linal e  $\delta$ -calineno na pitanga; e  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -ocimeno,  $\alpha$ -terpineol e  $\alpha$ -selineno no umbu<sup>47</sup>.

Como pode-se perceber, a SPME é uma técnica muito utilizada na separação de COV presentes em diversos tipos de alimentos, bem como óleos vegetais, a fim de verificar a qualidade destes produtos, detectar adulterações e compostos que contribuem para o *flavor* e *off-flavor*<sup>41,42</sup>.



**Figura 7.** Ilustração esquemática do método SPME – “headspace”<sup>28</sup>

## **2.8.2 MÉTODOS DE ANÁLISE DE COV**

A cromatografia em suas principais modalidades e emprego dos mais diversos detectores têm sido ferramenta fundamental e largamente utilizada na separação e identificação de COV. Sistemas modernos de bibliotecas eletrônicas de massas auxiliam na identificação das substâncias, através da comparação das características dos espectros de massas obtidos, com espectros padrões, armazenados na memória do computador.

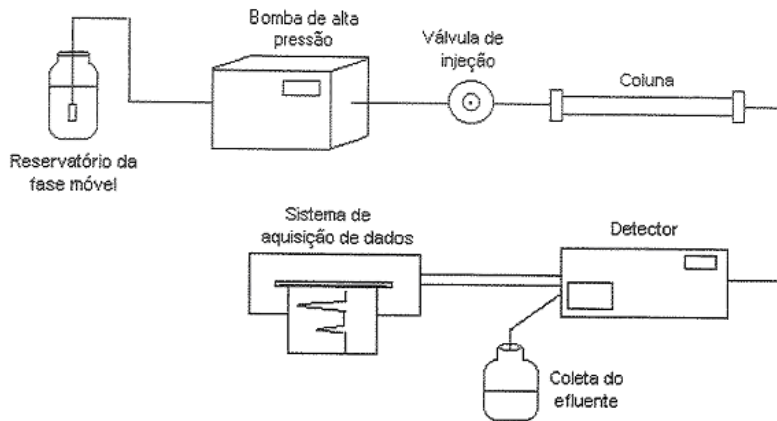
Há, ainda, as técnicas olfatométricas, as quais correlacionam os compostos identificados por espectrometria de massas com a importância odorífera de cada volátil no aroma e sabor dos alimentos.

### **2.8.2.1 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS**

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma amostra através da distribuição destes entre duas fases, uma que permanece estacionária e a outra que se move através dela em uma direção definida (fase móvel). A separação cromatográfica se dá através dos diferentes graus de interação de cada componente da amostra com a fase estacionária e com a fase móvel, a qual pode ser líquida ou gasosa. Desta forma, cada um dos componentes é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciais dos mesmos<sup>43</sup>.

#### **2.8.2.1.1 CROMATOGRAFIA A LÍQUIDO DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)**

Na CLAE (figura 8), a fase móvel é bombeada sob alta pressão e a uma vazão controlada. Uma pequena quantidade de amostra é introduzida por meio de uma válvula de injeção, sendo conduzida pela fase móvel através da coluna, onde ocorre a separação dos componentes, e ao detector. A fase móvel, contendo os componentes da amostra já separados, ao sair da coluna chega ao detector onde um sinal, proporcional à concentração de cada soluto, é enviado ao registrador ou integrador<sup>43</sup>.



**Figura 8.** Componentes básicos de um cromatógrafo a líquido<sup>48</sup>.

Os quatro tipos de cromatografia na qual a fase móvel é um líquido são: cromatografia líquido-sólido ou por adsorção, cromatografia líquido-líquido ou por partição com ou sem fase quimicamente ligada, cromatografia de troca iônica e cromatografia de exclusão por tamanho. Dentre estas, a cromatografia líquida com fase quimicamente ligada tornou-se a mais amplamente utilizada<sup>39</sup>, devido à maior estabilidade térmica e mecânica da fase estacionária<sup>43</sup>.

Há dois tipos de cromatografia líquida de fase quimicamente ligada, a depender da polaridade das fases móvel e estacionária: cromatografia em fase normal e cromatografia em fase reversa.

A cromatografia que emprega fase normal baseia-se em uma fase estacionária altamente polar, suportada em partículas de sílica ou alumina, e uma fase móvel apolar. Já na cromatografia em fase reversa, a fase estacionária é mais apolar e a fase móvel mais polar. A fase estacionária na fase reversa normalmente é um hidrocarboneto de cadeia longa, como uma cadeia C8 (n-octil) ou uma cadeia C18 (n-octadecil)<sup>39</sup>.

As colunas mais comumente utilizadas em CLAE são as de fase reversa, por apresentarem uma série de vantagens, tais como: estabilidade da fase frente a solventes; o equilíbrio da coluna é conseguido rapidamente após a mudança da fase móvel; podem ser facilmente empregadas técnicas de programação, incluindo eluição por gradiente; análises rápidas, reprodutibilidade dos tempos de retenção e campo de aplicação amplo<sup>43</sup>.

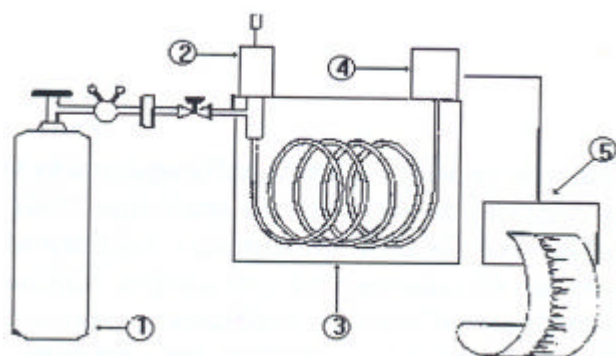
Os detectores mais utilizados na CLAE são os de absorção de radiação no UV-Vis, de fluorescência, de índice de refração, de condutividade elétrica e

os espectrômetros de massas. O sucesso da análise dependerá da escolha apropriada da coluna e do módulo de detecção.

### 2.8.2.1.2 CROMATOGRAFIA A GÁS (CG)

Há dois tipos de cromatografia na qual a fase móvel é um gás: cromatografia gás-sólido ou de adsorção e cromatografia gás-líquido ou de partição. Devido à grande diversidade de fases líquidas disponíveis, a cromatografia gás-líquido é a mais versátil e seletiva forma de cromatografia em fase gasosa. Isso permite que sejam analisadas amostras sólidas, líquidas ou gasosas, desde que sejam voláteis ou possam ser volatilizadas, sem sofrerem decomposição no cromatógrafo<sup>50</sup>.

No cromatógrafo a gás (figura 9), a amostra é introduzida em um ponto do sistema denominado injetor, e daí segue junto com o gás de arraste para a coluna cromatográfica. Na coluna, os componentes da amostra seguem a diferentes velocidades, a depender de sua interação com a fase estacionária. Estes componentes, depois de separados, passam por um detector que envia um sinal ao registrador ou integrador, o qual é proporcional às suas quantidades ou concentrações.



**Figura 9.** Diagrama de blocos com os principais módulos de um cromatógrafo a gás: 1. sistema de gás carreador; 2. sistema de injeção; 3. coluna cromatográfica; 4. sistema de detecção; 5. registrador.

As colunas utilizadas em cromatografia a gás podem ser empacotadas ou capilares, sendo estas últimas as mais utilizadas atualmente devido à eficiência de separação bastante superior às empacotadas<sup>49,50</sup>.

O material mais comum para a confecção do tubo de invólucro das colunas capilares é a sílica fundida, que é um material inerte. A parede externa do tubo é recoberta com poliamida para que adquira resistência mecânica. As paredes internas são inerentemente lisas e o tubo tem uma grande flexibilidade, facilitando a conexão ao injetor e detector do cromatógrafo<sup>49</sup>.

Devido ao volume interno pequeno das colunas capilares, onde a fase estacionária é aplicada sob a forma de filmes finos, é necessário que a quantidade de amostra que é introduzida na coluna seja pequena. Para que isto seja conseguido utiliza-se em geral um divisor de amostras, que se situa entre o injetor e a coluna<sup>49</sup>. O divisor recebe a amostra, vaporizada pelo injetor, e a divide em duas frações desiguais, sendo que a menor delas é a que vai para a coluna. Este modo de injeção é denominado *split*. Há também o modo *splitless*, no qual não há divisão da amostra, e que é adequado para a análise de traços, quando é necessário ter maiores quantidades de amostra chegando ao detector para se obter uma resposta mensurável<sup>49</sup>.

Alguns dos detectores utilizados com maior frequência na cromatografia a gás são o de condutividade térmica (DCT), o de ionização em chama (DIC), o de captura de elétrons (DCE), detector fotométrico de chama (DFC) e espectrômetro de massas (EM).

#### **2.8.2.1.2.1 CROMATOGRAFIA A GÁS - ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

A análise por espectrometria de massas, acoplada à CG, pode ser efetuada por dois tipos de ionização: a ionização por impacto de elétrons (IE) e a ionização química (IQ). A ionização eletrônica, mais conhecida como ionização por impacto de elétrons, é mais simples e muito utilizada. O padrão de fragmentação é, na grande maioria das vezes, alcançado pelo impacto de elétrons energizados a 70 eV. Em princípio podem ser obtidos espectros idênticos em diferentes tipos de equipamentos, desde que a energia dos elétrons seja a mesma. Esta reprodutibilidade levou à compilação de bibliotecas para espectros por IE a 70 eV<sup>44</sup>.

A ionização química oferece um método mais suave de fragmentação. Usa-se um fluxo controlado de gás reagente, que pode ser, por exemplo, amônia, metano ou isobutano. O gás reagente é introduzido no local da



ionização (*ion source*) onde os elétrons térmicos emitidos pelo filamento bombardeiam e ionizam o gás reagente. Os íons gerados irão colidir com moléculas neutras havendo transferência de hidrogênio. Este processo é repetido quando os íons do gás reagente colidem com as moléculas do analito. A IQ produz normalmente íons protonados, geralmente com massa de uma unidade maior que a massa molecular do composto. Sob certas condições a IQ produz íons moleculares negativos, formados por captura de elétrons. Há então disponíveis duas opções: a ionização química positiva e a negativa<sup>44</sup>. A sensibilidade no modo de íon negativo para certas classes de compostos pode ter ordem de magnitude maior quando comparada com IQ positiva ou IE.

Existe, porém, uma preferência pela IQ positiva (em metano), pois este proporciona espectros com menos fragmentos, os quais em geral aparecem em regiões de massas altas, além de fornecer o íon molecular<sup>44</sup>.

Uma vez estabelecido o tipo de ionização a ser utilizado, há duas formas de processar o cromatograma: usando todos os íons / fragmentos (*full scan*) ou selecionando pelo menos um fragmento de cada analito, processo esse denominado monitoramento de íons (simples ou múltiplo), muito conhecido pela sigla em inglês SIM (*single ion monitoring*). Todavia, mesmo trabalhando com o total de fragmentos é possível reconstruir o cromatograma com os fragmentos mais importantes, o que é uma forma de eliminar íons interferentes e diminuir o efeito da matriz<sup>44</sup>.

A confirmação da identidade dos componentes de uma amostra, separados e analisados por CG-EM, leva em consideração não apenas o seu tempo de retenção, mas também a massa de cada um dos principais fragmentos gerados e a razão entre suas intensidades<sup>44</sup>.

Alguns equipamentos de CG-EM permitem o modo de análise espectrometria de massas / espectrometria de massas (EM-EM). Embora a sensibilidade não seja elevada, esse modo é muito apropriado para a elucidação estrutural de substâncias desconhecidas e para a confirmação de identidade. Deve-se, porém, escolher criteriosamente os íons utilizados<sup>44</sup>.

## **2.9 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS CARBONÍLICOS EM FASE GASOSA**

Para a determinação das taxas de emissão de CC pelos óleos, é necessária uma etapa de preparação da amostra, que envolve procedimentos de coleta e pré-concentração, seguidos ou não por processos de derivatização dos analitos, a fim de compatibilizar a amostra com as técnicas cromatográficas e de detecção. Além disso, os métodos de análise devem apresentar alta sensibilidade, seletividade, rapidez, precisão e exatidão.

Existem vários métodos disponíveis para a determinação de CC, sendo que os mais utilizados serão brevemente apresentados a seguir.

### **2.9.1 MÉTODOS DE AMOSTRAGEM DE COMPOSTOS CARBONÍLICOS EM FASE GASOSA**

Diferentes métodos têm sido utilizados para amostragem de compostos carbonílicos (CC) em fase gasosa, sendo que os mais frequentes baseiam-se no emprego de reações de derivatização, as quais serão abordadas adiante. A maioria desses métodos envolve o uso de borbulhadores, cartuchos de sílica funcionalizados com C18 e tubos com adsorvente sólido. Um outro método é o que usa como polímero sorvente o XAD-2 impregnado com hidroximetil piperidina.<sup>18</sup>

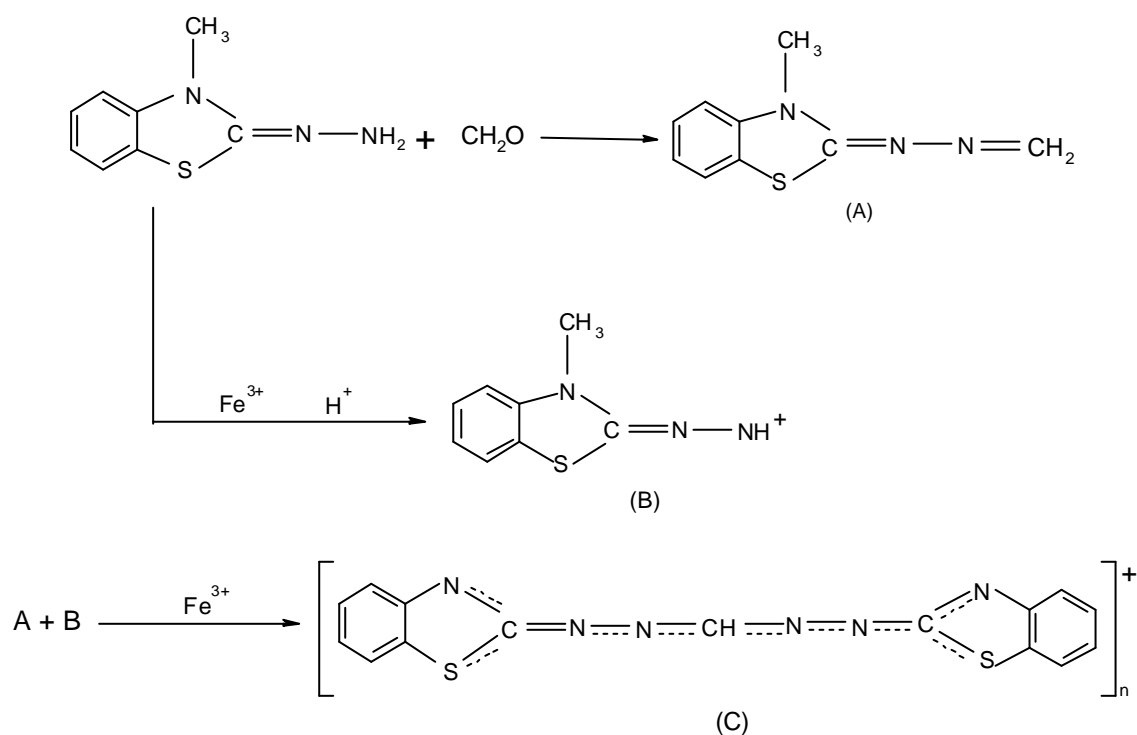
Atualmente os dispositivos mais empregados na amostragem de CC em fase gasosa são os cartuchos de sílica funcionalizados com C18, pois apresentam vantagens, como facilidade de transporte e melhor eficiência quando comparados com borbulhadores.<sup>18</sup>

### **2.9.2 MÉTODOS DE ANÁLISE DE COMPOSTOS CARBONÍLICOS**

Tanto os métodos cromatográficos como os espectrofotométricos são bastante utilizados na determinação de CC em fase gasosa. A seguir, é feita uma breve discussão de cada um.

### 2.9.2.1 MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS

Um dos métodos espectrofotométricos é o que faz uso do reagente MBTH (3-metil-2-benzotianona hidrazona) e é baseado na reação entre o CC e uma solução de MBTH, em presença de cloreto férrico em meio ácido, para formar um cátion azul (figura 10). A reação ocorre em três etapas: (1) o aldeído reage com o MBTH para formar a azina correspondente, (2) Fe (III) adicionado à solução oxida MBTH para formar um cátion reativo e (3) a azina e o cátion reativo se combinam para formar um cátion azul que possui absorvância máxima em 628 nm. O método permite a determinação de aldeídos totais, não sendo assim seletivo. Outra limitação é que as soluções são muito instáveis. Logo, o tempo de amostragem deve ser curto e a análise deve ser realizada imediatamente após a amostragem<sup>18,39,54</sup>.



**Figura 10.** Reação de formação do corante cátion azul. (A): reação entre MBTH e CC com formação da azina; (B): reação de oxidação do MBTH com Fe (III) em meio ácido; (C): reação entre os produtos das etapas (A) e (B) para formação do cátion corante azul (C).<sup>54</sup>

Espectrofotometricamente, os CC podem ser determinados também utilizando-se o ácido cromotrópico. Este método baseia-se na reação deste ácido com o CC, levando a formação de um produto de cor violeta que é determinado a 578 nm. O mesmo se limita à determinação de formaldeído, em concentrações acima de 0,04 µg/mL. Além da baixa sensibilidade, o método apresenta muitos interferentes, entre os quais NO<sub>2</sub>, alcenos e fenol<sup>18,39</sup>.

### 2.9.2.2 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

A cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia a gás (CG), acoplados a uma grande variedade de detectores, são os métodos analíticos mais empregados na análise de CC.

Na determinação de CC, a cromatografia a líquido apresenta algumas vantagens sobre a cromatografia a gás. Na análise de CC na forma de suas respectivas 2,4-dinitrofenilhidrazonas (2,4-DNPHo), a CG é pouco sensível e requer altas temperaturas do forno, devido à baixa volatilidade destes compostos.<sup>24</sup> Na CLAE, por outro lado, é possível a análise de compostos pouco voláteis ou termicamente instáveis. Além disso, atualmente, devido ao desenvolvimento de fases ligadas quimicamente ao suporte e ao uso de partículas esféricas de diâmetro reduzido, a CLAE oferece alta eficiência de separação, possibilitando separar derivados de aldeídos e cetonas de mesma massa molar.<sup>18,55</sup>

Os detectores mais usados em cromatografia a gás na quantificação das respectivas 2,4-DNPHo são o detector por ionização em chama (DIC) e o detector de captura de elétrons (DCE). Embora o DCE seja mais sensível, apresenta uma faixa linear de resposta limitada entre 20 e 500 pg, enquanto o DIC é menos sensível, mas com uma faixa linear mais extensa, 10 - 10<sup>4</sup> ng, para as respectivas 2,4-DNPHo.<sup>18</sup>

Já na cromatografia a líquido é usualmente empregado o detector UV/VIS, em comprimentos de onda que variam entre 350 – 430 nm.

### 2.9.2.3 REAÇÕES DE DERIVATIZAÇÃO

Na análise química, as reações de derivatização são utilizadas para transformar uma substância em outra, de modo que o produto derivatizado possua alguma vantagem relativa, do ponto de vista analítico, à original.

Na determinação de CC, estas reações levam ao aumento da resposta pelos detectores comumente usados na cromatografia a gás (DIC, DCT, EM, detector de nitrogênio-fósforo) e na cromatografia a líquido (absorção no UV-Visível, fluorimétrico, EM) através da introdução de grupos específicos<sup>27</sup>. As reações de derivatização são importantes também por proporcionarem melhores condições de separação, como por exemplo, aumentando a simetria dos picos e reduzindo o efeito de cauda.

Os aldeídos de baixa massa molar, tais como formaldeído, acetaldeído e acroleína, são altamente voláteis e reativos. Tais características dificultam a sua análise direta após a extração, fazendo com que sua determinação por métodos indiretos, por meio de reações de derivatização, seja mais usada<sup>37</sup>.

As principais reações de derivatização são as que envolvem a adição de um nitrogênio nucleofílico, de certos derivados da amônia, ao carbono da carbonila para formar produtos estáveis<sup>37</sup>.

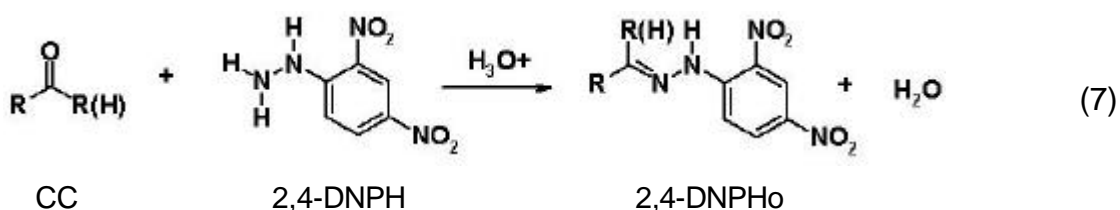
A tabela 4 ilustra alguns agentes derivatizantes com suas respectivas reações e produtos<sup>37</sup>.

**Tabela 4.** Reações de derivatização de compostos carbonílicos<sup>37</sup>.

hidroxilamina	 oxima
hidrazina	 hidrazona
2,4-dinitrofenilhidrazina	 2,4-dinitrofenilhidrazona
semicarbazina	 semicarbazona

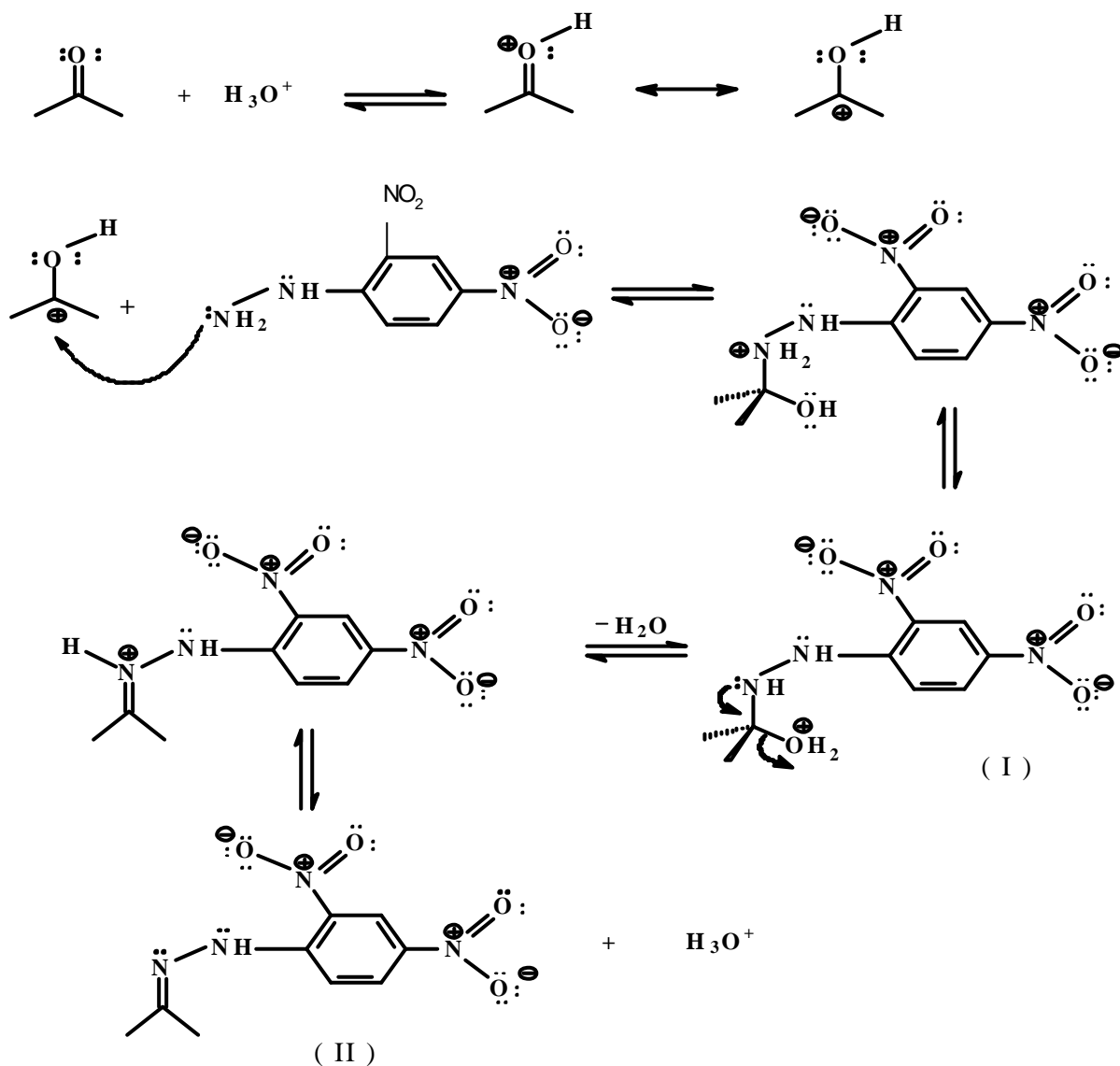
**Fonte:** Veloso, M. C. C.<sup>37</sup>

Dentre estas reações, a condensação com a 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4-DNPHi) tem sido uma das mais utilizadas na determinação de CC, devido à alta especificidade e seletividade deste reagente, da rapidez da reação à temperatura ambiente, da alta estabilidade dos derivados e baixos limites de detecção proporcionados, com formação das respectivas 2,4-dinitrofenilhidrazonas<sup>25</sup> (reação 7).



Esta reação de condensação procede via um mecanismo de adição nucleofílica da 2,4-DNPH, em meio ácido, sobre o composto carbonílico para

formar uma carbinolamina como intermediário (I), que perde água dando uma imina N-substituída, o derivado hidrazônico (II).



A etapa determinante da velocidade da reação envolve o ataque nucleofílico da hidrazina ao carbono carbonílico. Assim, a velocidade desta reação é uma função do pH do meio, da concentração do composto carbonílico, da concentração do ácido usado como catalisador e da concentração da 2,4-DNPH. Os dois últimos fatores não são muito importantes, pois geralmente estes reagentes estão em excesso. Destes fatores, o pH parece ser o mais importante, pois a catálise ácida ativa o carbono carbonílico,

por meio da protonação do oxigênio, tornando-o muito mais eletrofílico e passível de ser atacado por um nucleofílico fraco, como a 2,4-DNPH.

A influência do valor do pH nesta reação deve-se à competição entre a nucleofilicidade e a basicidade da 2,4-DNPH, e ao caráter eletrofílico do carbono do grupamento carbonílico. Em valores de pH muito baixos, a 2,4-DNPH atua como base, sendo protonada e diminuindo, portanto, a sua ação como nucleófilo. Já em pH alto, a reatividade do grupamento carbonílico diminui. Assim, é necessário o estabelecimento de valores de pH que equilibrem estes dois fatores.

Estudos<sup>53</sup> mostram que o ácido fosfórico é o ácido que melhor age como catalisador da reação. Com outros ácidos, os valores de branco são elevados e há formação de isômeros. Portanto, para que não ocorram problemas na quantificação das 2,4-DNPHo, deve-se adicionar, tanto nos padrões como nas amostras, uma quantidade de ácido fosfórico que forme uma solução ácida entre 0,02 e 1,0%.

Borbulhadores contendo 2,4-DNPH são frequentemente empregados na coleta de CC em fase gasosa. Entretanto, a eficiência de coleta de alguns CC por estes dispositivos é baixa<sup>29</sup>.

O procedimento mais utilizado na atualidade, para amostragem de CC em fase gasosa, é o que envolve a coleta e pré-concentração em cartuchos de sílica funcionalizados com C<sub>18</sub> e impregnados com solução ácida de 2,4 DNPH. Este procedimento apresenta algumas vantagens, como alta eficiência de coleta e formação do produto, praticidade na recuperação das 2,4 DNPHo, assim como facilidade de transporte e baixo custo. Um problema na utilização de sorventes sólidos é a necessidade de utilização, em geral, de solventes orgânicos, para extrair os CC amostrados, ainda que na maioria das vezes o volume utilizado seja da ordem de alguns mL.

É importante ressaltar que já é bem estabelecido na literatura que CC voláteis reagem quantitativamente com a 2,4-DNPH, depositada sobre cartuchos C<sub>18</sub><sup>53, 56,57</sup>.



### 3.0 OBJETIVOS

---

O objetivo geral do trabalho foi determinar as taxas de emissão, e sua variação ao longo do tempo, de compostos carbonílicos produzidos por óleos de dendê e soja levados à temperatura típica de processo de fritura (180°C), sob condições de aquecimento contínuo e descontínuo, em diferentes razões superfície/volume. Além disso, foram identificados outros compostos orgânicos voláteis emitidos. Através da identificação e quantificação dos CC gerados nas reações de degradação dos óleos e presentes na fumaça proveniente da fritura, este estudo possibilita avaliar a qualidade do ar dos trabalhadores expostos.

#### 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

---

- Determinar e comparar as taxas de emissão de compostos carbonílicos (CC), dentre os quais alguns comprovadamente tóxicos, como o formaldeído, acetaldeído e acroleína, por aquecimento de óleo de dendê e soja a temperatura de fritura de alimentos (180°C) por diferentes intervalos de tempo, em processos contínuo e descontínuo;
- Verificar a influência da relação superfície/volume de óleo, nas taxas de emissão de CC durante processo de fritura;
- Determinar o perfil da fração volátil de amostras de óleos de dendê e soja à temperatura ambiente (25°C), bem como a sua variação durante o processo de fritura;
- Determinar o índice de peróxido nos óleos durante processo de fritura, em aquecimentos contínuo e descontínuo, relacionando-o aos resultados das emissões.

## 4 EXPERIMENTAL

---

### 4.1 MATERIAL

#### 4.1.1 REAGENTES E SOLVENTES

Ácido fosfórico concentrado, P.A. – Merck

Acetonitrila, grau HPLC – Merck

Ácido acético glacial P.A – Merck

Amido P.A – Merck

Ar sintético grau super-seco - AGA

Clorofórmio, P.A – Merck

Diclorometano, P.A. – Merck

2,4-Dinitrofenilhidrazina, P.A. – Aldrich

Hexano P.A – Merck

Iodeto de Potássio, P.A – Merck

Isooctano, grau cromatográfico – Merck

Nitrogênio puro (99,9%) – AGA

Tetracloreto de carbono, P.A. – Merck

Permanganato de potássio, P.A – Merck

Oxalato de sódio, P.A – Merck

Tiosulfato de sódio, P.A – Reagen

Água para limpeza de vidrarias – deionizada e isenta de compostos orgânicos

Água para cromatografia – grau HPLC, J.T.Baker ou deionizada e isenta de compostos orgânicos

#### 4.1.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

Placa de aquecimento – IKA, modelo MSH

Banho de ultra-som - Arruda, modelo SX-10

Medidor de vazão (rotâmetro) – Cole Parmer, modelo G11K859

Seringa de vidro *gastight* de 500 µL – Hamilton

Seringa de vidro tipo *luer* de 5 e 10 mL - B.D.Yale

Agitador mecânico com haste de vidro e teflon - Nova Ética, modelo 103

Balança Analítica - Sartorius, modelo A120S

Bomba à vácuo – Fanem, modelo 089-CAL

Cartuchos Sep-Pak C18 – Waters, 360 mg de fase sólida C18

Manta de aquecimento – QUIMIS, modelo Q.321.A.14

Indicador de temperatura, termopar – COEL, modelo LWI/J

#### **4.1.3 SISTEMAS CROMATOGRÁFICOS**

##### **CLAE – DAD – EM**

Cromatógrafo a líquidos Agilent (Waldbronn, Alemanha), modelo 1100, equipado com bomba e programador de gradientes (sistema binário de solventes), injetor automático (Agilent G1313A), acoplado a detector de arranjo de diodos (Agilent G1315B) e a espectrômetro de massas tipo *ion trap* (Bruker Daltonics Esquire 3000, Billerica, Estados Unidos) com fonte de ionização tipo eletrospray.

##### **CGAR - EM**

Cromatógrafo Shimadzu (GC 2010), equipado com injetor com e sem divisão de fluxo (split/slitless), amostrador automático (AOC-20i), acoplado a um detector de massas tipo quadrupolo, Shimadzu (GCMS-QP 2010), calibrado com perfluortributilamina (PFTBA).

## **4.2 MÉTODOS**

#### **4.2.1 RECRISTALIZAÇÃO DA 2,4-DINITROFENILHIDRAZINA (2,4-DNPH) E PREPARO DA SOLUÇÃO A 0,4%**

Para a recristalização da 2,4-DNPH, foram preparados, em erlenmeyer de 250 mL, 150 mL de uma solução 25% de acetonitrila em água. Em seguida, foi colocada uma bagueta magnética no erlenmeyer, e a solução foi aquecida até fervura, quando então foi adicionada 2,4-DNPH, lentamente e sob agitação, até atingir saturação (~1,5 g). A solução foi filtrada, ainda quente, em sistema de filtração à vácuo usando filtro Whatman # 3.<sup>41</sup> Antes da filtração foram acrescentados 50 mL da mistura solvente (CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O, 25:75% v/v) num kitassato de 500 mL, o sistema de filtração foi montado com o funil coberto por um vidro de relógio e levado a aquecimento até que o funil e o filtro ficassem quentes. Após a filtração o filtrado foi transferido para béquer de 250 mL e fervido para reduzir o volume a 100 mL. Em seguida, o béquer foi coberto com *parafilm* e colocado em dessecador a vácuo contendo sílica gel, para esfriar e cristalizar a 2,4-DNPH. Os cristais de 2,4-DNPH foram filtrados usando filtro Whatman # 41. O processo de recristalização foi repetido pelo menos mais duas vezes, ou até que o nível de branco da solução impregnadora estivesse convenientemente baixo. O reagente recristalizado foi guardado em pesa-filtro envolto em papel alumínio ou frasco escuro, em dessecador à vácuo<sup>60</sup>.

A solução impregnadora ácida de 2,4-DNPH foi preparada a partir da 2,4-DNPH recristalizada a 0,4 % (m/v) em acetonitrila:H<sub>2</sub>O:H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (60:39:1%, v/v/v). A solução foi extraída por partição 2 a 3 vezes com 2 mL de CCl<sub>4</sub> ou CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> por vez, a fim de remover os compostos carbonílicos que pudessem estar presentes como contaminantes; posteriormente, foi estocada em frasco âmbar, o qual foi vedado com fita teflon para evitar contaminação pelos CC atmosféricos e mantido sob refrigeração a 4°C<sup>60</sup>.

#### **4.2.2 SÍNTESE E RECRISTALIZAÇÃO DOS PADRÕES DE 2,4-DINITROFENILHIDRAZONAS (2,4-DNPHo)**

Em erlenmeyer de 25 mL, dissolveu-se 0,4g de 2,4-DNPH em 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Acrescentou-se, então, gota a gota e sob agitação, 3 mL de água. A esta solução quente, adicionou-se lentamente e sob agitação 10 mL de etanol (grau HPLC).<sup>60</sup>

Em seguida, preparou-se uma solução de cada composto carbonílico, dissolvendo-se 0,5g em 25 mL de etanol (grau CLAE). Acrescentou-se então a solução de 2,4-DNPH recém preparada, e deixou-se a mistura reacional em repouso à temperatura ambiente, por cerca de 30 minutos. Filtrou-se cada 2,4-DNPHo e, quando necessário, fez-se a recristalização<sup>60</sup>.

A recristalização das 2,4-DNPHo foi realizada por dissolução do composto obtido em 30 mL de etanol (grau HPLC) a quente. Havendo solubilização imediata, acrescentou-se água até o ponto de turbidez, ou até que se tenha adicionado, no máximo, 5 mL. Esta solução, ainda quente, foi filtrada a vácuo com filtro Whatman # 41, o filtrado foi coberto com *parafilm* e deixado em repouso, na temperatura ambiente, até completar-se a cristalização (cerca de 12 h). As 2,4-DNPHo foram filtradas, secas em dessecador a vácuo em local escuro e finalmente, estocadas em recipientes bem fechados<sup>60</sup>.

#### **4.2.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES-PADRÃO DE 2,4-DINITROFENILHIDRAZONAS (2,4-DNPHo)**

Através da pesagem dos padrões de 2,4-DNPHo sólidas de cada composto carbonílico ou da sua solução estoque, foram preparadas soluções-padrão, cobrindo a faixa desejada de concentração, por dissolução em acetonitrila.

A faixa de concentração utilizada para o formaldeído, acetaldeído, acroleína, propanal, butanal, (E)-2-hexenal, (E)-2-heptenal e (E)-2-octenal foi de 0,1 ug mL<sup>-1</sup> a 1,4 ug mL<sup>-1</sup>, Para o hexanal, foi utilizada uma faixa entre 0,5 e 7,0 µg.mL<sup>-1</sup>.

Todas as soluções-padrão foram armazenadas sob refrigeração a 4°C em frascos de vidro âmbar.

#### **4.2.4 PREPARO DOS CARTUCHOS DE C<sub>18</sub>: IMPREGNAÇÃO COM SOLUÇÃO DE 2,4-DNPH**

Os cartuchos de sílica funcionalizados com C18 foram impregnados com 2,4-DNPH em uma capela, a qual foi limpa com acetonitrila e seca com papel toalha.

Os cartuchos, contendo 360 mg de fase C18 quimicamente ligada à sílica, foram previamente imersos em acetonitrila para limpeza externa. Com uma seringa de vidro do tipo *luer* (5 mL), ativou-se os mesmos pela passagem de 2,0 mL de acetonitrila pela fase C18. Logo após, estes foram impregnados com 2,0 mL de solução ácida de 2,4-DNPH a 0,4%(m/v). Os cartuchos impregnados foram a seguir secos através da passagem de uma corrente branda de N<sub>2</sub> puro, sendo então, vedados nas extremidades com teflon, envoltos em papel alumínio, e guardados em dessecador até o momento da amostragem.

### **4.3 OBTENÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS COMPOSTAS**

No intuito de diminuir a possível heterogeneidade natural entre óleos de diferentes marcas, foram tomados 200 mL de cinco diferentes marcas de óleo de soja refinado e 250 mL de quatro diferentes marcas de óleo de dendê refinado, os quais foram armazenados em um único frasco âmbar de 1L para cada óleo, formando assim duas amostras compostas que foram guardadas a temperatura ambiente em armário escuro. Os óleos foram comprados em diferentes mercados locais e retirados sempre do fundo das prateleiras (protegidos da luz). Amostras dos óleos eram retiradas no momento do experimento e fazia-se passar nitrogênio puro sobre a superfície do óleo contido no frasco, a fim de expulsar o oxigênio que porventura penetrasse no frasco.

### **4.4 DESCRIÇÃO DO SISTEMA DE AQUECIMENTO DOS ÓLEOS VEGETAIS**

O sistema experimental usado para conduzir este estudo está mostrado na Figura 11. O mesmo consiste de um balão de vidro de fundo redondo aquecido por uma manta, com três vias, um fluxo de entrada de ar seco purificado na vazão de 1L min<sup>-1</sup>, um agitador mecânico com haste de vidro e teflon e um termopar para registrar a temperatura. Amostras dos óleos foram

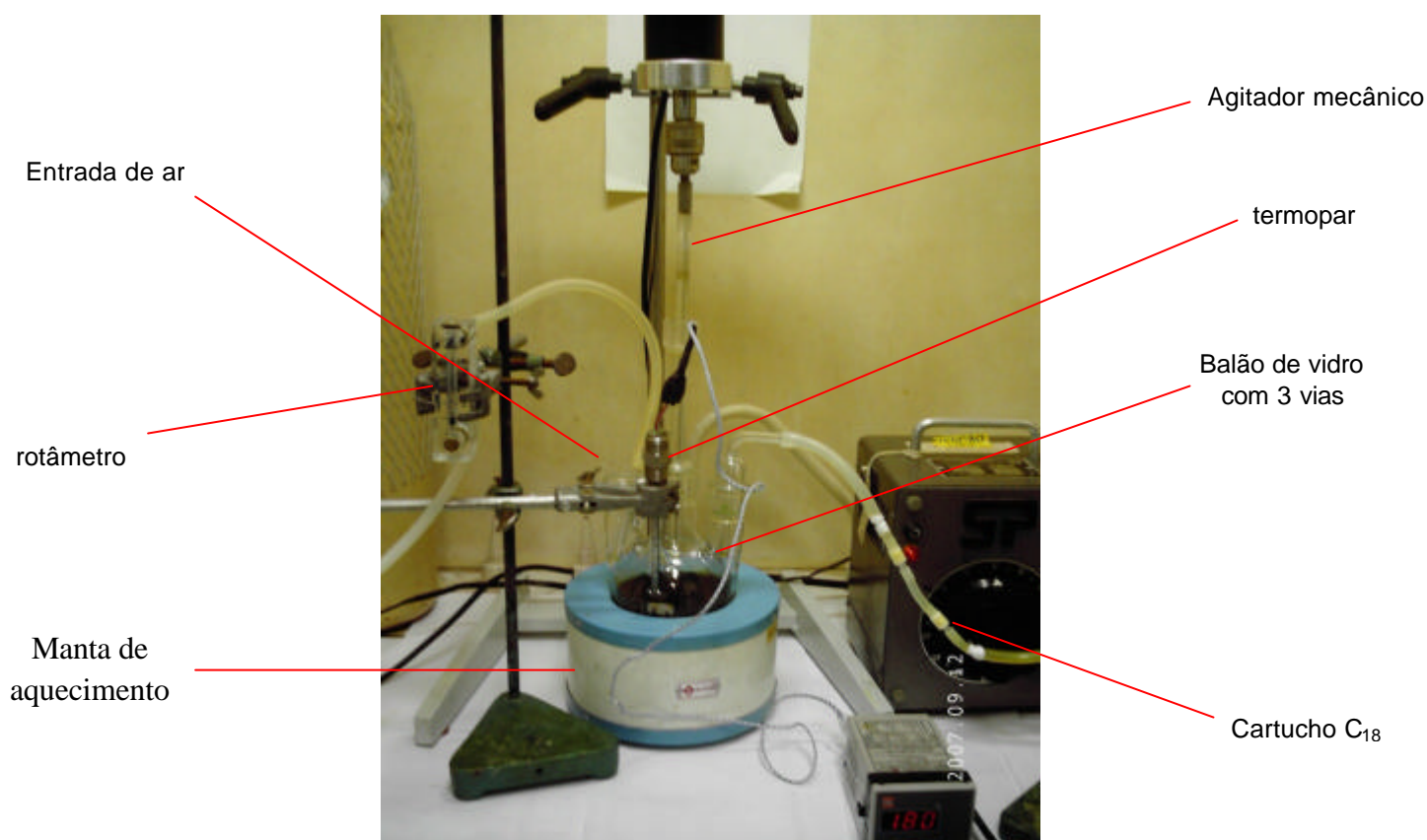
aquecidas a 180°C, que é a temperatura usual de fritura. Todos os experimentos foram realizados dentro de uma capela de exaustão.

No estudo durante aquecimento contínuo, volumes de 100 mL, 200 mL e 400 mL dos óleos de soja e dendê foram aquecidos a 180°C durante 24 horas ininterruptas. Este processo resultou nas relações S/V de 0,77 cm<sup>-1</sup>, 0,43 cm<sup>-1</sup> e 0,23 cm<sup>-1</sup>, respectivamente. Este procedimento simula a condição utilizada em indústrias de alimentos. Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

Para o cálculo da relação S/V utilizada foi feita o seguinte procedimento: media-se o perímetro da circunferência na superfície de um determinado volume de óleo; através do perímetro encontrava-se, então, o raio e, logo, a área da circunferência. Por fim, calculava-se a razão área (superfície): volume utilizado.

No estudo durante aquecimento descontínuo, 200 mL dos óleos foram aquecidos a 180°C durante 8 horas por dia, durante 3 dias, com um intervalo de 16 horas entre um aquecimento e outro. Este procedimento simula a condição de processo de fritura utilizado em restaurantes, *fast-foods* e cozinhas domésticas. Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

Não foi estudada a influência da luz no processo de fritura dos óleos.



**Figura 11.** Ilustração do sistema de aquecimento dos óleos vegetais.

#### 4.5 DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE PERÓXIDO

Alíquotas de ~ 5g dos óleos de dendê e soja foram tomadas durante os experimentos em períodos pré-estabelecidos e, a seguir, determinado o índice de peróxido. No estudo durante processo de fritura contínua foram tomadas alíquotas nos tempos 1 h, 8 h e 24 h de aquecimento, nas relações S/V iguais a  $0,23\text{cm}^{-1}$  e  $0,77\text{ cm}^{-1}$ . Já durante as frituras descontínuas, as alíquotas foram coletadas em 8h, 32 h e 56 h de aquecimento, na relação S/V igual a  $0,43\text{ cm}^{-1}$ . Nos experimentos contínuos empregando-se a razão S/V de  $0,23\text{ cm}^{-1}$ , o volume total de óleo retirado do balão não alterou a relação S/V de óleo, porém, na razão S/V  $0,77\text{ cm}^{-1}$  houve uma alteração de  $0,10\text{ cm}^{-1}$ . Durante os experimentos descontínuos, houve uma alteração de  $0,02\text{ cm}^{-1}$  na razão S/V de óleo. Foi feita também a determinação do índice de peróxido no tempo zero



(sem aquecimento). O número de determinações de IP a serem feitas foi reduzido para que não fosse alterada em demasia a relação S/V em estudo.

O índice de peróxido foi determinado segundo as normas da AOCS-Cd 8-53 e Cd 8-90 (2003). As análises foram realizadas em triplicata, utilizando material analítico apropriado e massas das amostras estabelecidas no método. A solução de tiossulfato de sódio foi padronizada com solução de permanganato de potássio, a qual foi previamente padronizada com oxalato de sódio (padrão primário) segundo Morita e Assumpção (1972)<sup>52</sup>. Os resultados foram expressos como a média de três determinações.

Alíquotas dos óleos foram pesadas e dissolvidas em 30 mL de solução de ácido acético-isooctano 3:2 v/v (AOCS Cd 8-90) ou ácido acético-clorofórmio 3:2 v/v (AOCS Cd 8-53); adicionou-se a seguir 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio, com o auxílio de uma micropipeta, 30 mL de água destilada e em seguida foi realizada a titulação do iodo formado com tiossulfato de sódio 0,01 N. Quando a solução resultante começava a perder a coloração amarelo intenso, adicionou-se 2 mL de amido, que funciona como indicador em presença de iodo. O volume gasto na titulação indicou a concentração de peróxidos em meq kg<sup>-1</sup>, através da fórmula:

$$IP = \frac{[N \times (\text{mL de tiossulfato amostra} - \text{mL de tiossulfato branco}) \times 1000]}{P}$$

Sendo:

N = Normalidade real da solução de tiossulfato de sódio

P = peso da amostra (g)

IP = índice de peróxidos (meq.kg<sup>-1</sup>)

#### **4.6 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS CARBONÍLICOS EMITIDOS PELOS ÓLEOS DE DENDÊ E SOJA DURANTE AQUECIMENTO A TEMPERATURA DE FRITURA: MÉTODO DE DERIVATIZAÇÃO COM 2,4-DNPH E ANÁLISE POR CLAE – DAD – EM**

Os compostos carbonílicos (CC) emitidos foram coletados e derivatizados em dois cartuchos de sílica conectados em série, funcionalizados com C<sub>18</sub> e impregnados com 2,4-DNPHi, a uma vazão de 0,2 L min<sup>-1</sup> durante 5

minutos. Posteriormente, os cartuchos foram eluídos e analisados em um sistema CLAE-DAD-EM (Agilent 1100/Bruker Esquire 3000).

As amostragens dos CC foram feitas conforme ilustrado na figura 11 em períodos pré-estabelecidos, durante os aquecimentos contínuos (em três relações superfície/volume diferentes) e descontínuos. Os experimentos foram feitos em triplicata.

Durante processo de fritura contínua (nas três relações S/V empregadas) foram feitas amostragens de CC em 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h, 7h e 24 h de aquecimento, além da amostragem no tempo zero (sem aquecimento).

Nos processos de fritura descontínua foram feitas amostragens de CC nos tempos zero, 1h, 8h, 25h, 32h, 49h e 56h de aquecimento.

#### **4.6.1 ELUIÇÃO DAS 2,4-DNPHo-CC DOS CARTUCHOS DE C<sub>18</sub>**

Os derivados 2,4-DNPHo-CC foram eluídos dos cartuchos por meio da passagem de 5 mL de acetonitrila, utilizando-se uma seringa de vidro do tipo *luer*. A direção de eluição foi oposta à da amostragem. O eluído foi coletado em um frasco de vidro âmbar, com tampa de teflon rosqueada, previamente limpo com acetonitrila, e analisado por CLAE-DAD.

#### **4.6.2 ANÁLISE DAS 2,4-DNPHo-CC POR CLAE-DAD-EM**

A separação das 2,4-DNPHo-CC foi realizada por CLAE, utilizou-se uma coluna C18 (XTerra MS 250 mm x 2,1 mm x 5µm; Waters, Millford) numa vazão de 0,250 mL min<sup>-1</sup>, usando como fase móvel uma mistura de ácido fórmico 0,1% v/v em água (fase A) e acetonitrila pura (fase B). O gradiente de eluição utilizado para a separação foi 40 a 100% B (30 min.); 100% B (6 min.); 40% B (4 min.); 40% B (5 min).

A detecção foi feita por absorvância a 365 nm e a identificação das hidrazonas dos CC foi feita por comparação com os tempos de retenção de padrões e em alguns casos também por seus respectivos espectros de massa, de acordo com as seguintes condições de análise no espectrômetro de massas (EM):

Fonte de ionização: ESI; Polaridade: negativa; Temperatura do gás de secagem (N<sub>2</sub>): 300°C; Vazão do gás de secagem (N<sub>2</sub>): 10.00 L.min<sup>-1</sup>; Pressão do nebulizador: 22.00 psi; Voltagem do capilar: 4000 V.

A quantificação dos compostos carbonílicos foi realizada empregando-se o método de padronização externa, sendo as curvas de calibração das 2,4-DNPHo-CC obtidas por regressão linear, registrando-se a área do pico *versus* a concentração das soluções-padrão. As curvas continham seis pontos, eram repetidas a cada 20 dias e checadas diariamente a partir da análise de um ponto intermediário da curva. Foram determinados os limites de detecção e de quantificação, os quais foram calculados através do método baseado em parâmetros da curva analítica.

#### **4.7 DETERMINAÇÃO DE OUTROS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS EMITIDOS PELOS ÓLEOS DE DENDÊ E SOJA POR EXTRAÇÃO DIRETA DO HEADSPACE E ANÁLISE POR CGAR-EM**

##### **4.7.1 MÉTODO DE EXTRAÇÃO - HEADSPACE ESTÁTICO (HS-E)**

Alíquotas de 10 mL dos óleos foram retiradas do balão durante o experimento em períodos pré-determinados e colocadas em frascos de vidro incolor (vials de 20 mL), que a seguir foram selados com um septo de silicone faceado com teflon e anel de alumínio. Os frascos foram, então, aquecidos por 40 minutos em placa aquecedora e bloco de alumínio cobrindo toda a parte de vidro do frasco, com temperatura controlada a 80°C. Após este período retirou-se, por meio de uma seringa cromatográfica tipo *gastight*, 500 µL da fase vapor e procedeu-se a análise cromatográfica dos COV por CG-EM.

No estudo durante processo de fritura contínua, alíquotas foram retiradas nos tempos 1h, 7h e 24h de aquecimento, na relação S/V igual a 0,23 cm<sup>-1</sup>. No estudo durante processo de fritura descontínua, alíquotas foram tomadas em 8h, 32h e 56h de aquecimento. A relação S/V empregada neste caso foi de 0,43 cm<sup>-1</sup>. O volume total de óleo retirado do balão não alterou a relação S/V no experimento contínuo (S/V = 0.23 cm<sup>-1</sup>), uma vez que a retirada de volume implicou, proporcionalmente, uma alteração na superfície de óleo. Durante aquecimento descontínuo, houve uma diferença de ~0,02 cm<sup>-1</sup> na

razão S/V de óleo. Foi feito também o estudo dos COV nos óleos de soja e dendê antes do processo de fritura, a fim de avaliar a modificação do perfil destes voláteis com o aquecimento.

#### 4.7.2 ANÁLISE DOS COV POR CGAR-EM

As análises foram feitas por CGAR-EM, em um sistema da Shimadzu (item 4.1.3). As separações dos COV foram feitas em uma coluna capilar de sílica fundida HP5-MS (30m x 0,25mm x 1µm de fase estacionária ligada do tipo 5% difenil : 95% dimetilsiloxano, Agilent Technology, USA). O gás de arraste (He) foi controlado eletronicamente, em uma velocidade linear de 40 cm s<sup>-1</sup>.

As injeções foram realizadas no modo *splitless*, por 0,7 seg.

As condições cromatográficas empregadas foram: temperatura inicial de 40°C (2 min.), subindo até 150°C numa razão de 5°C/min e depois até 240°C (3 min.), a razão de 8°C/min. A temperatura do injetor foi fixada em 240°C.

A detecção foi feita com um espectrômetro de massas (Shimadzu, modelo GCMS-QP 2010, Japão), utilizando a técnica de ionização por impacto de elétrons, a uma energia de 70 eV, nas seguintes condições: corte de solvente em 6 min para o óleo de dendê e 3 min para o óleo de soja; temperatura da linha de transferência - 250°C; temperatura da fonte de íons - 250°C; modo de aquisição – *scan* com velocidade de 0,5 *scan*/seg.; faixa de varredura de massas - 40-450 u.

A identificação dos COV foi feita por comparação dos espectros de massas obtidos com os espectros da biblioteca eletrônica Nist 147, contida no equipamento.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE PERÓXIDO NOS ÓLEOS

Peróxidos são os principais produtos iniciais da auto-oxidação de lipídios e podem ser medidos através de métodos fundamentados na liberação de iodo a partir de iodeto de potássio, na oxidação de ferro (II) a íons férricos ou, ainda, através de reações enzimáticas.

Neste trabalho, o IP foi determinado segundo as metodologias oficiais da AOCS – Cd 8-53 e Cd 8-90, as quais consistem em titulações iodométricas.

A tabela 5 mostra a variação do índice de peróxido nos óleos estudados, durante aquecimento contínuo a 180°C nas razões S/V de 0,23cm<sup>-1</sup> e 0,77cm<sup>-1</sup>.

**Tabela 5.** Valores médios de índices de peróxidos (meq kg<sup>-1</sup>) para os óleos de dendê e soja durante aquecimento contínuo a 180°C, em diferentes relações S/V.

Tempo (h)	S/V = 0,23 cm <sup>-1</sup>		S/V = 0,77 cm <sup>-1</sup>	
	Óleo de dendê IP (meq/kg)	Óleo de soja IP (meq/kg)	Óleo de dendê IP (meq/kg)	Óleo de soja IP (meq/kg)
0	1,44 ±0,3	2,35 ±0,5	1,44 ±0,3	2,35 ±0,5
1	7,12 ±0,8	9,60 ±1,2	8,18 ±1,4	8,15 ±0,9
7	17,27 ±2,3	3,65 ±0,5	16,56 ±2,5	3,90 ±0,5
24	11,29 ±1,6	3,25 ±0,4	14,42 ±2,0	4,05 ±0,5

Nota:

\* Os resultados constituem médias de três repetições ± desvio-padrão da triplicata.

Os índices de peróxido dos óleos, antes de serem submetidos a processo de fritura, encontram-se dentro do limite da legislação brasileira, a qual rege que o valor máximo para este índice deve ser de 10 meq/kg de óleo. No entanto, a legislação brasileira não é específica para óleos de fritura, apenas estabelece parâmetros de qualidade e identidade para os óleos vegetais.

No estudo durante aquecimento contínuo a 180°C, observou-se que em ambos os óleos, os índices de peróxido aumentam com o tempo, atingem um valor máximo e depois decrescem. Isso está de acordo com outros estudos<sup>10,12,13</sup> que relatam que a variação do nível de peróxidos ao longo do tempo ocorre de uma forma gaussiana, visto que, em temperaturas utilizadas no processo de fritura, os hidroperóxidos se decompõem rapidamente dando origem a produtos secundários de oxidação. Portanto, a velocidade de degradação dos peróxidos e a conseqüente formação de compostos secundários é maior que a velocidade de formação daqueles. Assim, um nível baixo de peróxidos não constitui uma garantia de boa estabilidade oxidativa, podendo, pelo contrário, ser sinônimo de alteração pronunciada.

Além disso, a razão S/V do óleo parece não influenciar de forma significativa sobre estes índices analíticos, visto que as alterações não foram acentuadas para as duas razões empregadas neste experimento.

Para o óleo de dendê o IP atingiu valor máximo em 7 horas de aquecimento, nas duas relações S/V estudadas, enquanto que para o óleo de soja foi atingido o valor máximo em apenas 1 hora de aquecimento, caindo em seguida para valores próximos aos iniciais.

Apenas o óleo de dendê apresentou IP superiores ao limite estabelecido pela legislação brasileira, nos tempos 7h e 24h nas duas relações S/V estudadas. Por outro lado, o óleo de soja manteve o seu índice de peróxido abaixo do limite permitido em todo o processo de fritura em ambas as relações S/V.

A tabela 6 mostra a variação do índice de peróxido nos óleos estudados durante aquecimento descontínuo a 180°C, na relação S/V igual a 0,43 cm<sup>-1</sup>.

**Tabela 6.** Valores médios de índices de peróxidos (meq kg<sup>-1</sup>) para os óleos de dendê e soja durante aquecimento descontínuo a 180°C, na relação S/V igual a 0,43 cm<sup>-1</sup>.

Tempo (h)	Óleo de dendê	Óleo de soja
	IP (meq/kg)	IP (meq/kg)
0	1,44 ±0,3	2,35 ±0,5
8	15,96 ±2,4	3,04 ±0,5
32	n.d	15,77 ±1,9
56	14,86 ±1,8	14,19 ±1,7

Nota:

\* Os resultados constituem médias de três repetições ± desvio-padrão da triplicata.

\*\* n.d = não-detectado.

No estudo durante aquecimento descontínuo, observou-se que para o óleo de dendê o limite estabelecido pela legislação brasileira havia sido ultrapassado desde o 1° dia de experimento, enquanto que para o óleo de soja o limite foi ultrapassado a partir do 2° dia. É importante frisar que valores de IP abaixo do limite estabelecido pela legislação não são indicativos de baixos níveis de oxidação do óleo, uma vez que os peróxidos sofrem rápida decomposição nas temperaturas utilizadas em frituras, ocorrendo a formação de produtos secundários de oxidação.

Embora tenham sido feitas titulações iodométricas a fim de se determinar o IP para óleo de dendê, no 2° dia de experimento no processo de fritura descontínua, este índice não pôde ser verificado devido a dificuldades na determinação do ponto final da titulação. Isso pode ser justificado devido à alta viscosidade do óleo de dendê após ser submetido a longos períodos de aquecimento.

Este ensaio apresenta algumas desvantagens, tais como a susceptibilidade à interferência do oxigênio molecular, a sensibilidade à luz e a presença do efeito “*threshold*”, abaixo do qual os níveis de hidroperóxidos não podem ser medidos, refletindo-se em baixa sensibilidade do método, necessidade de grandes quantidades de lipídios e dificuldades na determinação do ponto final da titulação.

Por um lado, a absorção do iodo pela insaturação dos ácidos graxos pode conduzir a um menor valor. Por outro, a oxidação do iodeto de potássio pelo oxigênio presente na solução a ser titulada pode gerar uma falsa leitura com valor elevado de peróxido. Há ainda outras fontes de erro, entre elas a constituição e a reatividade do peróxido titulado e o fato do ácido acético não proporcionar íons  $H^+$  suficientes para a reação se completar.

Além disso, o índice de peróxido não distingue entre os vários ácidos insaturados que sofreram oxidação nem fornece informações sobre os produtos de oxidação secundária.

Ainda assim, a despeito das limitações que este índice analítico apresenta, ele ainda é muito utilizado na avaliação do grau oxidativo de óleos e gorduras, devido à sua simplicidade e rapidez. Porém, deve-se frisar que este índice não é adequado para classificar um óleo como apropriado ou não, uma vez que baixos níveis de IP podem estar relacionados a altas taxas de emissão de CC.

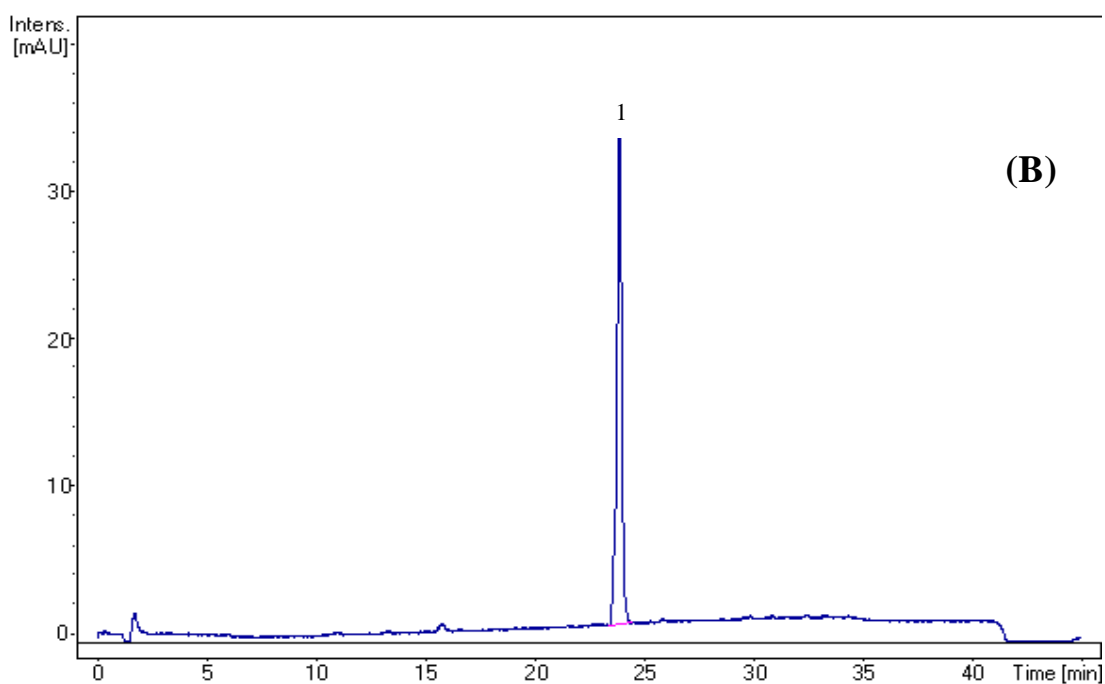
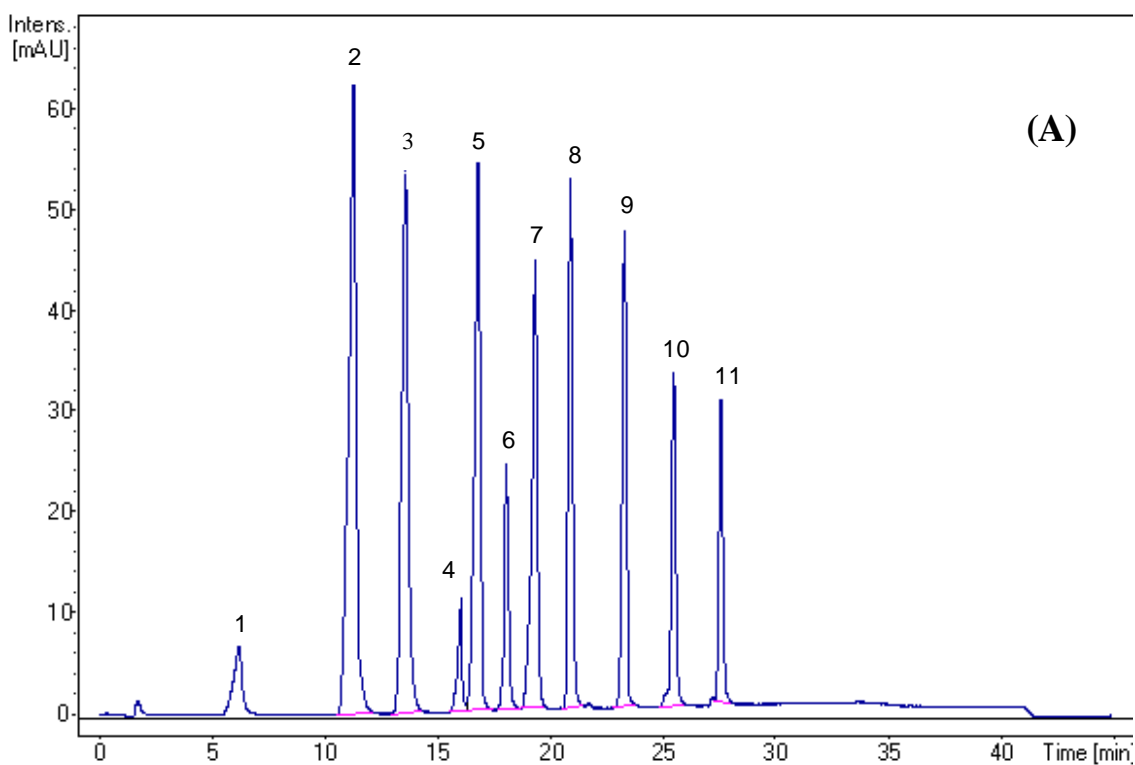
## **5.2 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS CARBONÍLICOS EMITIDOS DURANTE AQUECIMENTO DOS ÓLEOS DE DENDÊ E SOJA**

Para a determinação das taxas de emissão CC pelos óleos de dendê e soja, foi empregada a 2,4-DNPH como reagente derivatizante, e procedeu-se a análise dos CC por CLAE em fase reversa com detecção por absorção no UV.

Com o uso de um sistema de eluição com gradiente de solventes foi possível a separação, de modo eficiente, das 2,4-DNPHo de interesse. Deve-se destacar a boa separação entre as 2,4-DNPHo de acroleína, de propanal e propanona, a qual é relativamente difícil, o que torna-se um problema na quantificação da acroleína, composto de grande interesse neste estudo por ser de alta toxicidade e ser um dos produtos da degradação de óleos vegetais.

Um cromatograma típico nessa condição de separação a partir de uma solução padrão de 2,4-DNPHo, é apresentado na Figura 12.





**Figura 12.** Cromatogramas CLAE-DAD de soluções-padrão de CC-2,4-DNPHo  $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Coluna cromatográfica: C18 (XTerra MS  $5\mu\text{m}$ ;  $2,1 \times 250 \text{ mm}$ ; Waters), vazão de  $0,250 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , fase móvel: solução de ácido fórmico  $0,1\% \text{ v/v}$  em água (fase A) e acetonitrila pura (fase B), gradiente de eluição: 40 a 100% B (30 min.); 100% B (6 min.); 40% B (4 min.); 40% B (5 min). Identificação dos picos: **(A)**: 1. 2,4-DNPH; 2. formaldeído; 3. acetaldeído; 4. acroleína; 5. propanal; 6. salicilaldeído; 7. butanal; 8. (E)-2-pentenal; 9. (E)-2-hexenal; 10. (E)-2-heptenal; 11. (E)-2-octenal; **(B)**: 1. hexanal.

## Curvas analíticas

As faixas de linearidade das curvas analíticas foram determinadas avaliando-se a proporcionalidade entre a resposta do detector (área sob o pico cromatográfico) e a concentração dos padrões das 2,4-DNPHo, em acetonitrila, utilizando-se 6 pontos. O coeficiente de correlação ( $R^2$ ), de cada reta esteve acima de 0,990, possibilitando a quantificação dos compostos pelo método do padrão externo (tabela 7). Foram feitas curvas analíticas a cada 20 dias e a validade destas foi checada a cada análise a partir da injeção dos padrões em um dos pontos da curva. Os padrões estavam na faixa entre 0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  e 1,4  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , exceto o hexanal, para o qual foi utilizada uma faixa entre 0,5 e 7,0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Na maioria das vezes, foi preciso diluir as amostras para que a acroleína ficasse dentro da faixa de concentração empregada.

**Tabela 7.** Curvas analíticas, tempos de retenção, limites de detecção e de quantificação do método CLAE/UV

Composto carbonílico	Tr (min)	Curva analítica*	$R^2$	LD ( $\text{ng mL}^{-1}$ )	LQ ( $\text{ng mL}^{-1}$ )
Formaldeído	10,7	$y=2695x - 35,973$	0,9981	44,5	148,2
Acetaldeído	13,1	$y=2124,2x - 0,4366$	0,9999	9,7	32,3
Acroleína	15,4	$y=298,73x - 2,1852$	0,9991	31,4	104,6
Propanal	16,3	$y=1836,4x - 48,068$	0,9949	73,6	245,2
Butanal	18,9	$y=1397,4x - 3,7145$	0,9995	23,8	79,2
(E)-2-hexenal	23,0	$y=1195,5x - 6,3397$	0,9996	20,8	69,4
Hexanal	23,7	$y=1104,2x - 113,32$	0,9991	174,5	581,7
(E)-2-heptenal	25,1	$y= 751,72x - 2,9891$	0,9989	33,6	112,0
(E)-2-octenal	27,1	$y= 667,2x - 3,5034$	0,9999	8,7	29,0

\* Obtidas pela equação da reta, onde:  $y$ =área do pico cromatográfico;  $x$ =concentração em  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;  $R^2$ =coeficiente de correlação.

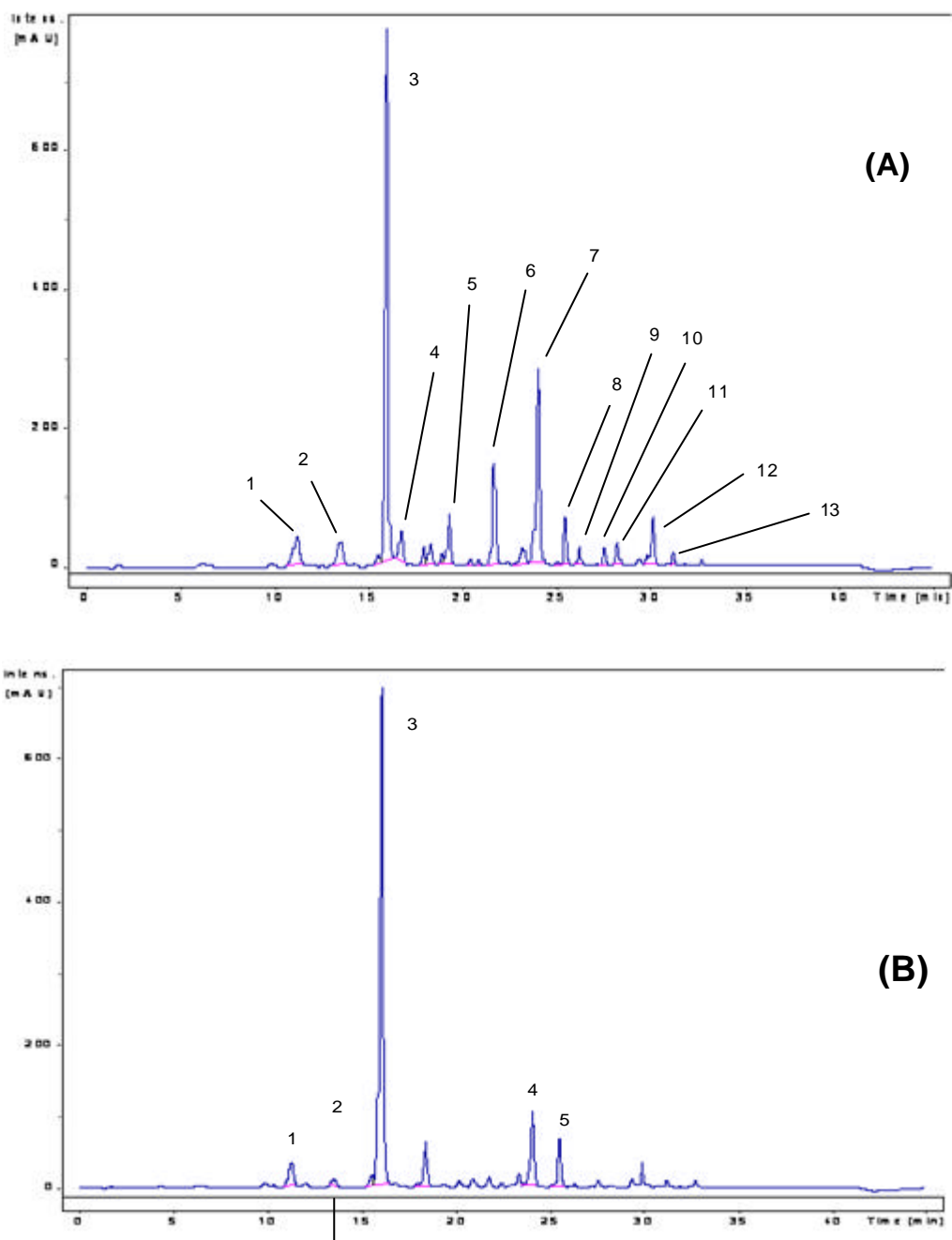
A confirmação da identidade das 2,4-DNPHo dos CC de interesse foi feita por comparação de tempos de retenção e em alguns casos por espectrometria de massas no modo de ionização negativa, através da confirmação pelo íon  $[M-1]$ .

### 5.2.1 DETERMINAÇÃO DAS TAXAS DE EMISSÃO DE COMPOSTOS CARBONÍLICOS DURANTE PROCESSO CONTÍNUO DE AQUECIMENTO

Os CC identificados como sendo os emitidos significativamente pelo óleo de dendê foram formaldeído; acetaldeído; acroleína; propanal; butanal; pentanal; hexanal; (E)-2-heptenal; heptanal; (E)-2-octenal; octanal; nonanal e (E)-2-decenal, enquanto para o óleo de soja foram formaldeído; acetaldeído; acroleína; hexanal e (E)-2-heptenal. Destes, foram quantificados formaldeído, acetaldeído, acroleína, propanal, butanal, hexanal; (E)-2-heptenal e (E)-2-octenal.

Estes compostos foram identificados logo na primeira hora de aquecimento contínuo, e tiveram suas taxas de emissão variando no decorrer do tempo.

A Figura 13 apresenta exemplos de cromatogramas CLAE-DAD, obtidos em amostras após 1 hora de aquecimento contínuo, para os óleos de dendê e soja, respectivamente, na relação S/V igual a  $0,23 \text{ cm}^{-1}$ .

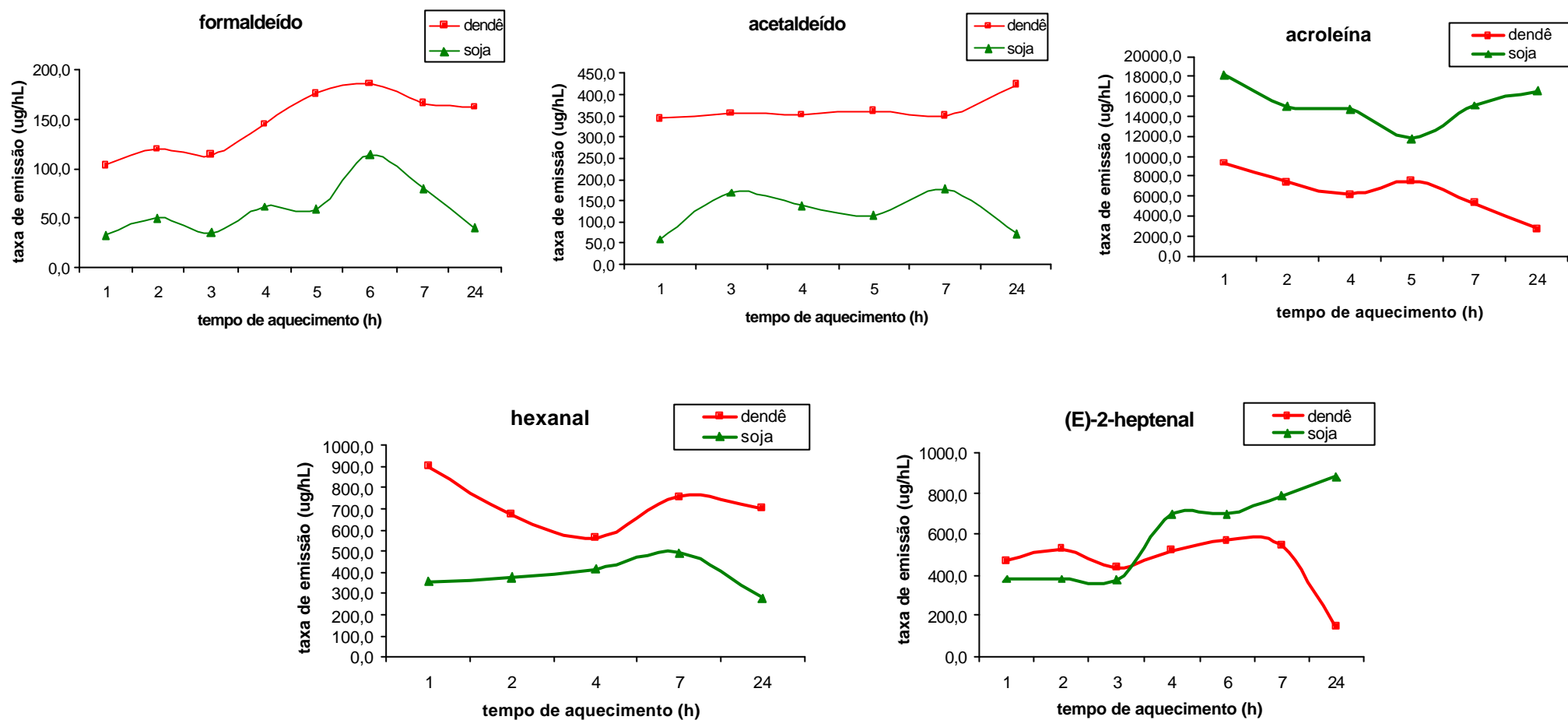


**Figura 13.** Cromatogramas CLAE-DAD (365 nm) de hidrazonas de CC, referentes a amostras do 1° cartucho após 1 h de aquecimento contínuo para os óleos de dendê (A) e soja (B), na relação  $S/V=0,23 \text{ cm}^{-1}$ .

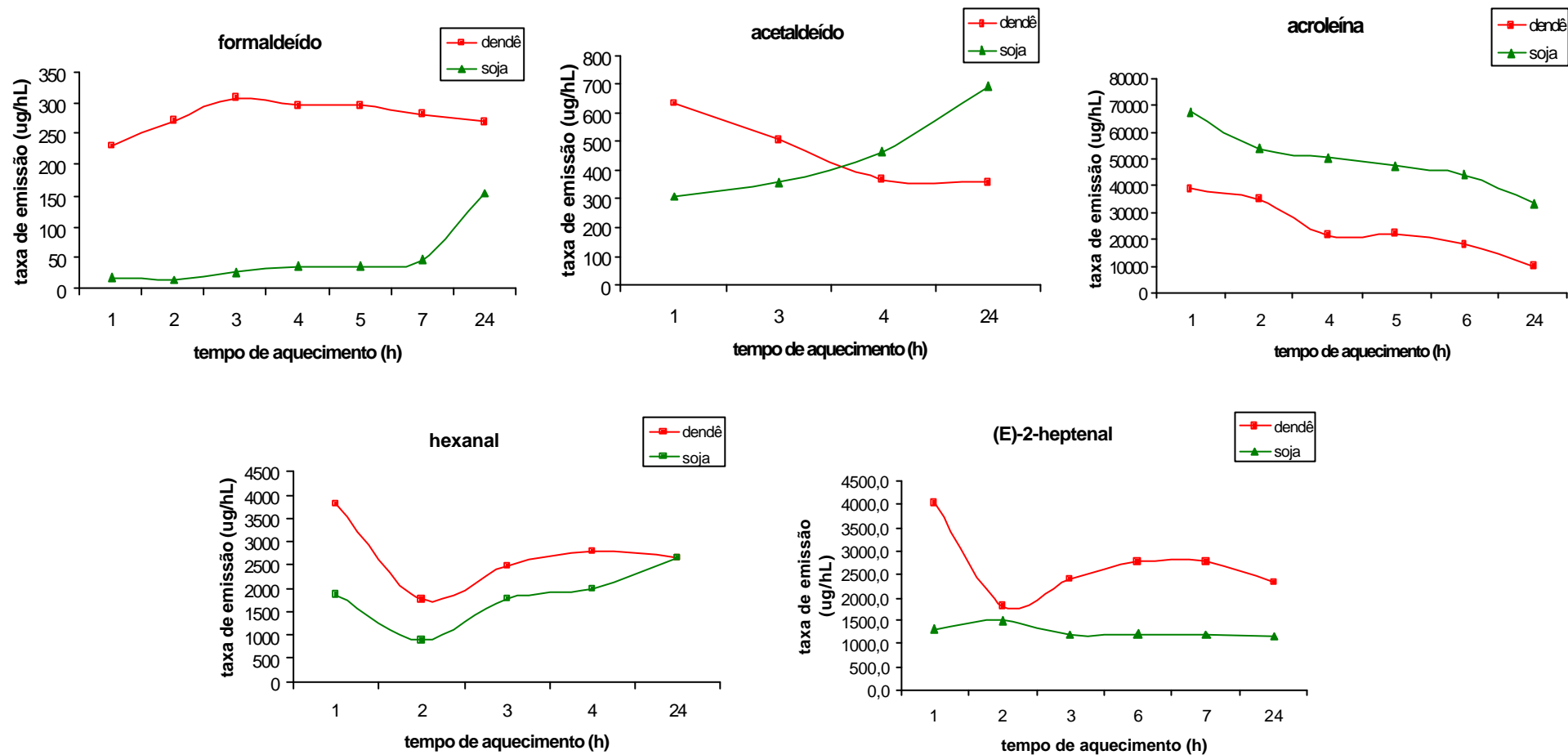
Coluna cromatográfica: C18 (XTerra MS 5 $\mu\text{m}$ ; 2,1 x 250 mm; Waters), vazão de 0,250  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , fase móvel: mistura de ácido fórmico 0,1% v/v em água (fase A) e acetonitrila pura (fase B), gradiente de eluição: 40 a 100% B (30 min.); 100% B (6 min.); 40% B (4 min.); 40% B (5 min). Identificação dos picos: **(A)** 1. formaldeído; 2. acetaldeído; 3. acroleína; 4. propanal; 5. butanal; 6. pentanal; 7. hexanal; 8. (E)-2-heptenal; 9. heptanal; 10. (E)-2-octenal; 11. octanal; 12. nonanal; 13. (E)-2-decenal; **(B)** 1. formaldeído; 2. acetaldeído; 3. acroleína; 4. hexanal; 5. (E)-2-heptenal.

As tabelas 1 a 6 do Anexo A mostram as taxas de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ ) dos principais CC emitidos pelos óleos de dendê e soja, durante as 24 horas de aquecimento contínuo a  $180^{\circ}\text{C}$ , nas três relações S/V estudadas:  $0,23 \text{ cm}^{-1}$ ;  $0,43 \text{ cm}^{-1}$  e  $0,77 \text{ cm}^{-1}$ . Os valores referem-se à média de três determinações. A taxa de emissão é a quantidade em que um determinado CC é emitido por unidade de tempo de aquecimento (h) em uma temperatura específica e por unidade de volume (L) ou massa (g) de óleo usado.

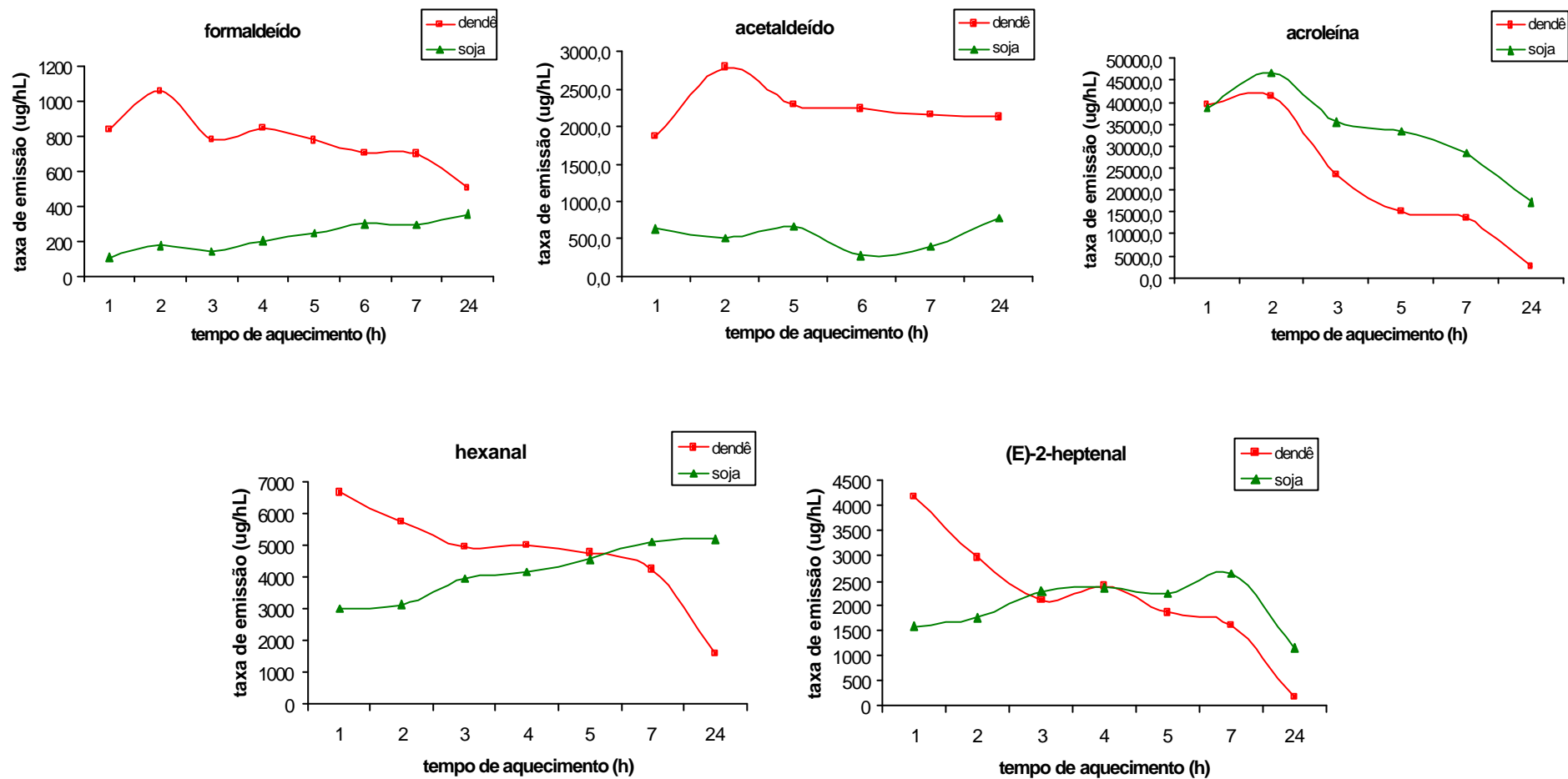
As Figuras 14 a 16 mostram os perfis de emissão determinados para os compostos carbonílicos emitidos por ambos os óleos estudados, nas três relações S/V estudadas ( $0,23 \text{ cm}^{-1}$ ;  $0,43 \text{ cm}^{-1}$ ;  $0,77 \text{ cm}^{-1}$ ), em função do tempo de aquecimento contínuo a  $180^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, a Figura 17 mostra as taxas médias de emissão dos principais CC emitidos por cada óleo.



**Figura 14.** Taxas de emissão de formaldeído, acetaldeído, acroleína, hexanal e (E)-2-heptenal para os óleos de dendê e soja em função do tempo de aquecimento contínuo a 180°C na relação S/V igual a 0,23 cm<sup>-1</sup>.

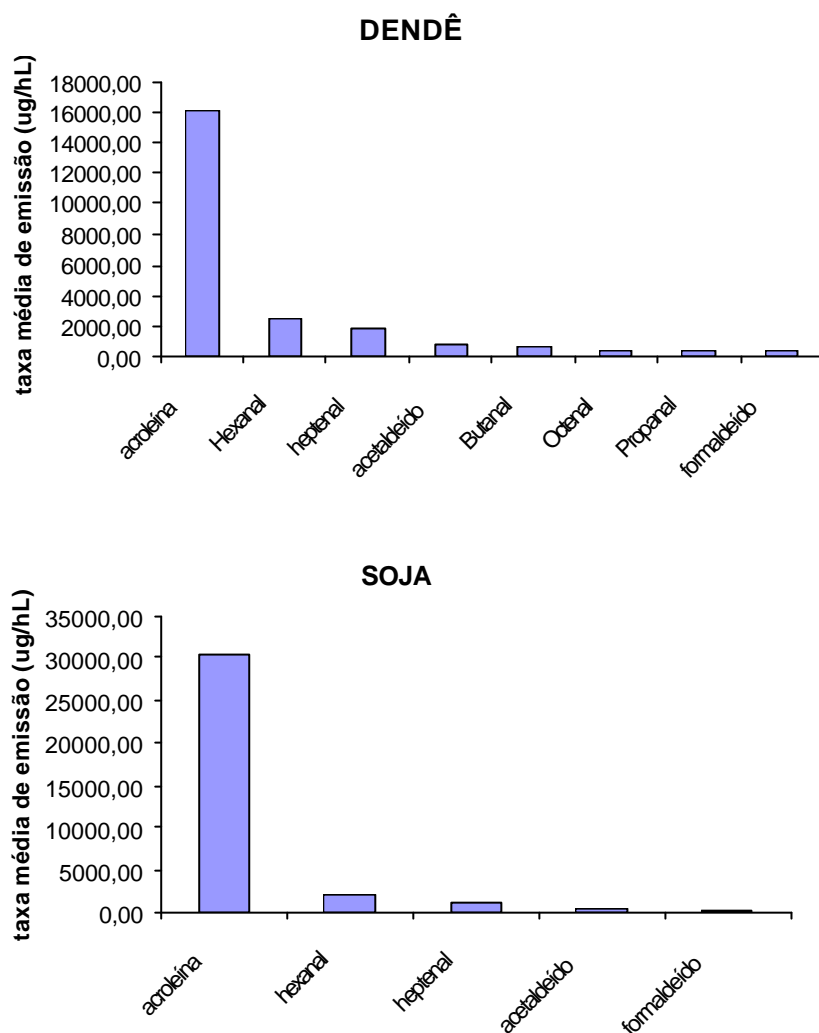


**Figura 15.** Taxas de emissão de formaldeído, acetaldeído, acroleína, hexanal e (E)-2-heptenal para os óleos de dendê e soja em função do tempo de aquecimento contínuo a 180°C na relação S/V igual a 0,43 cm<sup>-1</sup>.



**Figura 16.** Taxas de emissão de formaldeído, acetaldeído, acroleína, hexanal e (E)-2-heptenal para os óleos de dendê e soja em função do tempo de aquecimento contínuo a 180°C na relação S/V igual a 0,77 cm<sup>-1</sup>.





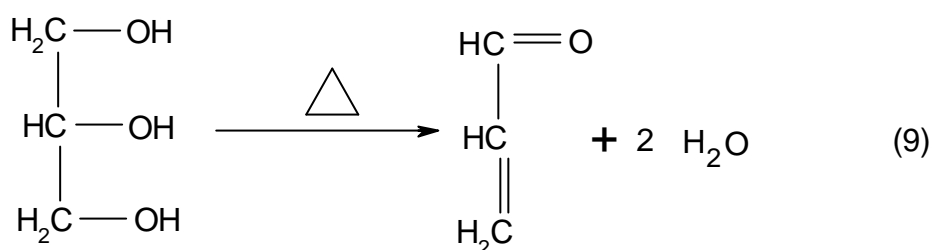
**Figura 17.** Taxas médias de emissão dos óleos de dendê e soja (aquecimento contínuo).

Dentre os CC quantificados, a acroleína foi o composto que apresentou as maiores taxas de emissão nos dois óleos, nas três relações S/V estudadas, seguido de hexanal e (E)-2-heptenal (tabelas 1 a 6 do Anexo A e figuras 14 a 17). Além disso, as taxas de emissão para a acroleína foram maiores no óleo de soja quando comparadas ao óleo de dendê (tabelas 1 a 6 do Anexo A e figuras 14 a 17).

A acroleína (propenal) é um aldeído de elevada toxicidade, sendo a sua principal via de ação, o ataque às mucosas do trato respiratório superior. Este aldeído tem sido associado a várias doenças, tais como aterosclerose, carcinogênese e doença de Alzheimer<sup>27</sup>. A citotoxicidade da acroleína é atribuída à sua reatividade com grupos sulfidrílica em proteínas e glutatona,

levando à interferência no metabolismo celular e modificando proteínas devido à cruzamentos inter e intramoleculares. Por essa razão, a acroleína é considerada um poluente prioritário de acordo com a USEPA (*U. S. Environmental Protection Agency*), e sua determinação em gêneros alimentícios, amostras biológicas e fontes de emissão de gases é uma das maiores preocupações sanitárias e ambientais atuais<sup>27</sup>.

A acroleína pode ser formada via termólise do glicerol, proveniente da hidrólise dos acilgliceróis, em altas temperaturas (reação 9).



As Figuras 14 a 16 mostram que, para os dois óleos nas três relações S/V estudadas, a emissão de acroleína aumenta durante a primeira hora de aquecimento e depois tende a diminuir. Isso ocorre possivelmente por ser este aldeído bastante reativo e facilmente polimerizado em altas temperaturas. Em um estudo anterior (Fullana et al., 2004)<sup>7</sup>, um resultado semelhante foi encontrado com o óleo de canola, porém em temperaturas superiores a 180°C. O resultado é ligeiramente alterado na S/V 0,77 cm<sup>-1</sup> onde o aumento das emissões tende a se estender até a segunda hora de aquecimento.

Considerando a diferença na constituição lipídica destes óleos, e, logo, na composição de ácidos graxos dos mesmos, nota-se que o óleo de soja é mais rico em AGPI, especialmente ácido linolênico (tabela 8).

**Tabela 8.** Composição média de ácidos graxos principais nos óleos de dendê e soja (g/100g)

Óleo	Palmítico (16:0)	Palmitoléico (16:1)	Estearíco (18:0)	Oléico (18:1)	Linoléico (18:2)	Linolênico (18:3)
Dendê	35,0 – 47,0	< 0,6	3,5 – 6,5	36,0 – 47,0	6,5 – 15,0	< 0,5
Soja	7,0 – 14,0	< 0,5	1,4 – 5,5	19,0 – 30,0	44,0 – 62,0	4,0 – 11,0

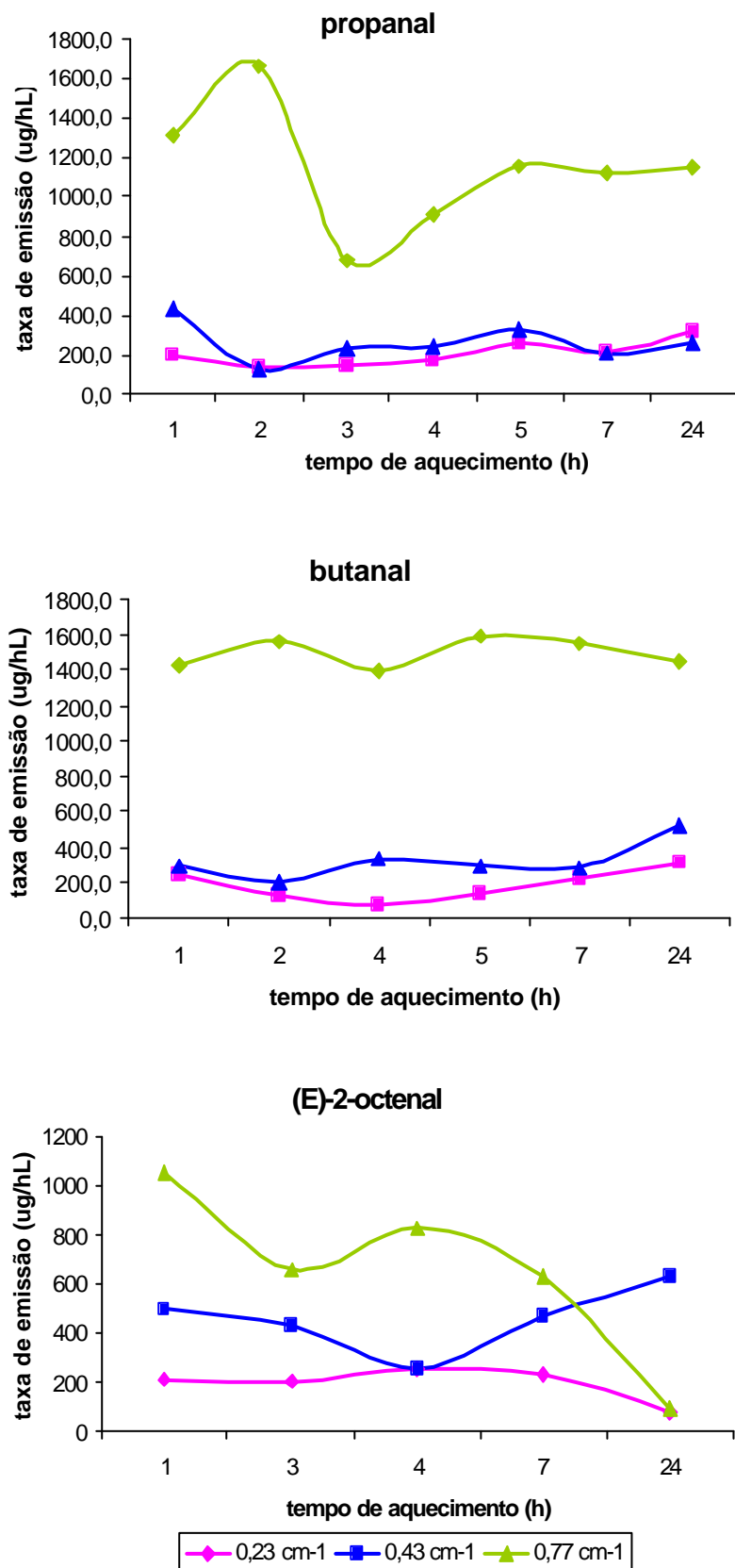
Fonte: ANVISA, 1999<sup>4</sup>

Um estudo (Fullana et al, 2004)<sup>7</sup> utilizando os óleos de oliva extra-virgem, oliva e canola, constatou que este último foi o que apresentou a maior taxa de emissão de acroleína a 180°C. O óleo de canola é, em comparação ao óleo de oliva, mais rico em AGPI, tais como o linoléico e o linolênico. Isto sugere que pode haver uma rota de formação de acroleína a partir desses ácidos graxos. Quando comparado ao ácido oléico, ácido linolênico é 77 vezes mais susceptível à auto-oxidação<sup>7</sup>.

Para os outros CC, ou seja, formaldeído, acetaldeído, hexanal e (E)-2-heptenal, observou-se, de uma maneira geral, taxas de emissão maiores para o óleo de dendê do que para o óleo de soja, nas três relações S/V estudadas.

Uma possível razão para este resultado é que os carotenóides, tocoferóis e tocotrienóis presentes no óleo de dendê, podem também se degradar juntamente aos ácidos graxos dos óleos, dando origem a CC, tais como os mostrados nas figuras acima. Além disso, o óleo de soja refinado apresenta antioxidantes sintéticos, como terc-butil hidroquinona (TBHQ) e ácido cítrico, que podem contribuir com a maior estabilidade oxidativa deste óleo.

A Figura 18 mostra os perfis de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ ) em função do tempo de aquecimento contínuo (h) a 180°C, para os CC detectados somente no óleo de dendê.



**Figura 18.** Taxas de emissão de propanal, butanal e (E)-2-octenal para o óleo de dendê em função do tempo de aquecimento contínuo a 180°C nas relações S/V iguais a 0,23; 0,43 e 0,77 cm<sup>-1</sup>.

Em um estudo anterior <sup>7</sup> utilizando os óleos de oliva extra-virgem, oliva e canola em processos de fritura, foram identificados e quantificados diversos CC nos vapores dos óleos, dentre eles aldeídos identificados também no presente trabalho. Por exemplo, a taxa de emissão média de acroleína, na temperatura de 180°C para o óleo de canola foi de 52,6 mg.h<sup>-1</sup>L<sup>-1</sup>, para o óleo de oliva extra-virgem 9,3 mg.h<sup>-1</sup>L<sup>-1</sup> e para o óleo de oliva regular 9,6 mg.h<sup>-1</sup>L<sup>-1</sup>. Observa-se que, fazendo-se as devidas conversões de unidades, as taxas de emissão encontram-se na mesma ordem de grandeza neste estudo.

Os valores resumidos das taxas de emissão de formaldeído, acetaldeído e acroleína para os dois óleos estudados, em função da relação S/V, em processo contínuo de aquecimento a 180°C são mostrados nas tabelas 9, 10 e 11.

**Tabela 9.** Valores mínimos, médios e máximos das taxas de emissão de formaldeído para os óleos de dendê e soja, em processo contínuo de aquecimento a 180°C

Taxa de emissão (µg.h <sup>-1</sup> .L <sup>-1</sup> )	mínima		média		máxima	
	dendê	soja	dendê	soja	dendê	soja
0,23	103,3	72,3	146,7	129,7	186,0	191,3
0,43	230,4	13,5	273,8	45,8	307,8	152,9
0,77	405,9	147,4	582,8	311,1	695,7	486,6

**Tabela 10.** Valores mínimos, médios e máximos das taxas de emissão de acetaldeído para os óleos de dendê e soja, em processo contínuo de aquecimento a 180°C

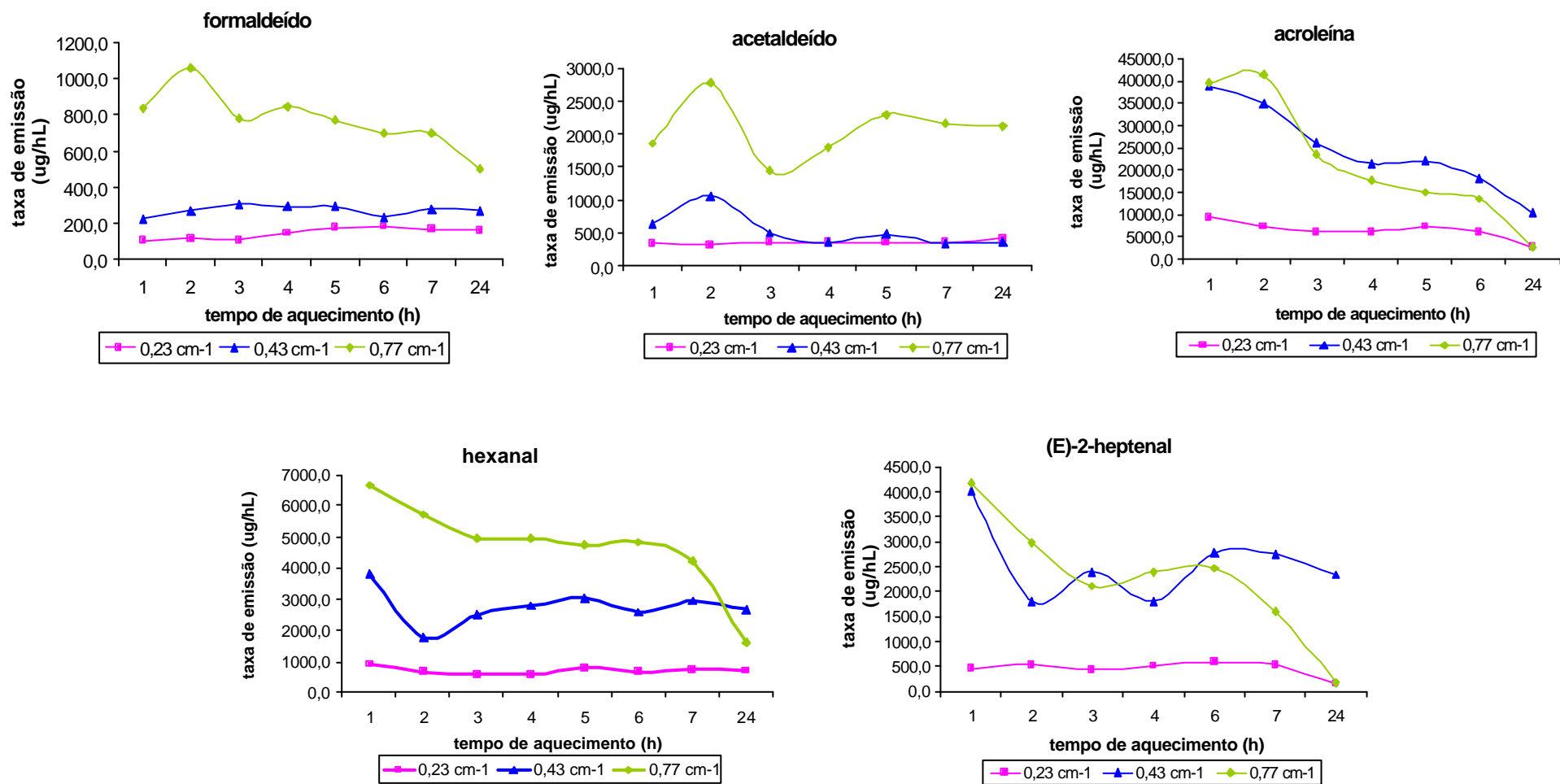
Taxa de emissão (µg.h <sup>-1</sup> .L <sup>-1</sup> )	mínima		média		máxima	
	dendê	soja	dendê	soja	dendê	soja
0,23	218,4	72,7	415,7	278,3	629,9	527,4
0,43	333,1	59,3	578,1	361,2	1068,1	692,4
0,77	1347,8	364,8	1873,4	589,3	2403,1	944,0

**Tabela 11.** Valores mínimos, médios e máximos das taxas de emissão de acroleína para os óleos de dendê e soja, em processo contínuo de aquecimento a 180°C

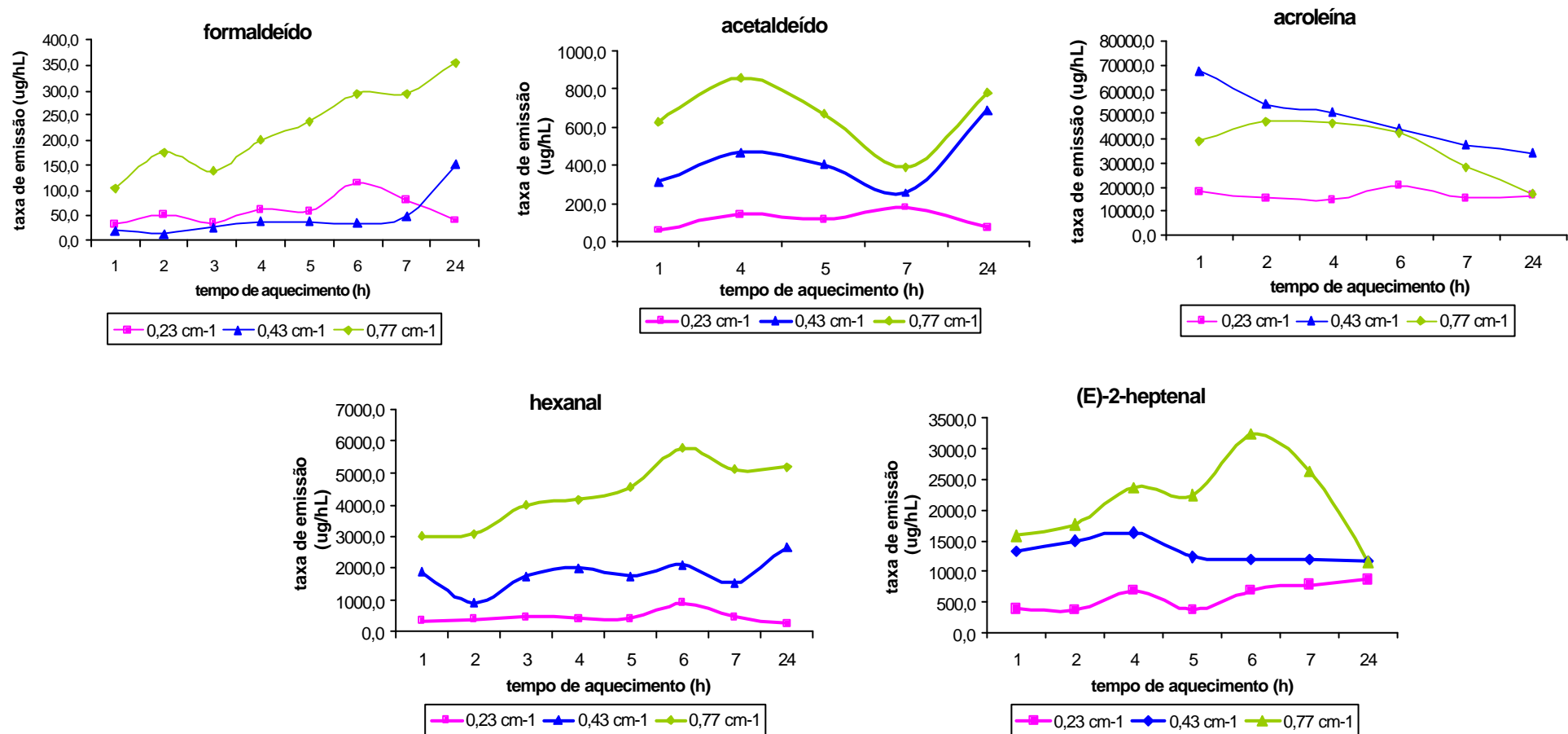
Taxa de emissão ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ ) S/V ( $\text{cm}^{-1}$ )	mínima		média		máxima	
	dendê	soja	dendê	soja	dendê	soja
0,23	3421,4	11837,6	6036,0	17398,7	9043,3	23999,8
0,43	10214,7	33680,7	24738,3	49448,3	38781,8	67371,6
0,77	2580,0	17166,4	23476,3	35999,6	46158,5	46646,6

### 5.2.1.1 ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA RELAÇÃO SUPERFÍCIE / VOLUME DE ÓLEO NAS TAXAS DE EMISSÃO DOS COMPOSTOS CARBONÍLICOS

As Figuras 19 e 20 mostram o perfil de emissão dos CC emitidos pelos óleos de dendê e soja, comparando-se as três relações S/V empregadas, 0,23; 0,43 e 0,77  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 19.** Taxas de emissão dos CC para o óleo de dendê durante aquecimento contínuo a 180°C, nas três relações S/V estudadas, 0,23; 0,43 e 0,77 cm<sup>-1</sup>.



**Figura 20.** Taxas de emissão dos CC para o óleo de soja durante aquecimento contínuo a 180°C, nas três relações S/V estudadas, 0,23; 0,43 e 0,77 cm<sup>-1</sup>.



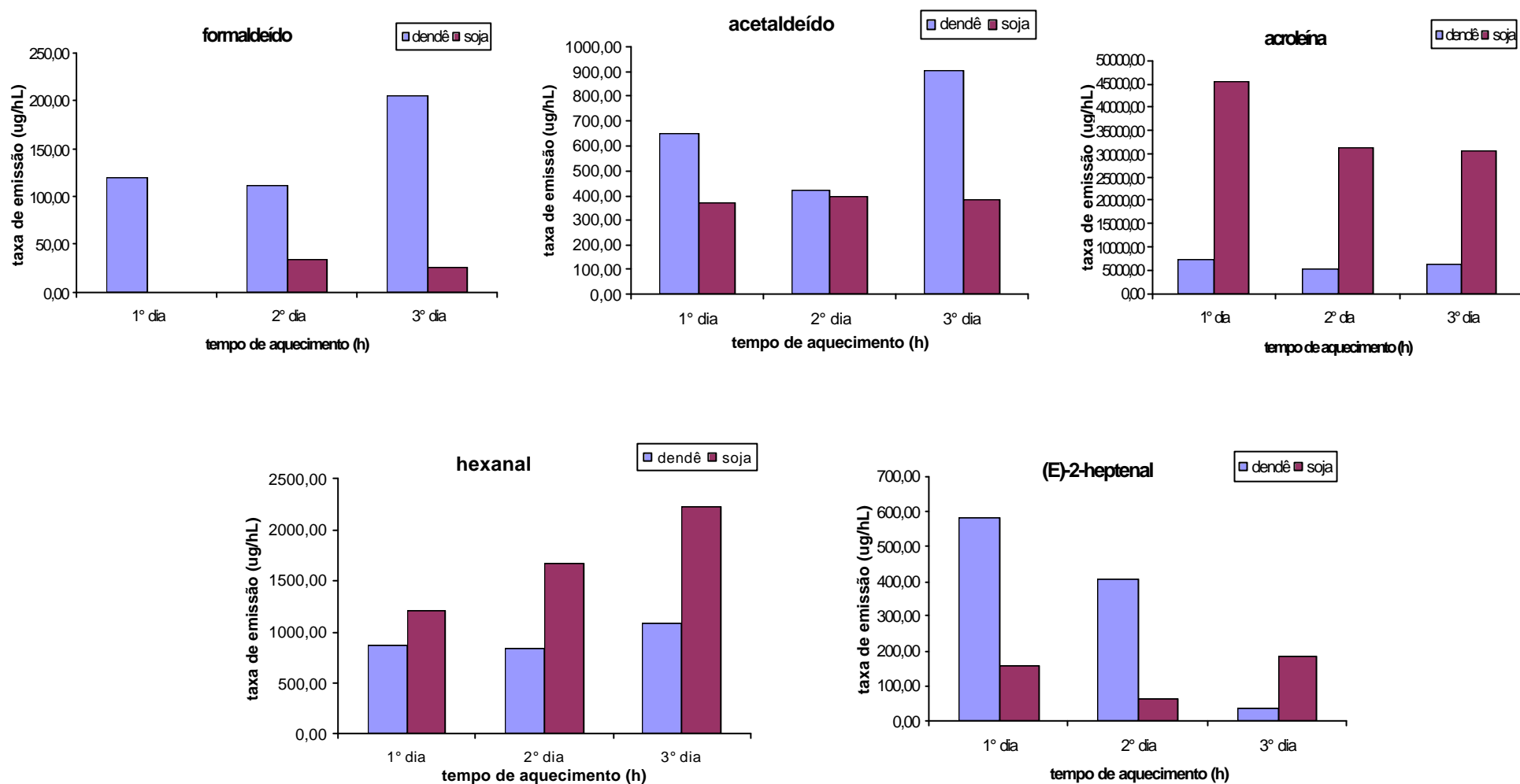
Conforme mostram as figuras 19 e 20, as taxas de emissão de CC estão, em geral, diretamente relacionadas à relação superfície/volume de óleo utilizado no processo de fritura. Logo, a intensidade com que as reações de degradação dos óleos vegetais ocorre, depende não só da temperatura e do tempo de aquecimento a que o óleo é submetido no processo de fritura, mas também da relação superfície:volume (S/V) de óleo empregado. Assim, quanto maior a relação S/V, maior a taxa de degradação do óleo. Isto acontece porque o desenvolvimento das reações oxidativas está diretamente relacionado à superfície de óleo em contato com o ar.

Nota-se também que a variação na taxa de emissão não é tão significativa ao se passar da razão S/V 0,23 para a 0,43, na maioria dos CC determinados. Entretanto, ao se mudar a razão S/V para 0,77 o aumento é mais pronunciado, sugerindo que a relação entre taxa de emissão e razão S/V possa ser não-linear. Com a acroleína e o (E)-2-heptenal, por outro lado, o comportamento é diferente; nas razões S/V de 0,77 e 0,43 as taxas de emissão se aproximam ou mesmo sofrem inversão, e ambas são superiores às taxas de emissão na razão 0,23  $\text{cm}^{-1}$ .

Uma possível razão para este comportamento seria a dupla ligação presente nos dois CC insaturados, participando de reações com o oxigênio, consumindo assim estes compostos e competindo com o processo de formação dos mesmos. Uma vez que as reações oxidativas aumentam com o aumento da razão S/V, um aumento na superfície do óleo em contato com o ar, faz com que as curvas nas razões S/V de 0,43 e 0,77  $\text{cm}^{-1}$ , se aproximem.

### **5.2.2 DETERMINAÇÃO DAS TAXAS DE EMISSÃO DE COMPOSTOS CARBONÍLICOS DURANTE PROCESSO DESCONTÍNUO DE AQUECIMENTO**

Foi realizado o estudo das taxas de emissão de compostos carbonílicos durante aquecimento descontínuo a 180°C dos óleos de dendê e soja, empregando-se em todos os casos a relação S/V de 0,43  $\text{cm}^{-1}$ . As tabelas do Anexo B mostram os valores determinados (média de três experimentos) para os óleos de dendê e soja e a figura 21 mostra o perfil de emissão para os CC emitidos por ambos os óleos, determinado em 1h, 25h e 49h de aquecimento.



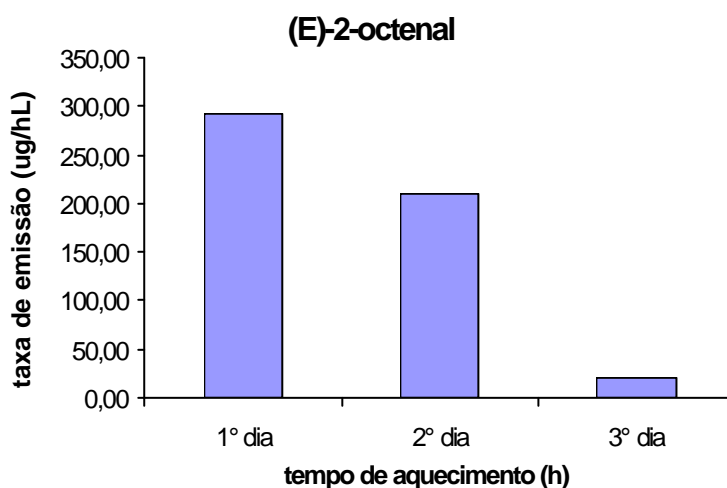
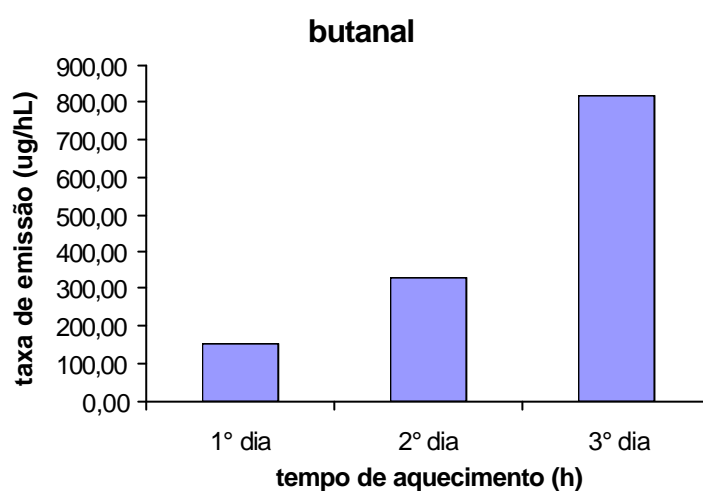
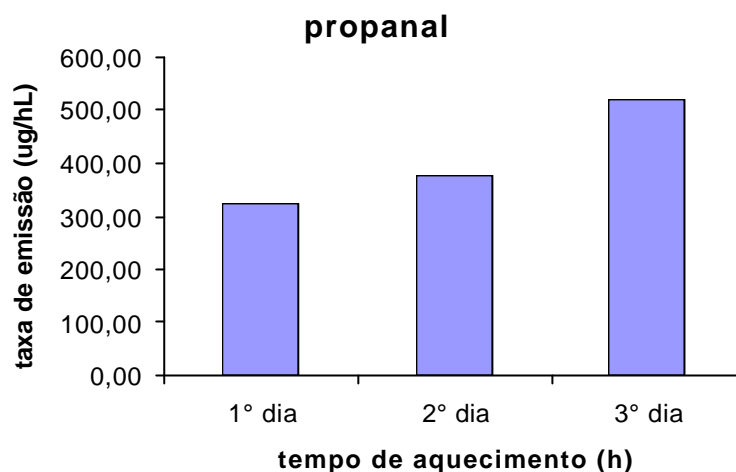
**Figura 21.** Taxas de emissão dos CC para os óleos de dendê e soja durante aquecimento descontínuo a 180°C, na relação S/V = 0,43 cm<sup>-1</sup>.

\* Os valores das taxas de emissão referem-se ao período de 1h, 25h e 49h de aquecimento dos óleos.

Os resultados para formaldeído, acetaldeído, acroleína e (E)-2-heptenal repetiram o padrão observado nos experimentos contínuos. Para o hexanal, por outro lado, o óleo de soja passou a ser o maior emissor em aquecimento descontínuo, enquanto em aquecimento contínuo predominava o óleo de dendê.

Durante o aquecimento descontínuo, são favorecidas as reações de oxidação que ocorrem entre um período de aquecimento e outro (ex.: reações com peróxidos, oxigênio dissolvido, etc). Uma possível explicação para as maiores taxas de emissão de hexanal pelo óleo de soja, em comparação ao óleo de dendê, em oposição ao que ocorreu em geral durante aquecimento contínuo, é que o óleo de soja possui maiores concentrações de ácido linoléico, ácido graxo precursor do hexanal, em relação ao óleo de dendê (vide tabela 6).

A Figura 22 mostra o perfil dos CC detectados somente no óleo de dendê e não no óleo de soja, durante aquecimento descontínuo.



**Figura 22.** Taxas de emissão dos CC para o óleo de dendê durante aquecimento descontínuo a 180°C, na relação S/V = 0,43 cm<sup>-1</sup>.

\* Os valores das taxas de emissão referem-se ao período de 1h, 25h e 49h de aquecimento dos óleos.

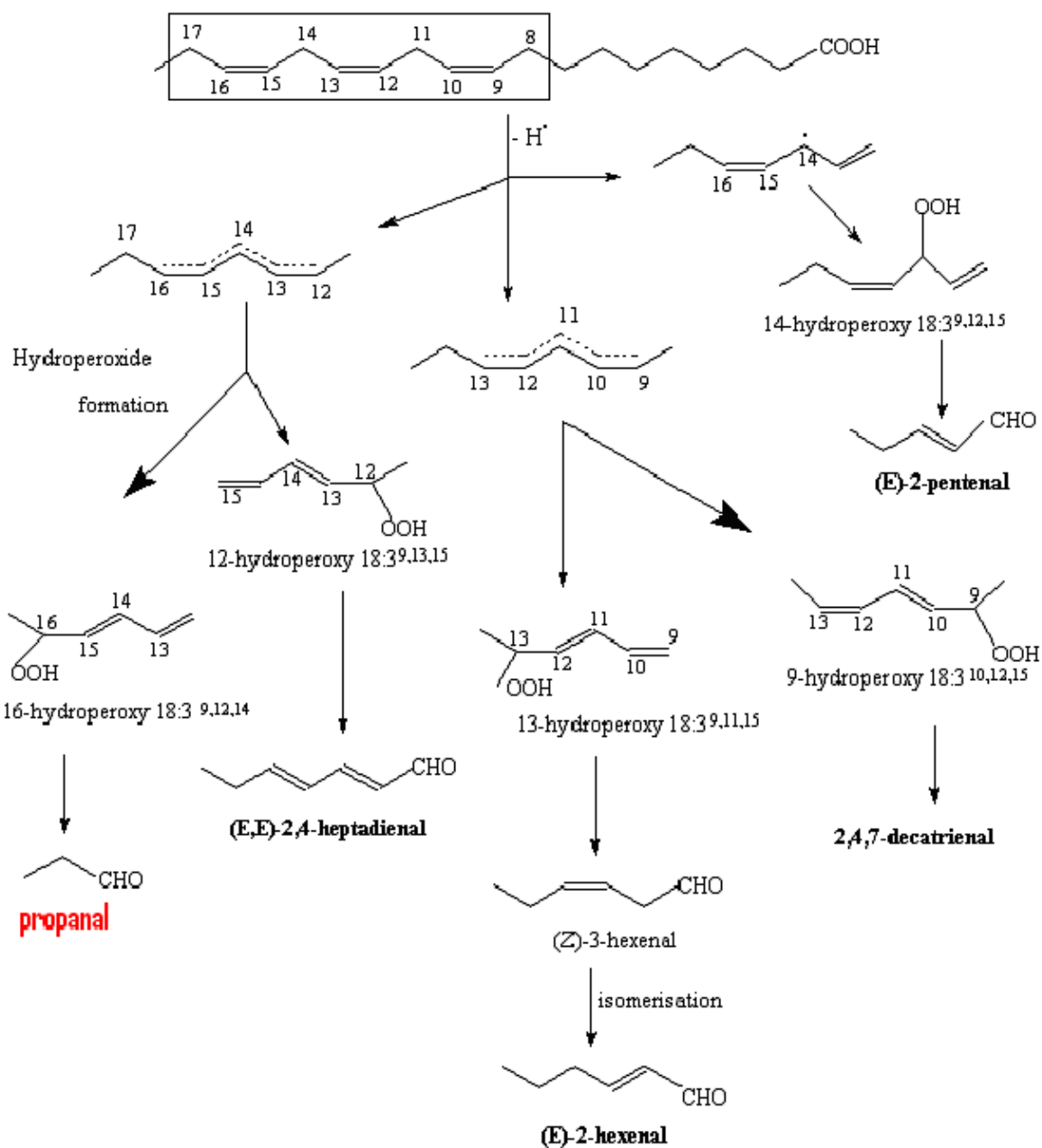
Conforme as figuras 21 e 22, observa-se que há um aumento ou uma diminuição das taxas de emissão no decorrer do aquecimento descontínuo. De uma maneira geral, para os compostos saturados, ocorre um aumento ao longo do tempo, enquanto que para os compostos insaturados, como a acroleína, o (E)-2-heptenal e o (E)-2-octenal, ocorre uma diminuição. Durante o aquecimento descontínuo, são formadas espécies oxidantes como peróxidos e radicais, que junto ao próprio oxigênio dissolvido, favorecem reações de oxidação secundárias, ao longo das sucessivas etapas intercaladas de aquecimento, esfriamento e repouso do óleo. Nessas circunstâncias, compostos insaturados tendem a diminuir suas taxas de emissão ao longo do tempo, devido ao seu consumo pela alta reatividade da dupla ligação presente.

### **5.2.3 PROPOSTA DE MECANISMOS PARA A FORMAÇÃO DOS CC EMITIDOS**

O acetaldeído<sup>58</sup> e o propanal<sup>59</sup> podem derivar da oxidação lipídica de AGPI da família  $\omega$ -3. Os  $\omega$ -3 são mais sensíveis à oxidação, pois a presença de grupos metilênicos (-CH<sub>2</sub>-) ativados pela proximidade das insaturações, aumenta a velocidade de decomposição dos hidroperóxidos. Desta forma, os peróxidos oriundos do ácido linolênico, decompõem-se mais facilmente do que todos aqueles provenientes dos ácidos oléico ( $\omega$ -9) e linoléico ( $\omega$ -6)<sup>59</sup>.

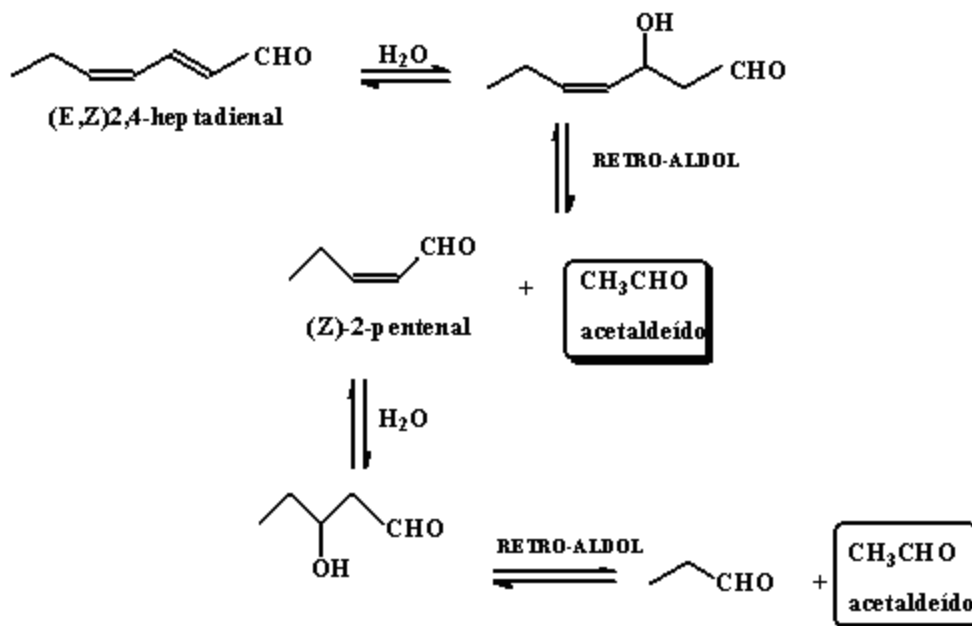
A figura a seguir mostra a rota sintética de formação do propanal e outros CC.

Ácido linolênico 18:3<sup>9,12,15</sup>

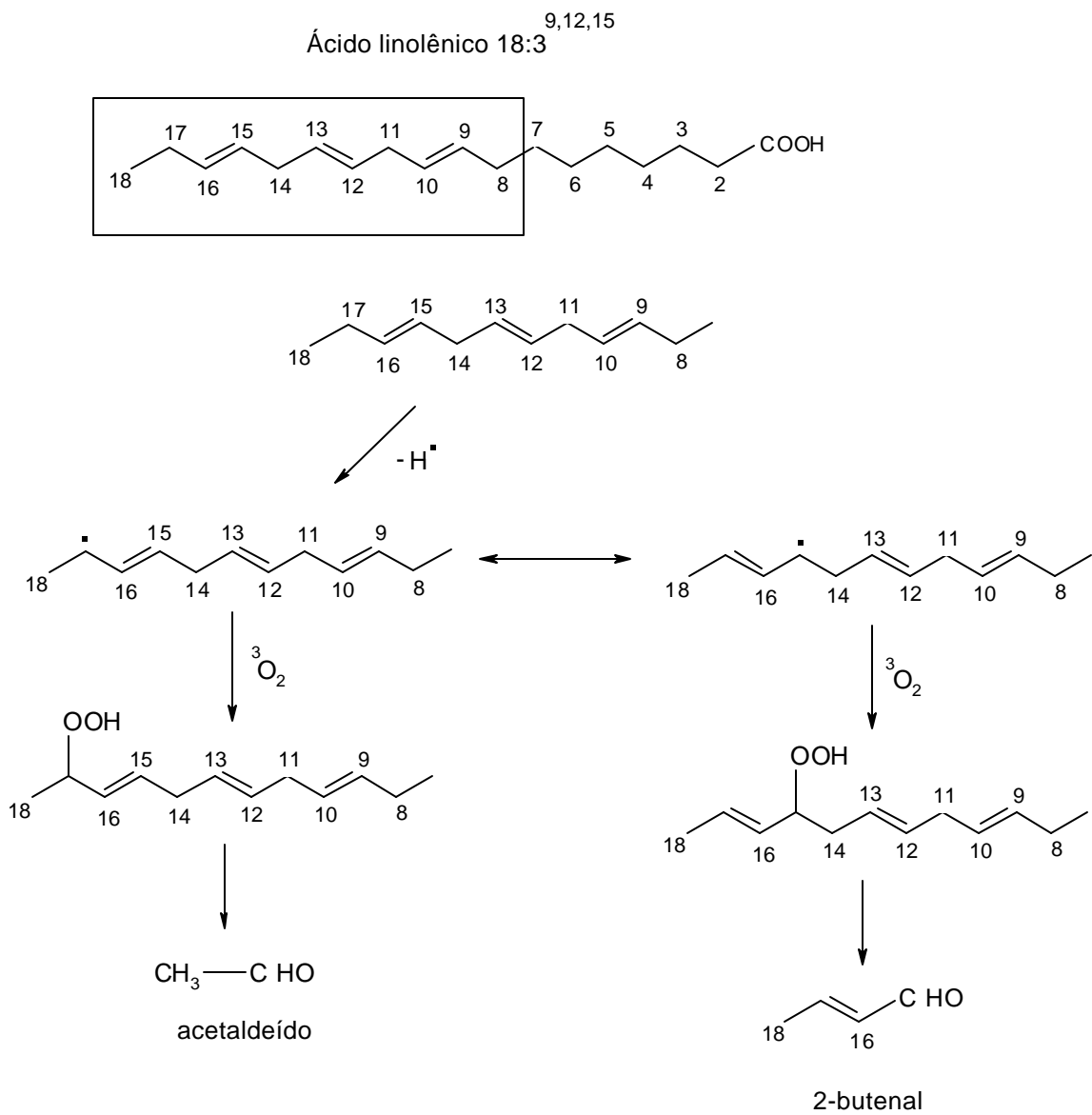


**Figura 23.** Rota sintética de formação do propanal, (E,E)-2,4-heptadienal, (E)-2-hexenal, (E)-2-pentenal e o 2,4,7-decatrinal a partir do ácido linolênico (? -3)<sup>58</sup>.

O acetaldeído é gerado a partir de condensações retro-aldólicas de dienais, tais como (E,Z)-nona-2,6-dienal e (E,Z)-2,4-heptadienal, formados pela oxidação do ácido linolênico (Figura 24)<sup>58</sup>.



**Figura 24.** Rota de formação do acetaldeído a partir do (E,Z)-2,4-heptadienal<sup>58</sup>.

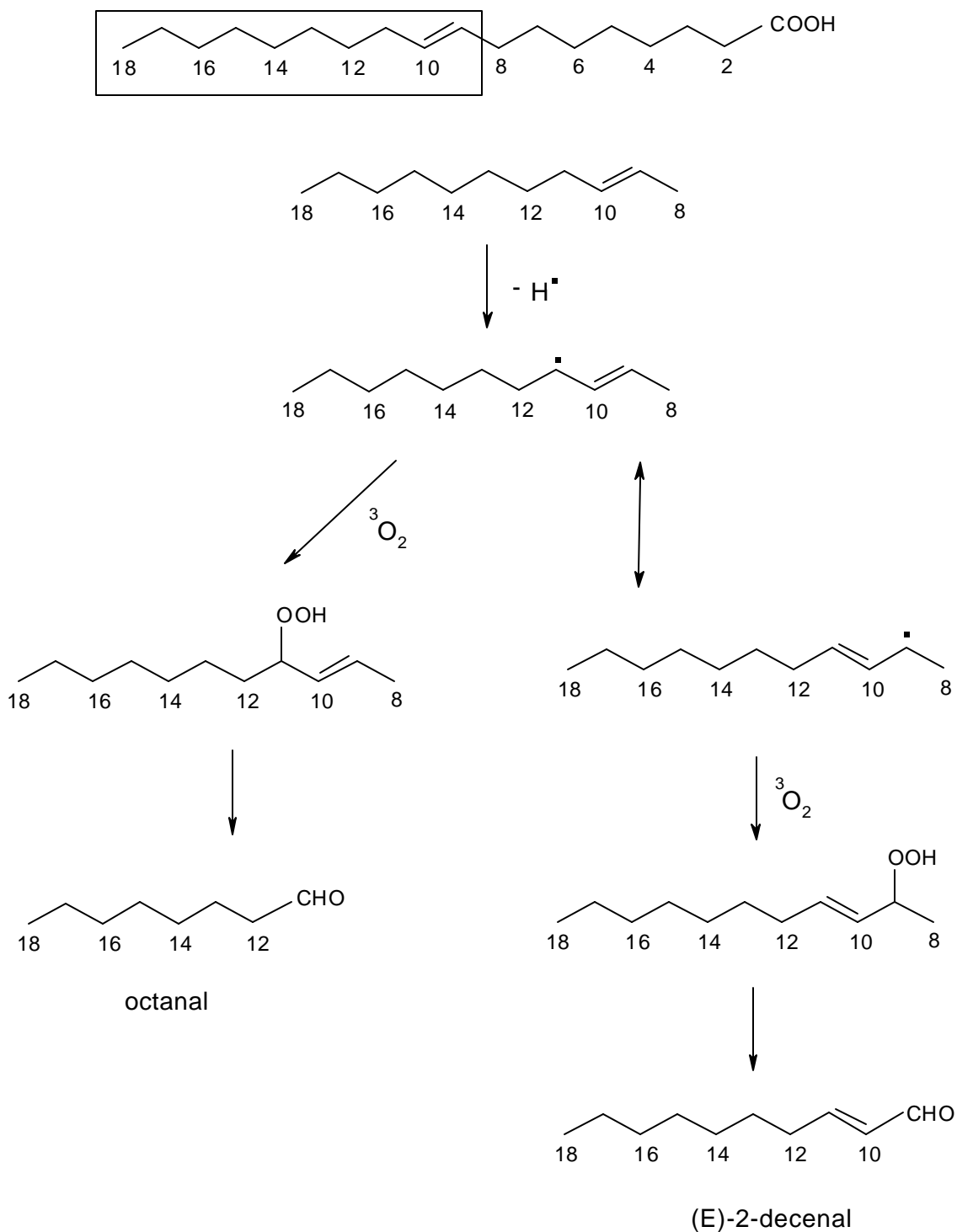


**Figura 25.** Rota sintética de formação do acetaldeído e do 2-butenal a partir do ácido linolênico (mecanismo proposto).

O octanal<sup>59</sup>, o nonanal<sup>7,59</sup> e o (E)-2-decenal<sup>7,59</sup> são derivados de ácidos da família  $\omega$ -9, tais como o ácido oléico (figura 26).

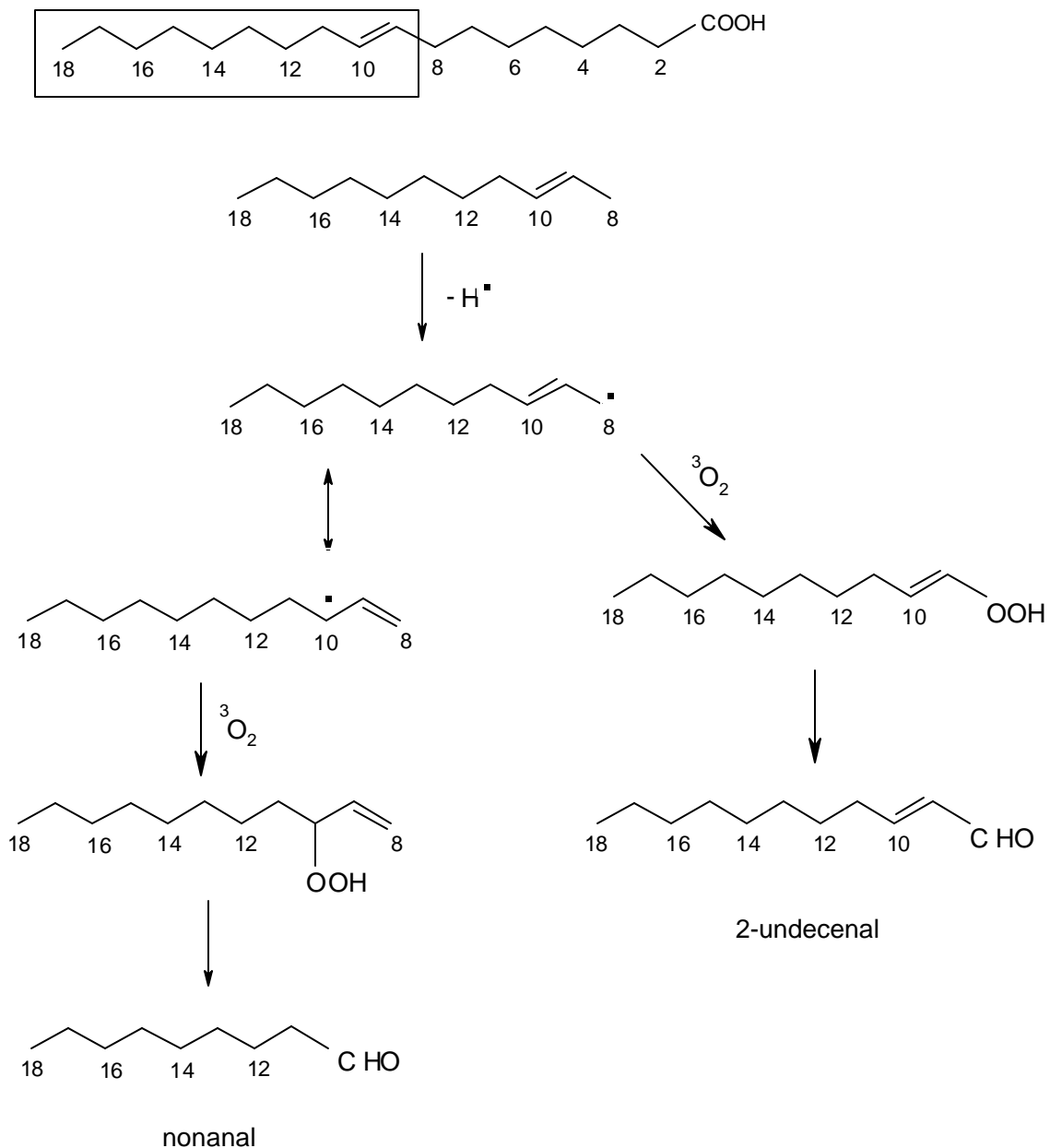


Ácido oléico 18:1<sup>9</sup>



**Figura 26.** Rota sintética de formação do octanal e (E)-2-decenal a partir do ácido oléico (mecanismo proposto).

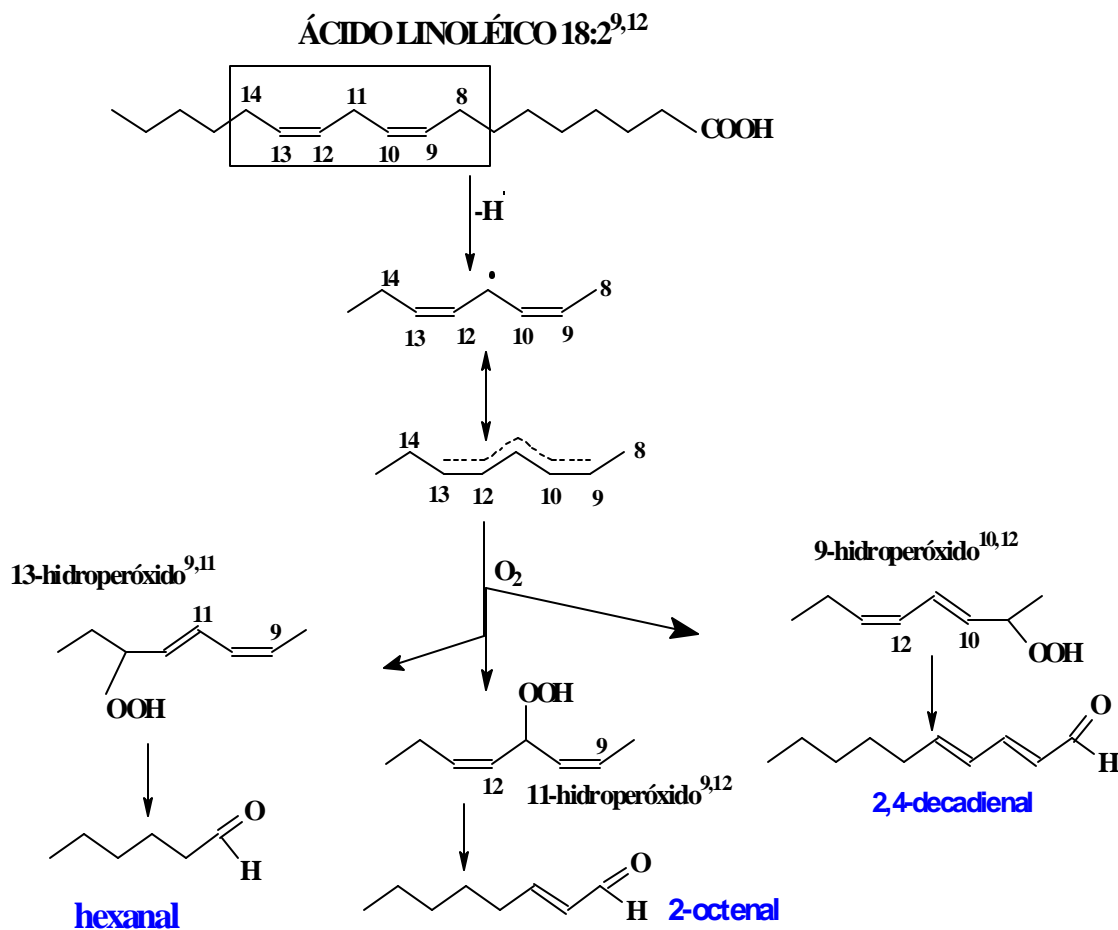
Ácido oléico 18:1<sup>9</sup>



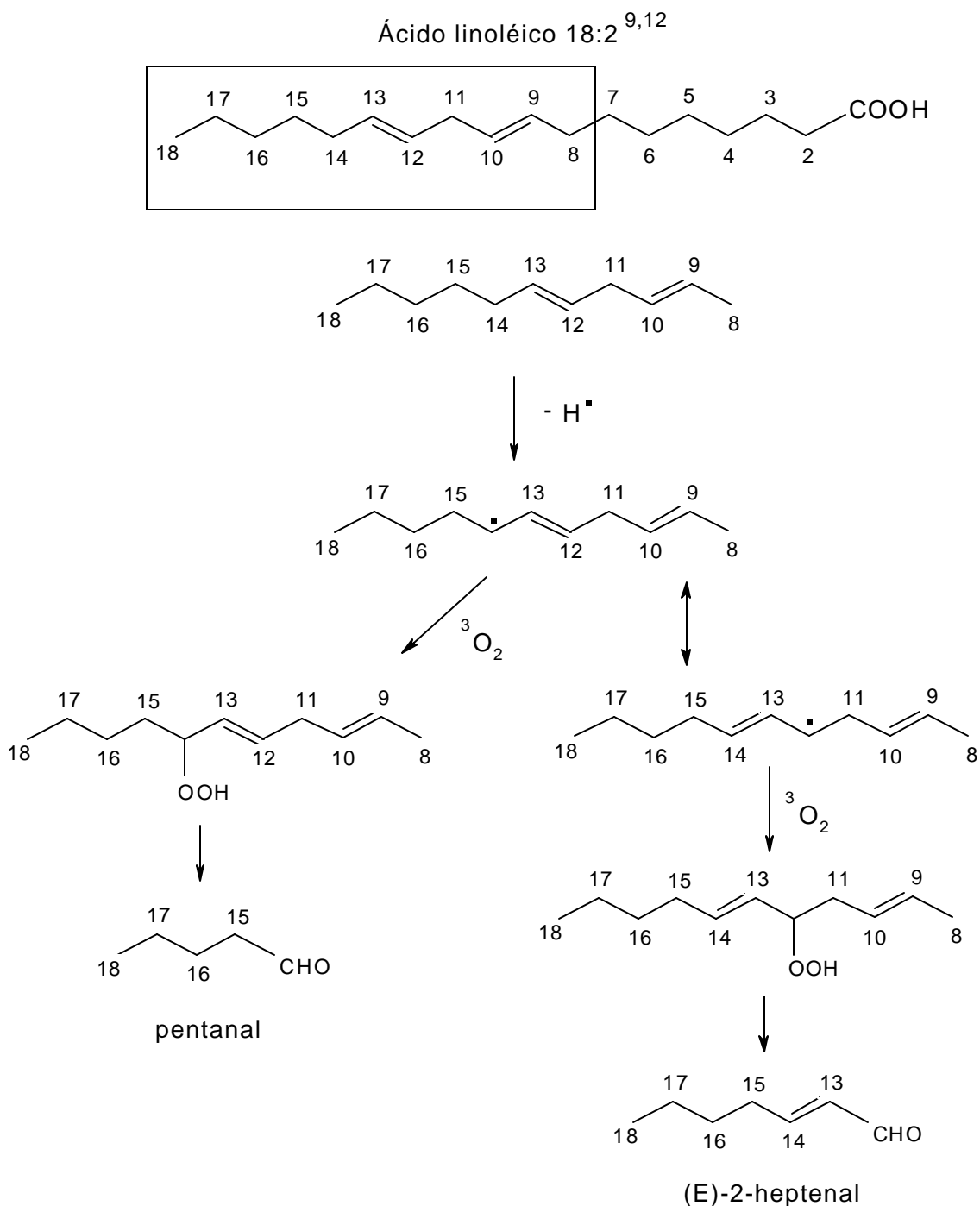
**Figura 27.** Rota sintética de formação do nonanal e 2-undecenal a partir do ácido oléico (mecanismo proposto).

O pentanal<sup>7</sup>, o hexana<sup>58,7</sup>, o (E)-2-octenal<sup>37</sup> e o (E)-2-heptenal<sup>7,58</sup> provêm da oxidação de ácidos da família  $\omega$ -6, como o ácido linoléico e o araquidônico (Figuras 28 a 30). O (Z)-4-heptenal é gerado via a condensação retro aldólica do

(E,Z)-2,6-nonadienal, proveniente da oxidação lipídica<sup>37</sup> e o (E)-2-octenal é proveniente da condensação retro-aldólica do (E,E)-2,4-decadienal<sup>37</sup>.

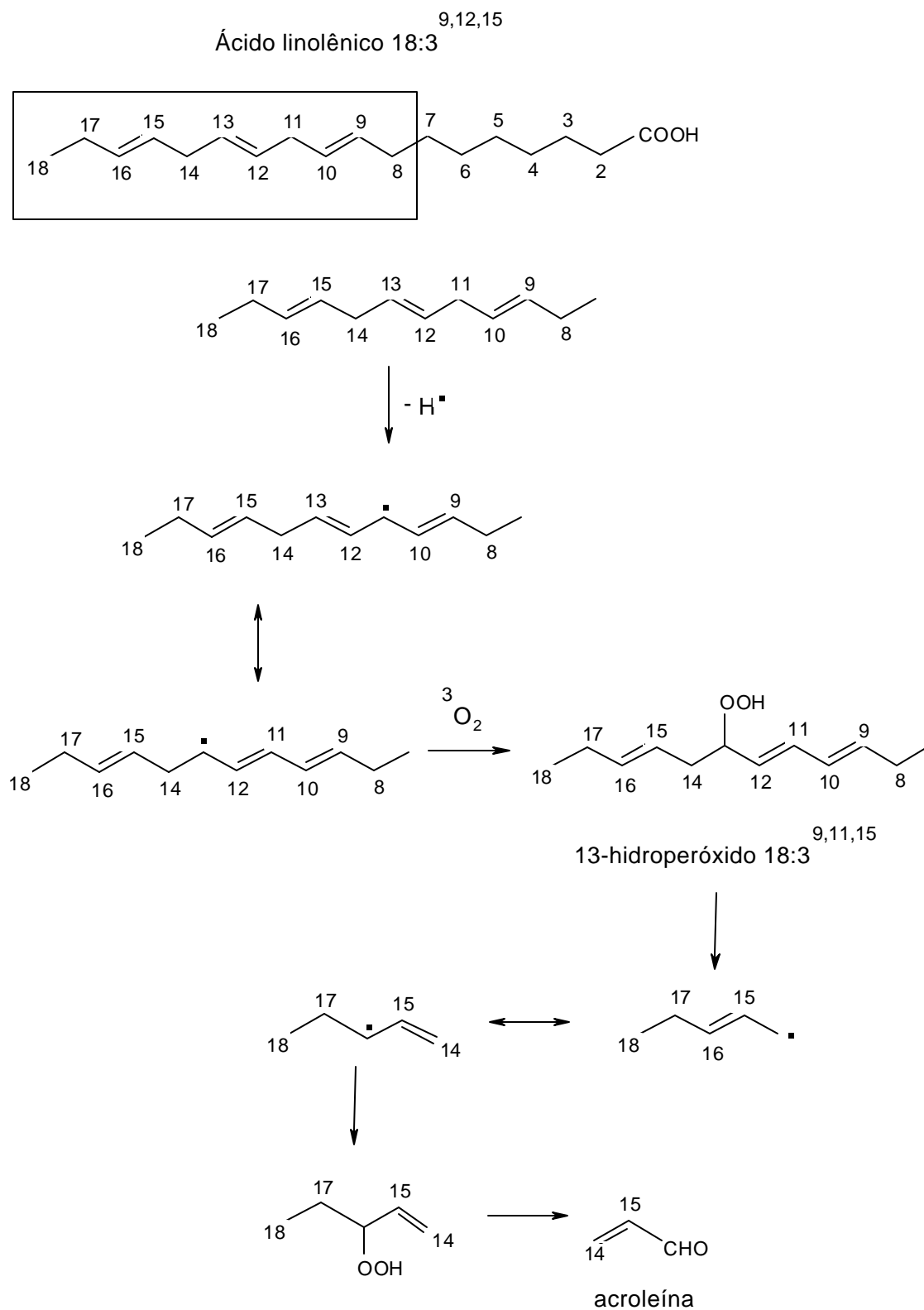


**Figura 28.** Rota sintética de formação do hexanal, 2-octenal e 2,4-decadienal a partir do ácido linoléico<sup>58</sup>.



**Figura 29.** Rota sintética de formação do pentanal e (E)-2-heptenal a partir do ácido linoléico (mecanismo proposto).

O mecanismo proposto para a acroleína a partir de ácidos graxos está representado na Figura 30.



**Figura 30.** Rota sintética de formação da acroleína a partir do ácido linolênico (mecanismo proposto).

### 5.3 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS DURANTE PROCESSO DE AQUECIMENTO DOS ÓLEOS DE DENDÊ E SOJA

Além dos aldeídos, várias outras classes de compostos são importantes na determinação do *on-flavor* e do *off-flavor* dos óleos submetidos a processos de fritura. A determinação destes compostos pode ser útil no estabelecimento do ponto ótimo / ponto final do processo de fritura, de modo a não comprometer a qualidade sensorial e nutritiva dos óleos, como também não aumentar o custo, se descartado cedo.

A determinação do ponto final dos óleos de fritura nos restaurantes e *fast-foods*, atualmente é feita por avaliação das características organolépticas, tais como sabor, odor e cor.

Neste trabalho, foi utilizada a técnica de headspace estático, que não usa solventes para a extração, para a análise de COV emitidos pelos óleos submetidos a processos de fritura.

Os COV foram identificados por comparações de seus espectros de massas com os de biblioteca eletrônica (Nist) disponível no banco de dados instalado no cromatógrafo.

As análises dos COV foram feitas durante os processos de fritura contínua e descontínua dos óleos de dendê e soja, empregando-se a relação S/V igual a  $0,23 \text{ cm}^{-1}$  no aquecimento contínuo e  $0,43 \text{ cm}^{-1}$  no aquecimento descontínuo.

As principais classes de compostos identificadas no headspace dos óleos de dendê e soja foram: aldeídos alifáticos saturados, aldeídos alifáticos insaturados e dienais. A classe predominante determinada foi a dos aldeídos.

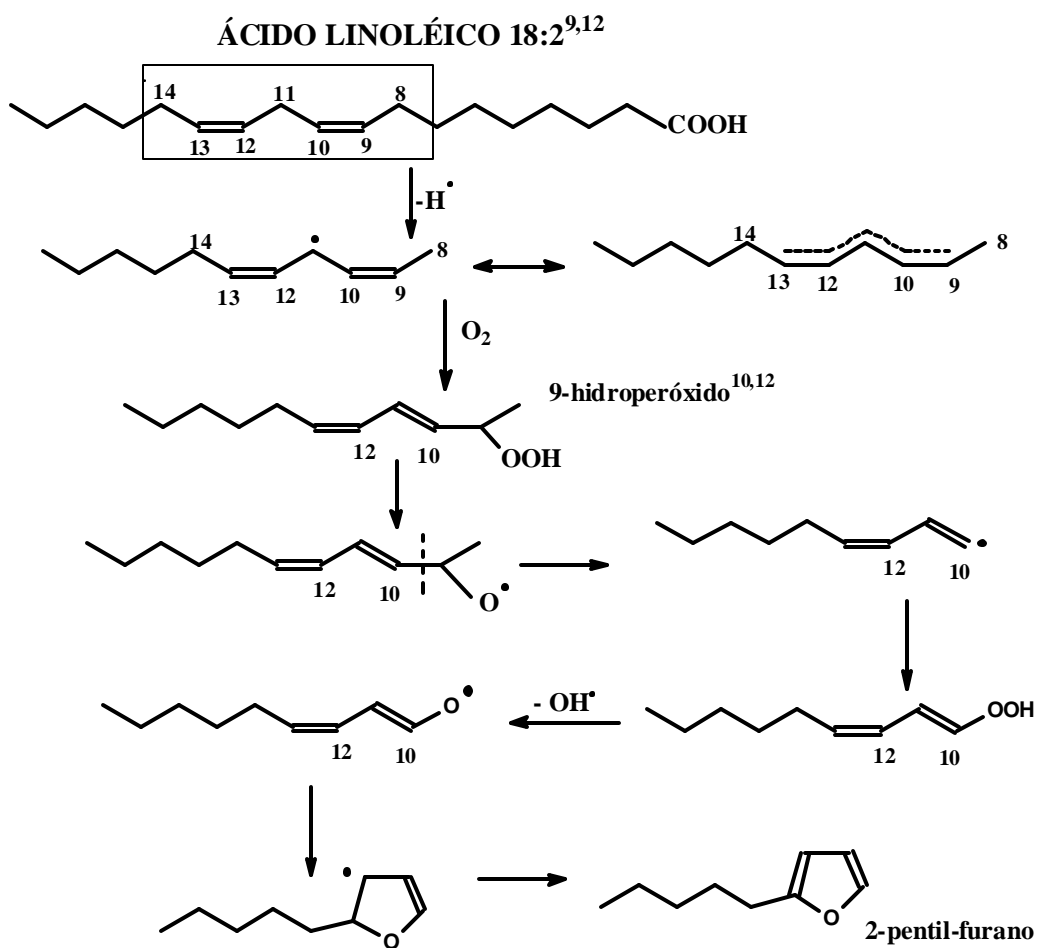
Os principais COV identificados no óleo de dendê após 1h, 7h e 24h de aquecimento contínuo a  $180^\circ\text{C}$  foram: heptanal, (Z)-2-heptenal, octanal, (E)-2-octenal, nonanal, decanal, (E)-2-decenal, 2-undecenal, 2-pentil-furano e (E,E)-2,4-decadienal. Além destes, também foram encontrados: o 1-octen-3-ol e o ácido n-hexadecanóico (ácido palmítico) após 1h, o (E)-2-nonenal após 7h e 24h, o 1-nonen-3-ol e o hexadecanal após 24h. A presença do ácido palmítico (C16:0) no

headspace do óleo de dendê mostra que também ocorreram reações hidrolíticas durante o aquecimento contínuo.

Conforme já discutido, os aldeídos alifáticos saturados e insaturados e os dienais são originários da auto-oxidação lipídica.

Os álcoois insaturados 1-octen-3-ol e 1-nonen-3-ol também são oriundos da oxidação lipídica, e derivam de AGPI ? -3<sup>37,42,61,64</sup>.

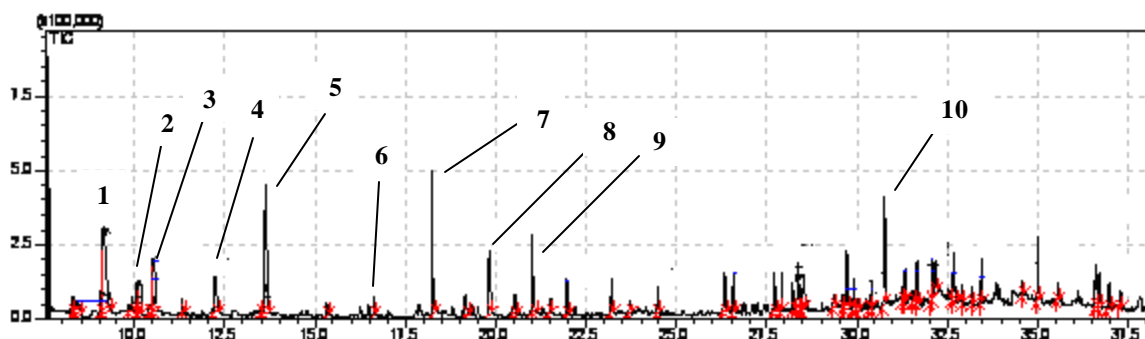
O 2-pentil-furano é um produto derivado do ácido linoléico, a partir da decomposição do 9-hidroperóxido (figura 31).



**Figura 31.** Formação do 2-pentil-furano a partir do ácido linoléico<sup>58</sup>.

Como ilustração, é mostrado na Figura 32, um cromatograma de íons totais (TIC) no modo varredura (*scan*), obtido com as condições experimentais

reportadas no item 4.7.2, para o óleo de dendê, após 1 h de aquecimento contínuo a 180°C.



**Figura 32.** Cromatograma do HS-S do óleo de dendê após 1 h de aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V=0,23 cm<sup>-1</sup>.

Coluna cromatográfica: HP5-MS (30m x 0,25mm x 1µm); vazão (He) = 40 cm.s<sup>-1</sup>; modo splitless por 0,7 seg; forno: 40 °C(2 min.); 150°C (5°C/min); 240°C (8°C/min, 3 min); temperatura do injetor: 240°C; condições do EM: 70eV; corte de solvente - 6 min.; temperatura da linha de transferência - 250°C; temperatura da fonte de íons - 250°C; modo de aquisição – scan (velocidade: 0,5 scan.seg<sup>-1</sup>; faixa de varredura de massas - 40-450 u. Identificação dos principais picos: **1.** heptanal; **2.** 2-pentil-furano; **3.** octanal; **4.** (E)-2-octenal; **5.** nonanal; **6.** decanal; **7.** (E)-2-decenal; **8.** (E,E)-2,4-decadienal; **9.** 2-undecenal; **10.** ácido n-hexadecanóico.

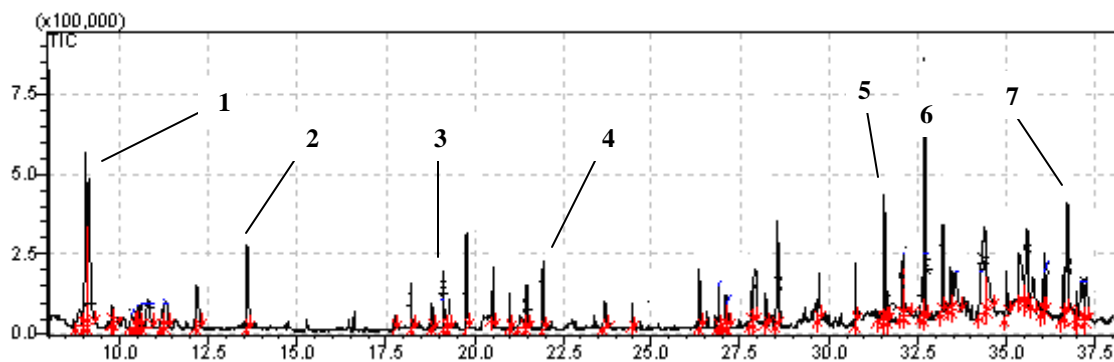
Durante aquecimento descontínuo, a composição do *headspace* do óleo de dendê não é significativamente alterada no decorrer do processo de fritura e não apresenta alterações significativas em relação ao processo contínuo. Além dos COV também encontrados no aquecimento contínuo, identificou-se no aquecimento descontínuo o (Z)-6-ácido octadecenóico (ácido oléico), mostrando que também ocorreram reações hidrolíticas durante o aquecimento descontínuo.

Os principais COV identificados no headspace do óleo de soja após 1h, 7h e 24h de aquecimento contínuo a 180°C foram: hexanal, (Z)-2-heptenal, nonanal, decanal, (E,E)-2,4-decadienal, hexadecanal e ácido oléico. Foram também encontrados: o heptadecenal e o ácido n-hexadecanóico (ácido palmítico) em 1h, o (E)-2-octenal, (E)-2-decenal, 2-undecenal em 7h, o 1-octen-3-ol, o 2-pentil-furano e o 1-nonen-3-ol após 24 h. A presença dos ácidos oléico e palmítico no



*headspace* deste óleo indica que ocorreram alterações hidrolíticas também neste óleo.

Como ilustração, é mostrado na Figura 33 um cromatograma de corrente íons totais (TIC) no modo varredura (*scan*), obtido com as condições experimentais reportadas no item 4.8.2, para o óleo de soja, após 1h de aquecimento contínuo a 180°C.



**Figura 33.** Cromatograma do HS-S do óleo de soja após 1 h de aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V = 0,23 cm<sup>-1</sup>.

Coluna cromatográfica: HP5-MS (30m x 0,25mm D.I x 1µm de fase estacionária); vazão (He) = 40 cm.s<sup>-1</sup>; modo splitless por 0,7 seg; forno: 40 °C(2 min.); 150°C (5°C/min); 240°C (8°C/min, 3 min); temperatura do injetor: 240°C; condições do EM: 70eV; corte de solvente - 3 min.; temperatura da linha de transferência - 250°C; temperatura da fonte de íons - 250°C; modo de aquisição – scan (velocidade: 0,5 scan.sec<sup>-1</sup>; faixa de varredura de massa - 40-450 u. Identificação dos principais picos: **1.** hexanal; **2.** nonanal; **3.** (E,E)-2,4-decadial; **4.** hexadecanal; **5.** 14-heptadecenal; **6.** ácido n-hexadecanóico; **7.** ácido 9-octadecenóico.

Durante aquecimento descontínuo do óleo de soja, a composição do *headspace*, assim como no óleo de dendê, não apresenta alterações significativas em relação ao processo contínuo.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

---

A degradação lipídica é de grande interesse econômico na indústria alimentícia, já que conduz ao desenvolvimento de diversos sabores e odores inaceitáveis em óleos e produtos à base de gordura, o que representa para o consumidor, ou para o transformador industrial, uma importante causa de depreciação ou rejeição. Pode, ainda, diminuir a qualidade nutricional dos alimentos, sendo que certos produtos de oxidação são potencialmente tóxicos.

Desse modo, a determinação de CC e outros COV em fase gasosa, gerados nas reações de degradação dos óleos e presentes na fumaça proveniente da fritura, é de grande importância, possibilitando estimar a qualidade do óleo e a do ar à qual estão expostos trabalhadores em cozinha.

A determinação do índice de peróxidos (IP), método analítico usado para avaliar o grau de oxidação de óleos e gorduras, foi realizada pelas metodologias oficiais da AOCS (American Oil Chemists' Society). Os resultados mostraram que este índice não é diretamente proporcional às taxas de emissão de CC, uma vez que baixos índices de peróxidos foram relacionados a altas taxas de emissão de CC. Desta forma, confirma-se que a determinação do índice de peróxido, por si só, pode não ser suficiente para classificar um óleo como apropriado para uso em processos de fritura.

Determinou-se as taxas de emissão de compostos carbonílicos, produzidos por óleos de dendê e soja, quando submetidos a aquecimento a 180°C por diferentes intervalos de tempo, em processo contínuo e descontínuo e diferentes razões superfície:volume. Os CC foram coletados e derivatizados em cartuchos de sílica funcionalizados com C18 e impregnados com solução ácida de 2,4-DNPH, sendo a seguir analisados por CLAE-DAD. Paralelamente, outros COV foram avaliados qualitativamente por extração do *headspace* e análise por CGAR-EM.

Dentre os CC identificados nas emissões, destacaram-se no óleo de dendê, formaldeído; acetaldeído; acroleína; propanal; butanal; pentanal; hexanal; (E)-2-heptenal; heptanal; (E)-2-octenal; octanal; nonanal e (E)-2-decenal, enquanto no óleo de soja destacaram-se formaldeído; acetaldeído; acroleína; hexanal e (E)-2-

heptenal. Destes, pelo menos três – formaldeído, acetaldeído e acroleína – são comprovadamente nocivos à saúde humana.

Dentre os CC quantificados - formaldeído; acetaldeído; acroleína; propanal; butanal; hexanal; (E)-2-heptenal e (E)-2-octenal -, o que apresentou as maiores taxas de emissão nos dois óleos, nas três relações S/V estudadas, foi a acroleína, seguida de hexanal e (E)-2-heptenal.

Esse resultado é significativo, pois mostra que, embora a intensidade de degradação dos óleos de fritura dependa, dentre outros fatores, do tempo de aquecimento a que são submetidos, mesmo em pouco tempo já são formados compostos tóxicos à saúde. Contudo, nas horas subseqüentes, a emissão de acroleína pelos dois óleos tendeu a diminuir, possivelmente por ser este aldeído muito reativo e facilmente polimerizado em altas temperaturas.

Com relação ainda à acroleína, suas taxas de emissão foram maiores no óleo de soja do que no óleo de dendê, em todas as relações S/V estudadas. Isso evidencia a contribuição dos AGPI na formação da acroleína, uma vez que o óleo de soja é composto por uma grande quantidade de AGPI, quando comparado ao óleo de dendê.

Por outro lado, para os outros compostos carbonílicos – formaldeído; acetaldeído; hexanal e (E)-2-heptenal - observou-se de uma maneira geral taxas de emissão maiores para o óleo de dendê do que para o óleo de soja, nas três relações S/V estudadas. Uma possível razão para este resultado é que os antioxidantes naturais presentes em abundância no óleo de dendê, podem se degradar juntamente aos ácidos graxos, dando origem a tais compostos. Isso é especialmente importante porque o óleo de dendê, em virtude do seu alto teor de  $\beta$ -caroteno, precursor da vitamina A, é tido atualmente como um alimento funcional, sendo recomendado pela FAO (*Food and Agriculture Organization*) para as populações de países em desenvolvimento.<sup>14,67</sup> Assim, o processo de fritura implica em uma perda nutricional importante, já que ocasiona a degradação de ácidos graxos, tais como ômega-3 e ômega-6, a formação de produtos tóxicos à saúde e a perda de nutrientes antioxidantes. Outra possibilidade para o óleo de dendê apresentar maiores taxas de emissão para alguns CC e, portanto, maior

degradação lipídica, é a presença de antioxidantes sintéticos no óleo de soja refinado, tais como terc-butil hidroquinona (TBHQ) e ácido cítrico, os quais podem contribuir com uma maior estabilidade oxidativa deste óleo.

No estudo da influência da relação S/V, concluiu-se que as taxas de emissão de CC estão, em geral, diretamente relacionadas à razão superfície/volume de óleo utilizado no processo de fritura, sendo porém essa relação não-linear. Para os compostos insaturados, as taxas de emissão nas razões S/V 0,43 e 0,77 se aproximaram, ao contrário do observado com os compostos saturados, o que mostra que a maior reatividade dos CC insaturados influencia nas taxas de emissão, pois estes reagem mais facilmente com o oxigênio, competindo com o processo de formação dos mesmos. Desta forma, numa razão S/V maior, a superfície de óleo em contato com o oxigênio é maior, fazendo com que as curvas nas razões S/V de 0,43 e 0,77  $\text{cm}^{-1}$  se aproximem.

Durante aquecimento descontínuo, os resultados repetiram o padrão observado nos experimentos contínuos, exceto para o hexanal, o qual passou a apresentar maiores taxas de emissão no óleo de soja do que no óleo de dendê. Uma possível explicação para esta diferença é que, através de processos intercalados de aquecimento e repouso, são favorecidas reações de oxidação secundárias (ex. reações com peróxidos, oxigênio dissolvido, etc). Como o óleo de soja é, em relação ao óleo de dendê, mais rico em ácido linoléico, ácido graxo precursor do hexanal, predomina a formação deste CC neste óleo ao longo de intervalos prolongados. Além disso, de uma forma geral, para os compostos saturados, há uma tendência ao aumento nas taxas de emissão ao longo do tempo, enquanto que para os compostos insaturados tende a diminuir, por conta da alta reatividade da dupla ligação presente nestes compostos.

Além dos aldeídos, outras classes de compostos devem ser considerados na avaliação da degradação dos óleos vegetais submetidos a processos de fritura. A determinação destes compostos pode ser útil no estabelecimento do ponto ótimo / ponto final do processo de fritura, de modo a não comprometer a qualidade sensorial e nutritiva dos óleos, como também não aumentar o custo, se descartado cedo.

Na extração por *headspace* estático e análise por GC-MS dos COV presentes na fumaça dos óleos de dendê e soja, além dos aldeídos alifáticos saturados e insaturados, foram encontrados dienais, 2-pentil-furano, álcoois insaturados e ácidos graxos, todos provenientes de degradação lipídica.

Finalmente, este trabalho mostrou que a razão superfície/volume, o tempo de aquecimento na temperatura de fritura, a forma de aquecimento (contínua ou descontínua), o grau de insaturação do óleo utilizado e a presença ou não de antioxidantes são fatores importantes na degradação dos óleos vegetais.

Vale ressaltar que embora as emissões de acroleína e de outros aldeídos possam ser elevadas, mesmo em períodos curtos de aquecimento do óleo, isso não corresponde necessariamente a altas taxas de exposição pelos trabalhadores em cozinha, uma vez que essas vão ser afetadas por outros fatores, tais como o grau de ventilação/exaustão do ar no ambiente. Todavia, elas podem servir como alerta para ações de prevenção.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- [1] Bobbio, P. A.; Bobbio, F. O. Introdução à Química de Alimentos, 3ª ed. São Paulo: Varela, **2003**, 238 p.
- [2] Gómez, M. E. D. B. Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta. !. Estabilidade oxidativa. São Paulo, **2003**. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- [3] Vieira, T. M. F. S.; Regitano-Dárce, M. A. B.; Oetterer, M. Uso do óleo de palma em alimentos. *Boletim SBCTA*, **1997**, 31(2), 186-191.
- [4] BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 482, 23 set. 1999. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 jun. 2000. Seção 1. p. 21-25. Disponível em: < [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/482\\_99.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/482_99.htm)>. Acesso em: 04 jul. 2005.
- [5] ABOISSA ÓLEOS VEGETAIS, site: <http://www.aboissa.com.br>, visitado em 19 set. 2006.
- [6] Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), site: <http://www.embrapa.gov.br>, visitado em 19 set. 2006.
- [7] Fullana, A.; Carbonell-Barrachina, A. A.; Sidhu, S. Comparison of volatile aldehydes present in the cooking fumes of extra virgin olive, olive, and canola oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2004**, 52, 5207-5214.
- [8] Cella, R. C. F.; Regitano-D'Arce, M. A. B.; Spoto, M. H. F. Comportamento do óleo de soja refinado utilizado em fritura por imersão com alimentos de origem vegetal. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **2002**, 22, 111-116.
- [9] Ans, V. G.; Mattos, E. S.; Jorge, N. Avaliação da qualidade dos óleos de fritura usados em restaurantes, lanchonetes e similares. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **1999**, 19, 413-419.
- [10] Jorge, N.; Soares, B. B. P.; Lunardi, V. M.; Malacrida, C. R. Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho e soja em frituras. *Química Nova*, **2005**, 28, 947-951.
- [11] Lima, J. R.; Gonçalves, L. A. G. Avaliação analítica de óleos utilizados em processos de fritura. *Boletim SBCTA*, **1995**, 29, 186-192.

- [12] Jorge, N.; Malacrida, C. R. Alterações do óleo de soja e da mistura azeite de dendê-óleo de soja em frituras descontínuas de batatas chips. *Brazilian Journal of Food Technology*, **2003**, 6, 245-249.
- [13] Sanibal, E. A. A.; Mancini Filho, J. Alterações físicas, químicas e nutricionais de óleos submetidos ao processo de fritura. *Food Ingredients South América*, **2002**, 18, 64-71.
- [14] Vieira, T. M. F. S.; Regitano-D'Arce, M. A. B.; Oetterer, M. Uso do óleo de palma em alimentos. *Boletim SBCTA*, **1997**, 31, 186-191.
- [15] Chiang, T. A.; Wu, P. F.; Wang, L. F.; Lee, C. H.; Ko, Y. C. Mutagenicity and polycyclic hydrocarbon content of fumes from heated cooking oils produced in Taiwan. *Mutation Research*, **1997**, 381, 157-161.
- [16] Qu, Y. H.; Xu, G. X.; Zhou, J. Z.; Chen, T. D.; Zhu, L. F.; Shields, P. G.; Wang, H. W.; Gao, Z. Genotoxicity of heated cooked oil vapors. *Mutation Research*, **1992**, 298, 105-111.
- [17] Zhu, X.; Wang, K.; Zhu, J.; Koga, M. Analysis of cooking oil fumes by ultraviolet spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2001**, 49, 4790-4794.
- [18] Andrade, M. V. A. S. Estudo de oxidantes fotoquímicos no ar: compostos carbonílicos, ozônio e PAN. 2001, 191p. Tese (Doutorado em Química – Química Analítica). Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador – BA.
- [19] Sanibal, E. A. A.; Mancini Filho, J. Alterações físicas, químicas e nutricionais de óleos submetidos ao processo de fritura. *Food Ingredients South America*, **2002**, 18, 64-71.
- [20] Nouros, P. G.; Georgiou, C. A.; Polissiou, M. G. Direct parallel flow injection multichannel spectrophotometric determination of olive oil peroxide value. *Analytica Chimica Acta*, **1999**, 389, 239-245.
- [21] Silva, F. A. M.; Borges, M. F. M.; Ferreira, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*, **1999**, 22 (1), 94-103.
- [22] Fennema, O. R. Química de los alimentos, Zaragoza, Espana. Ed. Acribia, **2000**, 1280p.
- [23] Ramalho, V. C.; Jorge, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, **2006**, 29 (4), 755-760.

- [24] Nishikawa, H.; Sakai, T. Derivatization and chromatographic determination of aldehydes in gaseous and air samples. *Journal of Chromatography A*, **1995**, 710,159-165.
- [25] Pires, M.; Carvalho, L. R. F. Presença de compostos carbonílicos no ar em ambientes internos na cidade de São Paulo. *Química Nova*, **1999**, 22 (4), 487-496.
- [26] Gobato, E. A. A. F.; Lanças, F. M. Comparação entre injeção na coluna (“on-column”) e headspace dinâmico na determinação de benzeno, tolueno e xilenos (BTX) em amostras de água. *Química Nova*, **2001**, 24 (2), 176-179.
- [27] Casella, I. G.; Contursi, M. Quantitative Analysis of Acrolein in Heated Vegetable Oils by Liquid Chromatography with Pulsed Electrochemical Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2004**, 52, 5816-5821.
- [28] Queiroz, S. C. N.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. *Química Nova*, **2001**, 24 (1), 68-76.
- [29] Zhou, X.; Mopper, K.; Measurement of Sub-parts-per-billion levels of carbonyl compounds in marine air by a simple cartridge trapping procedure followed by liquid chromatography. *Environmental Science & Technology*, **1990**, 24, 1482-1485.
- [30] Nóbrega, I. C. C. Análise dos compostos voláteis da aguardente de cana por concentração dinâmica do "headspace" e cromatografia gasosa-espectrometria de massas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **2003**, 23 (2), 210-216.
- [31] Araújo, J. M. A. Química de Alimentos: Teoria e Prática, Ed. Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa - MG, **1995**, 335 p.
- [32] AOCS. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign: American Oil Chemists' Society, **2003**.
- [33] USDA, 2006. Foreign Agricultural Service. Disponível em: <http://www.usda.gov>. Acesso em 25 nov. 2006.
- [34] OIL WORLD, site: <http://www.oilworld.de> , visitado em 10 out. 2006.
- [35] Nunes, A. G. et. al. Análise da cadeia produtiva da soja. Disponível em: < <http://graosoja.sites.uol.com.br>> Acesso em 10 out. 2003.
- [36] Cultura da soja, 2003. Disponível em: <<http://www.agromil.com.br/origemsoja.html>> Acesso em 12 out. 2006.



- [37] Veloso, M. C. C. Compostos orgânicos voláteis e ácidos graxos em peixes marinhos. Salvador, **2005**. Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia.
- [38] Vergara, P.; Wally, A. P.; Pestana, V. R.; Bastos, C.; Zambiasi, R. C. Estudo do comportamento de óleo de soja e de arroz reutilizados em frituras sucessivas de batata. *Boletim Ceppa*, **2006**, 24 (1), 207-220.
- [39] Okumura, L. L. Desenvolvimento de método para determinação de acetaldeído em álcool etílico hidratado combustível por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção eletroquímica. Araraquara, **2003**. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual de Paulista.
- [40] Janzantti, N. S. Compostos voláteis e qualidade de sabor da cachaça. Campinas, **2004**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- [41] Cavalli, J. F.; Fernandez, X.; Lizzani-Cuvelier, L.; Loiseau, A. M. Characterization of volatile compounds of French and Spanish virgin olive oils by HS-SPME: identification of quality-freshness markers. *Food Chemistry*, **2004**, 88, 151-157.
- [42] Kanavouras, A.; Hernandez, R. J.; The analysis of volatiles from thermally oxidized virgin olive oil using dynamic sorption-thermal desorption and solid phase micro-extraction techniques. *International Journal of Food Science & Technology*, **2006**, 41, 743-750.
- [43] Anazawa, T. A. Preparação, caracterização e avaliação de diferentes fases estacionárias reversas, tipo C8, para CLAE. Campinas, **1996**. Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.
- [44] Milanez, T. V. Tricotecenos em milho: otimização e avaliação de método analítico utilizando cromatografia a gás associada à espectrometria de massas e levantamento da incidência em milho e em produtos de milho no estado de São Paulo. Campinas, **2003**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- [45] Soares, M. S. Processamento de óleo de soja utilizando ultra-filtração em miscela na etapa de degomagem e na obtenção de lecitina. Campinas, **2004**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia em Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- [46] Sousa, E. T.; Rodrigues, F. M.; Martins, C. C.; Oliveira, F. S.; Pereira, P. A. P.; Andrade, J. B. Multivariate optimization and HS-SPME / GC-MS analysis of VOCs in red, yellow and purple varieties of capsicum chinense sp peppers. *Microchemical Journal*, **2006**, 82, 142-149.

[47] Morais, M. N.; Veloso, M. C. C.; Pereira, P. A. P. Qualitative analysis of VOC flavour compounds in fruit pulps using SPME followed by HRGC-MS. In: PITTCON 2005 (27/2 a 4/3/2005), **2005**, Orlando, Florida.

[48] Tonhi, E. Preparação de colunas para cromatografia líquida de alta eficiência recheadas com polissiloxanos (C1, C8 e C14) imobilizados sobre partículas de sílica porosa de 5 µm. Campinas, **2004**. Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

[49] Cardeal, Z. L. Determinação de fenol na urina por cromatografia gasosa capilar para uso em avaliação de exposição ocupacional ao benzeno. Campinas, **1988**. Dissertação (Mestrado em Química), Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

[50] Lanças, F. M.; McNair, H. M. Cromatografia em fase gasosa. 1. Teoria Elementar. *Química Nova*, **1983**, 6 (1), 6-13.

[51] Cardoso, S. L. Fotofísica de carotenóides e o papel antioxidante de β-caroteno. *Química Nova*, **1997**, 20 (5), 535-540.

[52] Morita, T.; Assumpção, R. M. V. Manual de Soluções, Reagentes e Solventes. Padronização, preparação, purificação. Ed. Edgard Blücher LTDA. 2ª edição, 1972.

[53] Sakuragawa, A.; Yoneno, T.; Inoue, K; Okutani, T. Trace analysis of carbonyl by liquid chromatography-mass spectrometry after collection as 2,4-dinitrophenylhydrazine derivatives. *Journal of Chromatography A*, **1999**, 844, 403-408.

[54] Pereira, E. A.; Cardoso, A. A.; Dasgupta, P. K. Gota suspensa para avaliação de aldeído total no ar interno e externo do ambiente. *Química Nova*, **2001**, 24 (4), 443-448.

[55] Pinheiro, H. L. C. Determinação de aldeídos associados ao material particulado atmosférico. Salvador, **1993**. Dissertação (Mestrado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia.

[56] Andrade, J. B.; Andrade, M. V.; Pinheiro, H. L. C.; Atmospheric levels of formaldehyde and acetaldehyde and their relationship with the vehicular fleet composition in Salvador, Bahia, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **1998**, 9 (3), 219-223.

[57] Coutrim, M. X. Avaliação da separação das 2,4-dinitrofenilhidrazonas (DNPHo) de aldeídos e cetonas por cromatografia líquida de alta eficiência. Campinas, **1991**. Dissertação (Mestrado em Química), Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

- [58] Frankel, E. N. Lipid oxidation. *Progress in Lipid Research*, **1980**, 19, 1-22.
- [59] Araújo, J. M. A. Oxidação de lipídios. Ed. Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa - MG, **1994**.
- [60] Shriner, R.L.; Fuson, R.C.; Curtin, D.Y. The systematic identification of organic compounds. **1964**, New York, 254 p.
- [61] Morales, M. T.; Rios, J.J.; Aparicio, R. Changes in the volatile composition of virgin olive oil during oxidation: flavors and off-flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1997**, 45, 2666-2673.
- [62] Valente, A. L. P.; Augusto, F. Microextração por fase sólida. *Química Nova*, **2000**, 23 (4), 523 - 530.
- [63] Sanches-Silva, A.; Lopez-Hernández, J.; Paseiro-Losada, P. Profiling flavor compounds of potato crisps during storage using solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, **2005**, 1064, 239 - 245.
- [64] Guillén, M. D.; Cabo, N. C.; Ibargoitia, M. L.; Ruiz, A. Study of both sunflower oil and its headspace throughout the oxidation process. Occurrence in the headspace of toxic oxygenated aldehydes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2005**, 53, 1093 – 1101.
- [65] Park, Y. K.; Koo, M. H.; Carvalho, P. O. Recentes progressos dos alimentos funcionais. *Boletim SBCTA*, **1997**, 31(2), 200-206.
- [66] Fullana, A.; Carbonell-Barrachina, A. A.; Sidhu, S. Volatile aldehyde emissions from heated cooking oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2004**, 84(15), 2015 – 2021.
- [67] Siqueira, F. M.; Oetterer, M.; Regitano-D'Arce, M. A. B. Nutrientes antioxidantes. *Boletim SBCTA*, **1997**, 31(2), 192-199.
- [68] Osawa, C. C. Testes rápidos (kits) para avaliação da qualidade de óleos, gorduras e produtos que os contenham e sua correlação com os métodos oficiais da AOCS. Campinas, **2005**. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- [69] Cavalli, J. F.; Fernandez, X.; Lizzani-Cuvelier, L.; Loiseaun, A. M. Comparison of static headspace, headspace solid phase microextraction, headspace sorptive extraction, and direct thermal desorption techniques on chemical composition of french olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2003**, 51, 7709-7716.

## ANEXO A

**Tabela A1.** Taxas médias de emissão ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ )  $\pm$  desvio-padrão de triplicatas de CC por óleo de dendê em aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V = 0,23  $\text{cm}^{-1}$ .

CC	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	24h
Formaldeído	12,2 $\pm$ 1,0	103,3 $\pm$ 15,5	120,0 $\pm$ 8,0	113,3 $\pm$ 18,7	145,6 $\pm$ 14,7	175,8 $\pm$ 24,5	186,0 $\pm$ 21,3	166,4 $\pm$ 16,0	163,0 $\pm$ 19,9
Acetaldeído	n.d	343,4 $\pm$ 33,9	326,4 $\pm$ 32,7	353,7 $\pm$ 38,1	351,6 $\pm$ 33,8	359,7 $\pm$ 47,4	218,4 $\pm$ 26,1	350,0 $\pm$ 8,1	421,8 $\pm$ 25,6
Acroleína	149,2 $\pm$ 13,2	9363,6 $\pm$ 1123,6	7342,4 $\pm$ 807,7	6263,3 $\pm$ 696,7	6175,3 $\pm$ 741,0	7486,6 $\pm$ 825,5	6211,4 $\pm$ 695,2	5293,3 $\pm$ 635,4	2726,9 $\pm$ 291,9
Propanal	73,7 $\pm$ 9,9	199,3 $\pm$ 32,0	137,3 $\pm$ 23,2	147,4 $\pm$ 25,0	171,2 $\pm$ 26,2	264,3 $\pm$ 30,0	111,7 $\pm$ 19,1	325,4 $\pm$ 28,8	317,7 $\pm$ 24,2
Butanal	38,2 $\pm$ 2,2	234,2 $\pm$ 29,2	120,2 $\pm$ 15,5	201,9 $\pm$ 10,6	74,5 $\pm$ 9,7	135,4 $\pm$ 20,8	18,9 $\pm$ 4,0	221,1 $\pm$ 26,3	307,1 $\pm$ 31,1
Hexanal	162,9 $\pm$ 17,5	900,9 $\pm$ 75,2	672,3 $\pm$ 55,8	563,2 $\pm$ 58,7	559,2 $\pm$ 63,9	792,8 $\pm$ 79,7	659,0 $\pm$ 57,0	756,3 $\pm$ 76,7	702,2 $\pm$ 62,0
(E)-2-heptenal	58,5 $\pm$ 10,3	466,2 $\pm$ 60,7	525,3 $\pm$ 74,9	436,2 $\pm$ 60,8	516,1 $\pm$ 54,7	616,4 $\pm$ 64,8	572,3 $\pm$ 44,3	544,3 $\pm$ 72,3	146,4 $\pm$ 21,2
(E)-2-octenal	53,2 $\pm$ 9,1	215,2 $\pm$ 37,9	238,5 $\pm$ 20,4	207,3 $\pm$ 26,1	254,3 $\pm$ 31,7	299,8 $\pm$ 30,8	100,4 $\pm$ 14,2	236,7 $\pm$ 36,2	80,3 $\pm$ 7,1

\* n.d. = não-detectado

**Tabela A2.** Taxas médias de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ )  $\pm$  desvio-padrão de triplicatas de CC por óleo de soja em aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V=0,23  $\text{cm}^{-1}$ .

CC	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	24h
Formaldeído	n.d	32,8 $\pm$ 3,3	50,6 $\pm$ 7,9	35,4 $\pm$ 7,5	61,6 $\pm$ 11,5	59,1 $\pm$ 9,5	113,4 $\pm$ 11,0	79,5 $\pm$ 8,9	40,3 $\pm$ 4,7
Acetaldeído	n.d	58,3 $\pm$ 9,3	115,5 $\pm$ 15,7	168,5 $\pm$ 22,9	138,2 $\pm$ 13,1	116,0 $\pm$ 20,0	125,8 $\pm$ 14,0	175,8 $\pm$ 24,3	72,7 $\pm$ 10,4
Acroleína	206,0 $\pm$ 27,0	18154,7 $\pm$ 1551,7	14941,0 $\pm$ 1740,9	23999,8 $\pm$ 1948,1	14721,7 $\pm$ 1838,0	11837,6 $\pm$ 1238,6	20236,8 $\pm$ 1992,0	15056,2 $\pm$ 1657,8	16606,9 $\pm$ 1830,1
Hexanal	43,8 $\pm$ 9,1	357,9 $\pm$ 12,9	373,6 $\pm$ 4,6	472,6 $\pm$ 15,1	411,6 $\pm$ 5,93	417,8 $\pm$ 14,4	903,4 $\pm$ 11,0	492,8 $\pm$ 17,4	277,4 $\pm$ 4,5
(E)-2-heptenal	63,3 $\pm$ 1,9	380,8 $\pm$ 9,3	378,6 $\pm$ 9,6	375,0 $\pm$ 14,9	694,4 $\pm$ 8,6	375,8 $\pm$ 9,5	695,6 $\pm$ 21,8	782,7 $\pm$ 6,3	877,4 $\pm$ 3,7

\* n.d. = não-detectado

**Tabela A3.** Taxas médias de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ )  $\pm$  desvio-padrão de triplicatas de CC por óleo de dendê em aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V=0,43  $\text{cm}^{-1}$ .

CC	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	24h
Formaldeído	n.d	230,4 $\pm$ 18,4	270,3 $\pm$ 19,7	307,8 $\pm$ 31,8	295,9 $\pm$ 27,6	296,1 $\pm$ 33,6	237,9 $\pm$ 31,3	282,2 $\pm$ 24,3	269,7 $\pm$ 27,4
Acetaldeído	204,5 $\pm$ 16,5	633,1 $\pm$ 75,8	1068,1 $\pm$ 81,4	504,6 $\pm$ 65,4	365,5 $\pm$ 55,3	489,7 $\pm$ 51,4	871,3 $\pm$ 66,4	333,1 $\pm$ 51,3	359,7 $\pm$ 45,0
Acroleína	162,6 $\pm$ 6,2	38781,8 $\pm$ 1540,0	34992,2 $\pm$ 1232,4	26199,2 $\pm$ 960,0	21461,2 $\pm$ 1370,5	22190,2 $\pm$ 2051,4	18194,9 $\pm$ 973,8	25872,2 $\pm$ 1154,3	10214,7 $\pm$ 859,7
Propanal	72,7 $\pm$ 7,0	435,6 $\pm$ 33,7	125,3 $\pm$ 14,1	236,9 $\pm$ 25,2	243,5 $\pm$ 22,2	324,4 $\pm$ 46,2	456,2 $\pm$ 44,8	206,1 $\pm$ 27,9	264,8 $\pm$ 19,1
Butanal	14,6 $\pm$ 2,5	289,9 $\pm$ 28,7	194,7 $\pm$ 26,9	112,4 $\pm$ 23,7	335,7 $\pm$ 20,8	293,4 $\pm$ 27,8	300,6 $\pm$ 36,0	278,7 $\pm$ 28,8	521,6 $\pm$ 32,9
Hexanal	125,8 $\pm$ 15,7	3822,3 $\pm$ 352,0	1774,0 $\pm$ 206,5	2486,5 $\pm$ 304,6	2778,9 $\pm$ 295,2	3044,6 $\pm$ 315,0	2581,8 $\pm$ 296,7	2950,3 $\pm$ 370,1	2657,3 $\pm$ 335,3
(E)-2-heptenal	n.d	4022,0 $\pm$ 357,5	1812,3 $\pm$ 254,1	2401,0 $\pm$ 297,2	1796,3 $\pm$ 196,4	3889,8 $\pm$ 328,7	2758,8 $\pm$ 220,7	2755,5 $\pm$ 221,5	2326,4 $\pm$ 170,4
(E)-2-octenal	n.d	499,3 $\pm$ 40,7	286,0 $\pm$ 30,1	429,6 $\pm$ 35,5	256,9 $\pm$ 20,5	617,2 $\pm$ 54,3	478,0 $\pm$ 45,2	464,9 $\pm$ 51,1	632,4 $\pm$ 59,7

\* n.d. = não-detectado

**Tabela A4.** Taxas médias de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ )  $\pm$  desvio-padrão de triplicatas de CC por óleo de soja em aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V=0,43  $\text{cm}^{-1}$ .

CC	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	24h
Formaldeído	n.d	17,4 $\pm$ 1,4	13,5 $\pm$ 1,1	26,0 $\pm$ 2,9	36,5 $\pm$ 3,7	36,9 $\pm$ 3,9	35,6 $\pm$ 3,2	47,3 $\pm$ 4,4	152,9 $\pm$ 15,7
Acetaldeído	189,4 $\pm$ 17,2	310,4 $\pm$ 36,5	59,3 $\pm$ 5,4	356,4 $\pm$ 28,5	464,3 $\pm$ 51,0	398,5 $\pm$ 35,7	352,4 $\pm$ 30,5	255,6 $\pm$ 22,7	692,4 $\pm$ 54,7
Acroleína	315,9 $\pm$ 29,5	67371, 6 $\pm$ 6063,7	53968,8 $\pm$ 4317,5	61439, 0 $\pm$ 5529,5	50527, 2 $\pm$ 4042,5	47527,3 $\pm$ 3757,3	44118,5 $\pm$ 3623,8	36953,3 $\pm$ 2956,8	33680,7 $\pm$ 2728,4
Hexanal	n.d	1872,5 $\pm$ 167,2	885,8 $\pm$ 62,7	1781,1 $\pm$ 142,9	2002,9 $\pm$ 179,6	1769,5 $\pm$ 138,5	2103,2 $\pm$ 167,2	1556,8 $\pm$ 143,3	2656,3 $\pm$ 293,6
(E)-2-heptenal	n.d	1322,0 $\pm$ 145,4	1491,9 $\pm$ 132,9	1185,6 $\pm$ 105,7	1639,9 $\pm$ 139,7	1247,0 $\pm$ 112,7	1203,0 $\pm$ 110,1	1187,9 $\pm$ 126,7	1165,7 $\pm$ 114,3

\* n.d. = não-detectado

**Tabela A5.** Taxas médias de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ )  $\pm$  desvio-padrão de triplicatas de CC por óleo de dendê em aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V=0,77  $\text{cm}^{-1}$ .

CC	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	24h
Formaldeído	n.d	836,2 $\pm$ 75,3	1058,6 $\pm$ 97,4	782,4 $\pm$ 72,7	843,0 $\pm$ 77,8	774,2 $\pm$ 75,3	702,7 $\pm$ 78,3	699,1 $\pm$ 77,9	502,7 $\pm$ 62,1
Acetaldeído	351,6 $\pm$ 33,8	1866,8 $\pm$ 150,4	2782,0 $\pm$ 208,0	1433,9 $\pm$ 160,1	1794,1 $\pm$ 180,3	2291,3 $\pm$ 206,7	2242,2 $\pm$ 187,4	2150,6 $\pm$ 172,1	2129,9 $\pm$ 230,9
Acroleína	267,5 $\pm$ 23,0	39692,5 $\pm$ 3608,0	41524,5 $\pm$ 3738,5	2310,6 $\pm$ 278,3	17714,1 $\pm$ 1595,7	15038,3 $\pm$ 1203,6	11066,1 $\pm$ 1217,4	13616,7 $\pm$ 1089,4	2580,0 $\pm$ 270,3
Propanal	99,6 $\pm$ 8,1	1313,0 $\pm$ 117,1	1666,1 $\pm$ 133,8	679,9 $\pm$ 50,3	912,0 $\pm$ 85,0	1160,9 $\pm$ 95,7	1212,2 $\pm$ 110,1	1124,4 $\pm$ 125,8	1153,0 $\pm$ 126,3
Butanal	n.d	1422,2 $\pm$ 124,0	1558,7 $\pm$ 137,3	1164,9 $\pm$ 107,4	1393,7 $\pm$ 153,3	1597,1 $\pm$ 125,6	1560,3 $\pm$ 138,3	1546,7 $\pm$ 139,2	1443,2 $\pm$ 115,6
Hexanal	n.d	6653,2 $\pm$ 466,2	5715,1 $\pm$ 514,3	4961,0 $\pm$ 396,9	4969,9 $\pm$ 546,3	4760,0 $\pm$ 472,1	4842,9 $\pm$ 522,9	4219,5 $\pm$ 338,5	1599,0 $\pm$ 135,0
(E)-2-heptenal	n.d	4164,1 $\pm$ 337,3	2978,7 $\pm$ 269,2	2121,9 $\pm$ 212,7	2395 $\pm$ 262,4	1852,9 $\pm$ 184,2	2454,6 $\pm$ 218,4	1613,3 $\pm$ 128,6	174,1 $\pm$ 15,7
(E)-2-octenal	n.d	1055,6 $\pm$ 85,0	958,8 $\pm$ 95,1	659,0 $\pm$ 57,3	825,7 $\pm$ 91,8	707,2 $\pm$ 78,2	628,0 $\pm$ 70,1	631,7 $\pm$ 69,8	95,9 $\pm$ 10,5

\* n.d. = não-detectado



**Tabela A6.** Taxas de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ )  $\pm$  desvio-padrão de triplicatas de CC por óleo de soja em aquecimento contínuo a 180°C, na relação S/V=0,77  $\text{cm}^{-1}$ .

CC	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	24h
Formaldeído	n.d	104,0 $\pm$ 9,5	175,1 $\pm$ 18,6	139,6 $\pm$ 13,6	200,6 $\pm$ 18,4	238,2 $\pm$ 22,7	294,0 $\pm$ 30,3	292,2 $\pm$ 27,0	353,9 $\pm$ 27,2
Acetaldeído	n.d	629,4 $\pm$ 50,3	502,2 $\pm$ 57,2	417,2 $\pm$ 40,8	860,1 $\pm$ 79,4	668,3 $\pm$ 65,8	279,3 $\pm$ 31,2	389,0 $\pm$ 35,9	783,0 $\pm$ 61,4
Acroleína	1155,9 $\pm$ 100,3	38865,4 $\pm$ 3748,6	46646,6 $\pm$ 4185,9	35493,2 $\pm$ 3394,2	45997,7 $\pm$ 4317,5	33260,6 $\pm$ 3226,6	42284,4 $\pm$ 3805,5	28282,2 $\pm$ 2537,4	17166,4 $\pm$ 1355,1
Hexanal	195,4 $\pm$ 18,6	3024,6 $\pm$ 271,4	3107,4 $\pm$ 247,6	3974,5 $\pm$ 395,4	4147,2 $\pm$ 335,7	4564,5 $\pm$ 395,8	5798,0 $\pm$ 453,8	5105,2 $\pm$ 428,4	5178,3 $\pm$ 464,1
(E)-2-heptenal	n.d	1579,0 $\pm$ 160,9	1764,2 $\pm$ 193,1	2290,8 $\pm$ 252,0	2375,6 $\pm$ 262,3	2229,8 $\pm$ 235,8	3249,7 $\pm$ 356,2	2628,5 $\pm$ 210,8	1149,1 $\pm$ 105,2

\* n.d. = não-detectado

## ANEXO B

**Tabela B1.** Taxas de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ ) de CC por óleo de dendê em aquecimento descontínuo a 180°C, na relação S/V = 0,43  $\text{cm}^{-1}$ .

CC	0h	1h	8h	1h	8h	1h	8h
Formaldeído	n.d	119,7	136,4	111,6	100,3	204,6	105,7
Acetaldeído	197,6	648,8	n.d	415,9	61,2	902,3	276,3
Acroleína	186,8	7237,3	7751,5	5261,1	5019,8	6300,8	1928,1
Propanal	80,7	323,4	n.d	375,1	149,0	517,5	171,2
Butanal	32,9	153,6	n.d	328,0	269,5	815,5	181,8
Hexanal	59,0	856,8	633,6	835,0	1152,3	1077,9	232,0
(E)-2-heptenal	n.d	580,2	807,5	407,9	648,2	37,2	51,5
(E)-2-octenal	n.d	293,4	356,9	209,0	352,6	20,5	27,1

\* n.d = não-detectado

**Tabela B2.** Taxas de emissão ( $\mu\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$ ) de CC por óleo de soja em aquecimento descontínuo a 180°C, na relação S/V = 0,43  $\text{cm}^{-1}$ .

CC	0 h	1 h	8 h	1 h	8 h	1 h	8 h
Formaldeído	n.d	n.d	26,4	34,6	58,0	26,3	119,1
Acetaldeído	n.d	374,7	114,5	399,9	685,9	383,7	364,8
Acroleína	325,8	45586,4	45214,0	31198,6	43796,1	30739,9	9532,2
Hexanal	n.d	1201,3	1966,3	1670,9	806,5	2231,9	2167,3
(E)-2-heptenal	190,0	160,1	191,1	60,5	53,3	184,9	126,4

\* n.d = não-detectado