



Andréa dos Santos Vieira

**Influência do cobre(0) e cobre(II) sobre a
degradação de óleos de canola e de girassol
submetidos a estresse térmico**

Tese de Doutorado

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química do Departamento de Química da PUC-Rio como parte dos requisitos parciais para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Nicolás Adrián Rey
Coorientador: Prof. Ricardo Queiroz Aucélio

Rio de Janeiro
Maio de 2015



Andréa dos Santos Vieira

**Influência do cobre(0) e cobre(II) sobre a
degradação de óleos de canola e de girassol
submetidos a estresse térmico.**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof. Nicolás Adrián Rey

Orientador

Departamento de Química - PUC-Rio

Prof. Ricardo Queiroz Aucélio

Co-Orientador

Departamento de Química - PUC-Rio

Sônia Maria Cabral de Menezes

CENPES -RJ

Prof. Aldaléa Lopes Brandes Marques

UFMA

Profa. Camilla Djenne Buarque Müller

Departamento de Química - PUC-Rio

Dra. Adriana Doyle Maia de Oliveira Monte

PUC-Rio

Dra. Mônica Maria Jorge Vinhoza

PUC-Rio

Prof. José Eugênio Leal

Coordenador Setorial do Centro Técnico Científico- PUC-Rio

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, da autora e do orientador.

Andréa dos Santos Vieira

Possui mestrado em Química Inorgânica pela Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (1999) e graduação em Química (Licenciatura) pela Universidade Estadual do Rio de Janeiro - UERJ (1995). Atua no apoio à pesquisa do Laboratório de Análise e Caracterização Química da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Tem experiência na área de química analítica e bioinorgânica, com ênfase nos seguintes temas: petróleo, derivados e biocombustíveis.

Ficha Catalográfica

Vieira, Andréa dos Santos

Influência do cobre(0) e cobre(II) sobre a degradação de óleos de canola e de girassol submetidos a estresse térmico / Andréa dos Santos Vieira ; orientador: Nicolás Adrián Rey ; co-orientador: Ricardo Queiroz Aucélio. – 2015.

139 f. : il. ; 30 cm

Tese (doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2015.

Inclui bibliografia

CDD: 540

“Dedico este trabalho ao meu querido filho, Leonardo, por todo amor que me possibilitou transpor mais esta etapa da minha vida”.

Agradecimentos

À minha mãe por todo apoio não técnico, mas não menos importante, este trabalho é fruto de toda sua dedicação e amor.

À minha irmã por todo apoio, incentivo e amizade.

Às minhas amigas Fernanda Bürgel, Keyla Braga, Maria Dunlop e Mônica Maria Jorge Vinhoza, pelo incentivo e constante torcida para o meu sucesso.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Nicolás Adrián Rey e Prof. Dr. Ricardo Queiroz Aucélio pela competente e segura orientação, tornando possível a conclusão desta Tese.

À Profa. Dra. Judith Felcman pela oportunidade de realização desse trabalho.

Aos funcionários, colegas e amigos do LABIO/PUC-Rio, pela realização das análises, apoio técnico e, principalmente, pelo companheirismo.

Aos funcionários do LEEA/PUC-Rio pelo suporte técnico.

À PUC-Rio pela bolsa acadêmica.

À todas as pessoas que, de uma forma ou outra contribuíram para a realização deste trabalho.

E, principalmente a Deus que me permitiu vivenciar mais esta experiência, e com ela crescer e conhecer boas pessoas.

Resumo

Vieira, Andréa dos Santos; Rey, Nicolás Adrián; **Influência do cobre(0) e cobre(II) sobre a degradação de óleos de canola e de girassol submetidos a estresse térmico**. Rio de Janeiro, 2015. 139p. Tese de Doutorado – Departamento de Química, Pontifícia Universidade do Rio de Janeiro.

A qualidade dos óleos vegetais utilizados na produção de biocombustíveis está diretamente relacionada à qualidade do produto final. Como metais desempenham um papel significativo na oxidação do óleo vegetal, a sua presença é indesejável, mesmo em baixas concentrações. No presente trabalho, investigou-se como a presença de cobre, em diferentes estados de oxidação, cobre(0) ou cobre(II), afeta a estabilidade dos óleos de canola e girassol, auxiliando, assim, na compreensão dos mecanismos de oxidação dos mesmos. Óxido cúprico ou cobre metálico foram adicionados a amostras de óleo gerando suspensões contendo um teor de cobre equivalente a 2000 mg kg^{-1} . As amostras foram mantidas a $90 \text{ }^\circ\text{C}$ durante catorze dias. Periodicamente, foram retiradas alíquotas, que foram avaliadas quanto à estabilidade oxidativa através da determinação do índice de acidez, índice de iodo, espectroscopias de absorção nas regiões do UV-Vis e do infravermelho (FT-IR), espectroscopia Raman e do teste Rancimat®. Os resultados confirmam que o cobre (não importa a espécie) participa ativamente do processo de degradação dos óleos vegetais, sugerindo que as espécies de metal não apenas influenciam a taxa de oxidação, mas também a extensão dos processos de degradação. Os espectros FT-IR das amostras derivadas do óleo de canola mostraram um aumento na razão $(I_{2856}/I_{1747})_{tx}/(I_{2856}/I_{1747})_{t0}$, ou seja, uma diminuição dos grupos éster nas amostras de óleo contaminado com cobre. No entanto, não ocorreram alterações nas bandas com máximo em 1120 e 1098 cm^{-1} , indicando que este metal atua como um catalisador no processo de hidrólise das ligações éster. Além disso, as razões $(I_{2856}/I_{3009})_{tx}/(I_{2856}/I_{3009})_{t0}$ e $(I_{2856}/I_{3010})_{tx}/(I_{2856}/I_{3010})_{t0}$ medidas por espectroscopia no FT-IR para o óleo de

canola e para o óleo de girassol, respectivamente, e a razão $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_{t0}$ medida por espectroscopia Raman apresentaram um aumento mais pronunciado nas amostras contendo cobre. Contudo, os resultados obtidos sugerem que, durante a oxidação dos triglicerídeos, não ocorreu a quebra de ligações olefinicas, pois, embora tenha sido observado tanto por FT-IR como por Raman que a banda relacionada ao $\nu(\text{C-H})_{cis}$ diminuiu com o progresso da oxidação, não foi verificada significativa diminuição do índice de iodo, indicando que uma grande parte da oxidação nos óleos contaminados com cobre não envolveu diretamente a perda de duplas ligações, e sim a isomerização das duplas ligações *cis* direcionando a formação de produtos contendo ligações *trans*. Os dados deste trabalho indicam que o estado de oxidação +2 exerce um maior efeito catalítico do que o cobre na forma de partículas metálicas, uma vez que a diminuição no tempo de indução, assim como o aumento na formação de produtos secundários derivados de oxidação, acompanhada pela medição da absorvância a 270 nm, foi mais pronunciada nas amostras contaminadas com cobre(II). A extensão da isomerização das duplas ligações, acompanhada por FT-IR e espectroscopia Raman, apontam neste mesmo sentido. Além disso, a influência de um antioxidante natural, curcumina, também foi avaliada. Verificou-se que a sua adição às amostras de óleo contendo cobre(II) elevou a estabilidade frente aos ensaios realizados.

Palavras-chave

Óleo de canola; óleo de girassol; estabilidade oxidativa; degradação térmica; cobre; espectroscopia no FTIR; Raman.

Abstract

Vieira, Andréa dos Santos; Rey, Nicolás Adrián (advisor); **Influence of copper (0) and copper (II) on the degradation of canola and sunflower oils submitted to thermal stress**. Rio de Janeiro, 2015. 139p. DSc Thesis – Departamento de Química, Pontifícia Universidade do Rio de Janeiro.

The quality of vegetable oils used in biofuel production is directly related to the quality of the final product. As metals play a significant role in vegetable oil oxidation and degradation, their presence is undesirable, even at low concentrations. The present study investigated how the presence of copper, in different oxidation states, copper(0) or copper(II), affects the stability of canola and sunflower oil, thus aiding in the understanding of oil oxidation mechanisms. Cupric oxide or metallic copper were added to the oil samples generating suspensions containing overall copper amounts equivalent to 2000 mg kg⁻¹. The samples were maintained at 90 °C for fourteen days. Aliquots were taken periodically and evaluated with regard to oxidative stability, by determining the acid value, iodine value, by absorption UV-Vis and Infrared (FT-IR) spectroscopy, Raman spectroscopy and the Rancimat test. The results confirm that copper, no matter in what oxidation state, participates actively in vegetable oil degradation, suggesting that the metal species do not only influence the oxidation rate, but also the extent of the degradation processes. The FT-IR spectra of samples derived from copper-contaminated canola oil showed an increase in the $(I_{2856}/I_{1747})_{tx}/(I_{2856}/I_{1747})_{t0}$ ratio, i.e., a decrease of the ester groups. However, no changes in the bands with maximums at 1120 and 1098 cm⁻¹ were observed, indicating that this metal acts as a catalyst in the hydrolysis process of ester bonds. Furthermore, the $(I_{2856}/I_{3009})_{tx}/(I_{2856}/I_{3009})_{t0}$ and $(I_{2856}/I_{3010})_{tx}/(I_{2856}/I_{3010})_{t0}$ ratios measured by FT-IR spectroscopy, for canola and sunflower oil, respectively, and the $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_{t0}$ ratio measured by Raman spectroscopy showed a more pronounced increase in the copper-containing samples. However, the results also suggest that olefinic bonds did not rupture during triglyceride

oxidation, since, despite the fact that a decrease in the band related to *cis* C–H vibration was observed by both FT-IR and Raman during the oxidation progress, no reductions in the iodine value were observed, indicating that the majority of the oxidation in the copper-containing oils did not involve the loss of double bonds, but the isomerization of *cis* double bonds, directing the formation of products containing *trans* bonds. The results reported in this study indicate that copper in the (II) oxidation state exerts a greater catalytic effect than Cu in the form of metal particles, since the decrease in the induction time, as well as the increase in the production of secondary oxidation products, verified by measuring the absorption intensity at 270 nm, was more pronounced in samples contaminated with copper(II). The influence of a natural antioxidant, curcumin, on the oxidation stability of vegetable oils was also evaluated, and its addition to the oil samples containing copper(II) increased oil stability.

Keywords

Canola oil; sunflower oil; oxidative stability; thermal degradation; copper; spectroscopy; FT-IR; Raman.

Sumário

| | |
|---|----|
| 1. Introdução | 21 |
| 1.1 Óleos vegetais | 21 |
| 1.1.1 Canola | 22 |
| 1.1.2 Girassol | 24 |
| 1.2 Óleos vegetais como combustíveis | 26 |
| 1.3 Oxidação lipídica | 30 |
| 1.4 Abordagens para a avaliação da estabilidade oxidativa | 34 |
| 1.4.1 Valor ácido | 35 |
| 1.4.2 Índice de iodo | 35 |
| 1.4.3 Dienos conjugados | 38 |
| 1.4.4 Índice de estabilidade oxidativa | 39 |
| 1.4.5 Espectroscopia no infravermelho | 42 |
| 1.4.6 Espectroscopia Raman | 49 |
| 1.5 Influência dos metais sobre a estabilidade oxidativa dos óleos vegetais | 50 |
| 1.6 Antioxidantes | 52 |
| 2. Objetivos | 55 |
| 2.1 Objetivo Geral | 55 |
| 2.2 Objetivos Específicos | 55 |
| 3. Experimental | 56 |
| 3.1 Materiais e reagentes | 56 |
| 3.2 Equipamentos | 56 |
| 3.2.1 Instrumentos | 56 |
| 3.2.2 Equipamentos auxiliares | 57 |
| 3.3 Procedimentos | 58 |
| 3.3.1 Contaminação das amostras de óleo e amostragem | 58 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 3.3.2 | Índice de saponificação | 59 |
| 3.3.3 | Determinação do teor de cobre | 59 |
| 3.3.4 | Determinação do valor ácido | 60 |
| 3.3.5 | Determinação índice de iodo | 60 |
| 3.3.6 | Determinação da estabilidade oxidativa por Rancimat | 61 |
| 3.3.7 | Medições por espectroscopia de absorção no UV-vis | 62 |
| 3.3.8 | Medições por espectroscopia de absorção no infravermelho | 62 |
| 3.3.9 | Medições por espectroscopia de espalhamento Raman | 62 |
| 4. | Resultados e discussão | 63 |
| 4.1 | Óleo de canola | 63 |
| 4.1.1 | Teor de cobre | 63 |
| 4.1.2 | Índice de saponificação | 63 |
| 4.1.3 | Valor ácido | 64 |
| 4.1.4 | Índice de iodo | 66 |
| 4.1.5 | Estabilidade oxidativa por Rancimat | 67 |
| 4.1.6 | Espectroscopia de absorção no UV | 69 |
| 4.1.7 | Espectrometria de absorção no infravermelho | 72 |
| 4.1.8 | Espectroscopia de espalhamento Raman | 85 |
| 4.1.9 | Avaliação do conjunto de resultados | 88 |
| 4.2 | Óleo de Girassol | 90 |
| 4.2.1 | Teor de cobre | 90 |
| 4.2.2 | Índice de Saponificação | 90 |
| 4.2.3 | Valor ácido | 91 |
| 4.2.4 | Índice de iodo | 92 |
| 4.2.5 | Estabilidade oxidativa por Rancimat | 93 |
| 4.2.6 | Espectroscopia de absorção no UV | 95 |
| 4.2.7 | Espectroscopia de absorção no infravermelho | 97 |
| 4.2.8 | Espectroscopia de espalhamento Raman | 104 |
| 4.2.9 | Avaliação do conjunto de resultados | 106 |
| 4.3 | Estudo com o antioxidante natural curcumina | 107 |
| 4.3.1 | Teor de cobre | 107 |
| 4.3.2 | Índice de Saponificação | 107 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 4.3.3 | Valor ácido | 108 |
| 4.3.4 | Índice de Iodo | 109 |
| 4.3.5 | Rancimat | 109 |
| 4.3.6 | Espectroscopia de absorção no UV | 111 |
| 4.3.7 | Espectrometria de absorção no infravermelho | 113 |
| 4.3.8 | Espectroscopia de espalhamento Raman | 118 |
| 4.3.9 | Avaliação conjunta dos resultados | 122 |
| 5. | Conclusões | 123 |
| 6. | Referências bibliográficas | 127 |

Lista de siglas

| | |
|-------|--|
| ABNT | Associação Brasileira de Normas Técnicas |
| AOAC | Association of Official Analytical Chemists |
| AOCS | American Oil Chemists' Society |
| AOM | Active Oxygen Method |
| ASTM | American Society for Testing and Materials |
| EN | Européen de Normalisation |
| FFA | <i>Free Fatty Acid</i> |
| FT-IR | Transformada de Fourier – Infravermelho |
| II | Índice de iodo |
| IS | Índice de saponificação |
| ISO | International Organization for Standardization |
| IUPAC | International Union of Pure and Applied Chemistry |
| MID | Middle Infrared – Infravermelho Médio |
| NIR | Near Infrared – Infravermelho Próximo |
| OSI | Oil Stability Index |
| PLS | Partial Least Squares, Mínimos Quadrados Parciais |
| TAG | Triacil glicerídeo |
| UV | Ultravioleta |
| VA | Valor ácido |
| VP | Valor de peróxido |
| Vis | Visível |

Lista de tabelas

| | |
|--|-----|
| Tabela 1. Principais ácidos graxos presentes nos óleos vegetais. | 22 |
| Tabela 2. Características das oleaginosas canola e girassol (Adaptada da referência 18). | 26 |
| Tabela 3. Estimativa de teor de óleo de algumas espécies oleaginosas (Adaptada da referência 23). | 29 |
| Tabela 4. Características dos óleos vegetais, diesel e o biodiesel (Adaptada da referência 23). | 29 |
| Tabela 5. Índice de iodo de alguns compostos graxos insaturados (Adaptada da referência 37). | 37 |
| Tabela 6. Índice de iodo e composição de ácidos graxos de alguns óleos vegetais (adaptada da referência 37). | 37 |
| Tabela 7. Estabilidade oxidativa e teor de ácidos graxos em diferentes amostras de biodiesel (adaptada da referência 57). | 42 |
| Tabela 8. Índice de saponificação das amostras derivadas de óleo de canola. | 64 |
| Tabela 9. Índice de iodo ($\text{g I}_2/100 \text{ g}$) durante o experimento de oxidação para as amostras de óleo de canola puro e amostras de óleo de canola contendo cobre metálico e CuO mantidas a $90 \text{ }^\circ\text{C}$. | 67 |
| Tabela 10. Índice de saponificação das amostras derivadas de óleo de girassol. | 90 |
| Tabela 11. Índice de saponificação das amostras de óleo de canola e de óleo de girassol com adição de curcumina. | 107 |
| Tabela 12. Razão $\text{ICH}_2/\text{IC}=\text{C}$ após 14 dias de experimento de oxidação para as amostras derivadas de óleo de canola (OC) e amostras derivadas de óleo de girassol (OG) contaminadas com óxido de cobre (II) e mantidas a $90 \text{ }^\circ\text{C}$ em função da presença de curcumina. | 117 |
| Tabela 13. Razão $(\text{I}_{2856}/\text{I}_{3012})_{\text{tx}}/(\text{I}_{2856}/\text{I}_{3012})_{\text{t0}}$ no último dia do experimento (dia 14) medido por espalhamento Raman para as amostras de óleo de canola contaminado com óxido de cobre(II) e amostras de óleo de girassol contaminado com óxido de cobre (II) em função | 122 |

Lista de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1. Reação de formação de triacilglicerol. | 21 |
| Figura 2. Mecanismo de auto-oxidação dos lipídios. | 31 |
| Figura 3. Mecanismo de auto-oxidação do ácido oleico. | 32 |
| Figura 4. Mecanismo de auto-oxidação do ácido linoleico. | 33 |
| Figura 5. Mecanismo de auto-oxidação do ácido linolênico. | 33 |
| Figura 6. Formação de sistemas de duplas ligações conjugadas durante a oxidação de lipídeos poli-insaturados. | 38 |
| Figura 7. Representação gráfica dos três corantes da cúrcuma: I) curcumina (1,7 bis-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-diona), II) demethoxi-curcumina (1-(4-hidroxifenil)-7-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-diona) e III) bis-demethoxi-curcumina (1,7-bis(4hidroxifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-diona). | 53 |
| Figura 8. Mecanismo de ação para os antioxidantes fenólicos. | 54 |
| Figura 9. Valor ácido (VA_{tx}/VA_{t0}) medido para as amostras de óleo de canola puro e para as amostras de óleo de canola contaminadas com Cu (0) e CuO em função do tempo e na temperatura de 90 °C, sendo VA_{tx} o valor ácido medido em um tempo específico e VA_{t0} o valor ácido inicial. | 65 |
| Figura 10. Tempo de indução (TI) em função do tempo de estocagem para as amostras submetidas a aquecimento a 90 oC: a) óleo de canola puro; b) óleo de canola contaminado com partículas de cobre metálico e c) óleo de canola contaminado com CuO. | 68 |
| Figura 11. Absorvância no UV medida em 232 nm em função do tempo de aquecimento a 90 °C para as amostras de óleo de canola: ♦ óleo de canola puro; ■ óleo de canola contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de canola contaminado com CuO. | 70 |
| Figura 12. Absorvância no UV a 270 nm em função do tempo de aquecimento a 90 °C do óleo e canola: ♦ óleo de canola puro; ■ óleo de canola contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de canola contaminado com CuO. | 71 |

- Figura 13.** Mecanismo de formação de produtos secundário da oxidação lipídica. 72
- Figura 14.** Isômeros posicionais 9 dieno-hidroperóxidos e 13 dieno-hidroperóxidos. 72
- Figura 15.** Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) do óleo de canola puro usado como referência. 73
- Figura 16.** Variação da razão $(I_{2856}/I_{3009})_{tx}/(I_{2856}/I_{3009})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: ♦ óleo de canola puro; ■ óleo de canola contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de canola contaminado com CuO. 75
- Figura 17.** Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de canola contaminadas com CuO: logo após a contaminação (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C. 78
- Figura 18.** Representação dos modos de estiramento em um éster e seus respectivos números de onda. 79
- Figura 19.** Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de canola contaminadas com cobre metálico: logo após a contaminação, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C. 80
- Figura 20.** Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de canola puro logo após a contaminação, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C. 80
- Figura 21.** Variação da razão $(I_{2856}/I_{1747})_{tx}/(I_{2856}/I_{1747})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: ♦ óleo de canola puro; ■ óleo de canola contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de canola contaminado com CuO. 81
- Figura 22.** Mecanismo da hidrólise da ligação éster na presença de cobre. 82
- Figura 23.** Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) do óleo de canola contaminadas com Cu metálico: logo após a contaminação, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C. 83

- Figura 24.** Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de canola contaminadas com CuO: logo após a contaminação, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C. 84
- Figura 25.** Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de canola puro: antes de ser submetido a aquecimento, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C. 85
- Figura 26.** Espectro de espalhamento Raman do óleo de canola puro antes de ser submetido a estresse oxidativo. 86
- Figura 27.** Variação da razão $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: ♦ óleo de canola puro; ■ óleo de canola contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de canola contaminado com CuO. 88
- Figura 28.** Valor ácido (VA_{tx}/VA_{t0}) medido para as amostras de óleo de girassol (OG) puro e para as amostras de óleo de girassol contaminadas com Cu(O) e CuO em função do tempo e na temperatura de 90 °C, sendo VA_{tx} o valor ácido medido em um tempo específico e VA_{t0} o valor ácido inicial. 91
- Figura 29.** Tempo de indução (TI) em função do tempo de estocagem para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: a) óleo de girassol puro; b) óleo de girassol contaminado com partículas de Cu metálico e c) óleo de girassol contaminado com CuO. 93
- Figura 30.** Imagem das amostras óleo de canola contaminada com CuO e de óleo de girassol contaminada com CuO ao final do teste Rancimat. 94
- Figura 31.** Absorvância no UV medida em 232 nm em função do tempo de aquecimento a 90 °C para as amostras de óleo de girassol: ♦ óleo de girassol puro; ■ óleo de girassol contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de girassol contaminado com CuO. 96
- Figura 32.** Absorvância no UV medida em 270 nm em função do tempo de aquecimento a 90 °C para as amostras de óleo de girassol: ♦ óleo de girassol puro; ■ óleo de girassol contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de girassol contaminado com CuO. 97

- Figura 33.** Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) do óleo de girassol puro usado como referência. 98
- Figura 34.** Variação da razão $(I_{2856}/I_{3010})_{tx}/(I_{2856}/I_{3010})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: ♦ óleo de girassol puro; ■ óleo de girassol contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de girassol contaminado com CuO. 99
- Figura 35.** Variação da razão $(I_{2856}/I_{1746})_{tx}/(I_{2856}/I_{1746})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: a♦ óleo de girassol puro; ■ óleo de girassol contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de girassol contaminado com CuO. 101
- Figura 36.** Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de girassol puro: antes de ser submetido a aquecimento, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C. 102
- Figura 37.** Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) do óleo de amostras de girassol contaminadas com Cu metálico: logo após a contaminação, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C. 103
- Figura 38:** Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de girassol contaminadas com CuO: logo após a contaminação, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C. 103
- Figura 39.** Espectro de espalhamento Raman do óleo de girassol puro antes de ser submetida a estresse oxidativo. 104
- Figura 40.** Variação da razão $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: ♦ óleo de girassol puro; ■ óleo de girassol contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de girassol contaminado com CuO. 105
- Figura 41.** Valor ácido (VA_{tx}/VA_{t0}) medido para as amostras de óleo de canola contaminado com CuO e curcumina e para as amostras de óleo girassol contaminado com CuO e curcumina em função do tempo e na temperatura de 90 °C, sendo VA_{tx} o valor ácido medido em um tempo específico e VA_{t0} o valor ácido inicial. 108
- Figura 42.** Tempo de indução em função do tempo de estocagem para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: a) óleo de

canola contaminado com CuO e curcumina; b) óleo de girassol contaminado óleo de canola com CuO e curcumina. 110

Figura 43. Absorvância no UV medida em 232 nm em função do tempo de aquecimento a 90 °C para as amostras de óleo de canola: ♦ óleo de canola contaminado com CuO e curcumina; e ■ óleo de girassol contaminado com CuO e curcumina. 111

Figura 44. Absorvância no UV medida em 270 nm em função do tempo de aquecimento a 90 °C para as amostras de óleo de canola: ♦ óleo de canola contaminado com CuO e curcumina; e ■ óleo de girassol contaminado com CuO e curcumina. 112

Figura 45. Espectro de absorção no infravermelho (FTIR) da amostra de óleo de canola contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina. 113

Figura 46. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) da amostra de óleo de girassol contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina 114

Figura 47. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) da curcumina. 115

Figura 48. Variação da razão $(I_{2856}/I_{3009})_{tx}/(I_{2856}/I_{3009})_{t0}$ para as amostras: ♦ de óleo de canola contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina.; e variação da razão $(I_{2856}/I_{3010})_{tx}/(I_{2856}/I_{3010})_{t0}$ ■ de óleo de girassol contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C. 116

Figura 49. Variação da razão $(I_{2856}/I_{1746})_{tx}/(I_{2856}/I_{1746})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: ♦ óleo de canola contaminado com óxido de cobre (II) e na presença de curcumina; e ■ óleo de girassol contaminado com óxido de cobre(II) e na presença de curcumina. 118

Figura 50. Espectro de espalhamento Raman de amostras de óleo de canola contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina e antes de ser submetida a estresse oxidativo. 119

Figura 51. Espectro de espalhamento Raman de amostras de óleo de girassol contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina e antes de ser submetida a estresse oxidativo. 119

Figura 52. Espectro de espalhamento Raman da curcumina, antioxidante utilizado neste estudo. 120

Figura 53. Variação da razão $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: ♦ amostras de óleo de canola contaminado com óxido de cobre(II) contendo curcumina; ■ amostras de óleo de girassol contaminado com ó óxido de cobre (II) contendo curcumina. 121

1. Introdução

1.1 Óleos vegetais

Os óleos vegetais são formados predominantemente por triacilgliceróis, produtos da esterificação entre o glicerol e ácidos graxos de cadeia longa (Figura1), na maioria das vezes insaturados [1].

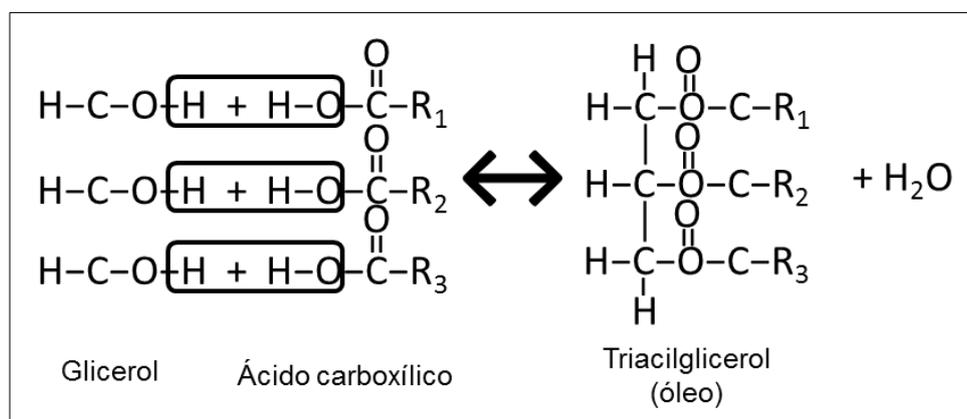
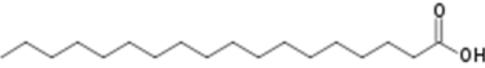
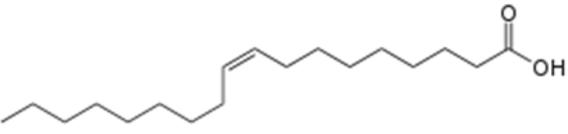
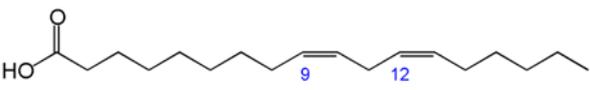
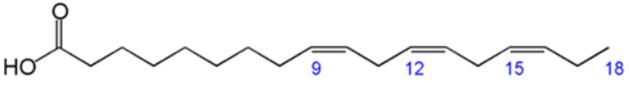


Figura 1. Reação de formação de triacilglicerol.

A demanda por combustíveis alternativos provenientes de fontes renováveis, ambientalmente corretas e sustentáveis, vem se expandindo rapidamente e o uso de óleo vegetal em motores demonstrou ser uma alternativa.

Os principais ácidos graxos presentes nos óleos vegetais estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Principais ácidos graxos presentes nos óleos vegetais.

| Ácido graxo | Fórmula estrutural | Nome IUPAC |
|------------------|--|---|
| Ácido esteárico |  | ácido octodecanóico |
| Ácido oleico |  | ácido <i>cis</i> -9-octadecenóico |
| Ácido linoléico |  | ácido <i>cis,cis</i> -9,12-octadecadienóico |
| Ácido linolênico |  | ácido <i>cis,cis,cis</i> -9,12,15-octadecatrienóico |

As produções de óleo de canola e de girassol para uso como combustível podem ser consideradas incoerentes por serem óleos nobres para alimentação humana (ricos em ácidos graxos poli-insaturados). Porém, o cultivo dessas espécies pode contribuir para o desenvolvimento de pequenas agroindústrias. Além disso, a diversificação de espécies é importante para se reduzir a capacidade ociosa das indústrias de esmagamento e de extração, que assim passam a receber matéria-prima em vários meses do ano e não apenas após a colheita de uma espécie [2-3].

1.1.1 Canola

As origens da canola estão ligadas ao cultivo de sementes oleaginosas conhecidas como semente de colza [4]. A história relata que as civilizações antigas da Ásia e Europa usavam o azeite de colza como combustível para suas lâmpadas. Embora esta semente tenha sido cultivada na Europa durante o século XXIII, seu uso somente se intensificou após o desenvolvimento da energia a vapor, quando se descobriu que seu óleo aderiu muito melhor nas superfícies metálicas banhadas por água ou vapor do que qualquer outro lubrificante. Antes

da Segunda Guerra Mundial, a semente de colza era cultivada no Canadá em pequenas quantidades. Contudo, em função do crescente número de máquinas a vapor, tanto para barcos mercantes como para as marinhas de guerra aliadas, surgiu a necessidade de um aumento na produção de colza canadense [5].

O primeiro óleo comestível da semente de colza foi produzido em 1956. Contudo, todas as variedades das sementes de colza colhidas produziam um óleo com alto teor de ácidos erúricos, tóxicos para consumo humano [5]. Por este motivo, no início da década de setenta o *Health and Welfare Department* do governo canadense recomendou que fosse produzida uma variedade de sementes de colza com baixo teor de ácido erúrico, limitando a 5% o seu conteúdo nos produtos alimentícios. Paralelamente descobriu-se que a fração de proteínas da semente continha glucosinolatos. A presença do glucosinolato na torta limita a utilização deste resíduo, rico em proteínas de boa qualidade, na alimentação animal, devido ao seu efeito sobre as tireóides (hipertireoidismo ou bócio). Em 1974, Dr. Baldur Stefansson, um fitogeneticista da Universidade de Manitoba, desenvolveu a primeira variedade com níveis reduzidos de ácido erúrico e glucosinolatos. A alimentação de animais com óleo de colza com teores elevados do ácido erúrico retarda o crescimento e afeta morfológica, bioquímica e funcionalmente vários órgãos, sendo pelo comitê do Codex impróprio para uso comestível [6]. Essa variedade, conhecida como Tower, foi a primeira a preencher os requisitos de qualidade utilizados para identificar o cultivo de sementes melhoradas, conhecida pelo nome de canola [7].

O nome canola foi inicialmente registrado pelo *Western Canadian Oil seed Crushers Association* para referir-se ao óleo, torta, semente e farelo provenientes de variedades que contêm 5% ou menos de ácido erúrico no óleo e cinco miligramas ou menos de glucosinolatos na torta. O nome canola veio assim da contração de *CANadian Oil Low Acid*. Em 1980, os direitos de registro da marca canola foram transferidos para o Conselho da Canola que modificou os requisitos determinando que o óleo deveria conter 2% ou menos de ácido erúrico e os componentes sólidos da semente deveriam conter menos que 30 μmol de glucosinolatos por grama de amostra [7].

O óleo de canola é um dos mais saudáveis, pois possui elevada quantidade de ômega-3, que reduz a concentração de triglicerídeos no sangue e controla arteriosclerose, além de vitamina E, e um menor teor de gordura saturada [8]. Além disso, esse óleo possui ácidos graxos poli-insaturados que são essenciais para o organismo humano e deve ser incluído na dieta alimentar, já que não podem ser sintetizados pelo organismo. A torta de canola é definitivamente o alimento mais adequado para o gado e para as aves confinadas, com um conteúdo ligeiramente elevado de glucosinolatos (no caso a produzida anteriormente no Canadá) ou a com elevado teor de glucosinolatos (as produzidas em outras partes do mundo). [9].

A canola é o terceiro grão de maior importância econômica no mundo, e teve seu cultivo consolidado no Brasil há pouco mais de cinco anos. No Brasil, esse grão constitui uma alternativa para a diversificação de culturas de inverno e geração de renda [10], constituindo uma excelente opção de cultivo com a destinação à alimentação humana, bem como para fins agroenergéticos, especialmente para a exportação à Europa e outros países com invernos rigorosos [11].

O Canadá e os Estados Unidos produzem entre sete e 10 milhões de toneladas de sementes de canola por ano. Exportações canadenses anuais totalizam de 3 a 4 milhões de toneladas de semente, 800 mil toneladas de óleo de canola, e um milhão de toneladas de farelo de canola. A produção mundial deste óleo na temporada 2010-2011 foi estimada em 58,4 milhões de toneladas. [12. O levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) sobre a produção de canola mostra que foram colhidas cerca de 70 mil toneladas do grão na safra 2010/2011, o que representa aumento de 65% em relação à safra anterior [10].

1.1.2 Girassol

O Girassol recebe esse nome porque sua flor acompanha a trajetória do sol, do nascente ao poente. Originário da América do Norte, as sementes dessa planta eram utilizadas pelos índios como alimento. Ao ser introduzido na Europa e na

Ásia, no século XVI, a beleza da flor conquistou espaço como planta ornamental e hortaliça [13]. Seu cultivo é econômico e rústico, não requerendo maquinário especializado. O ciclo vegetativo dessa cultura é curto e se adapta perfeitamente a condições de solo e clima pouco favoráveis [14].

Por ter suas raízes do tipo pivotante (uma raiz central mais grossa de onde partem várias ramificações de raízes menores) ocorre uma considerável reciclagem de nutrientes. Além da matéria orgânica deixada no solo pela sua morte, as hastes podem originar material para forração acústica¹ e junto com as folhas podem ser ensiladas² [14].

A matéria orgânica do girassol também é usada em adubação verde por causa de seu desenvolvimento inicial rápido, eficiência da planta na reciclagem de nutrientes e por ser um agente protetor de solos contra a erosão e a infestação de espécies invasoras [14].

O potencial do girassol como óleo vegetal foi descoberto pelos russos e hoje a planta é cultivada em todos os continentes. Só em princípios do século XVI começou verdadeiramente difusão da cultura do girassol na Europa devido à sua utilização como planta oleaginosa para a extração de óleo. Das flores podem ser extraídos de 20 a 40 quilos de mel / hectare, de onde se originam as sementes, que podem ser consumidas pelo homem e pelos animais [15].

O girassol é uma importante alternativa para os sistemas agrícolas brasileiros e atende à demanda crescente por um óleo de melhor qualidade. Em 2012, a área cultivada no Brasil foi de 74,2 mil hectares, com rendimento médio de 1565 kg/ha. A região Centro-Oeste responde por 63.5% da produção nacional, sendo Mato Grosso o estado com maior área cultivada: 47,1 mil ha e produtividade média de 1686 kg/ha [16].

¹ Forração acústica refere-se à capacidade de a vegetação em formar uma barreira, impedindo que a onda sonora se propague. São plantas tolerantes às diferentes condições climáticas, contudo, não são resistentes ao pisoteio.

² Ensilagem é um método de conservação de forragem para alimentação animal baseado na fermentação láctica da matéria vegetal.

O óleo obtido das sementes do girassol possui mais de 80% dos seus ácidos graxos insaturados, linoléico na maior parte. Isto demanda o uso de aditivos para sua estabilização visando o armazenamento e a formação de estoques logísticos. Como hoje este óleo ainda apresenta cotações de mercado acima dos de soja e canola, esta cultura não oferece a melhor perspectiva como alternativa energética. Contudo, pode ser uma solução viável para a produção de energia renovável em pequena escala, a fim de atender os interesses regionais, e reduzir também a dependência de energia fóssil [21].

1.2 Óleos vegetais como combustíveis

Para o desenvolvimento do presente estudo, foram escolhidos os óleos de canola e de girassol por serem suas oleaginosas culturas competitivas, apresentando elevado teor de óleo, facilidade de extração, além de elevado rendimento de óleo por hectare [18-19], como pode ser observado na Tabela 2. A área semeada com canola no Brasil cresceu de forma linear de 2008 a 2011, quando atingiu 59.100 ha. Em 2015, a área semeada com canola no Brasil foi de 53.610 ha, 8 % de expansão em relação à safra anterior [18]. O girassol é uma das oleaginosas com potencial de expansão no Brasil; sendo crescente possibilidade de produção de óleo de girassol para alimentação e para biodiesel [19]. Além disso, enquanto o óleo de canola possui elevador teor do ácido oleico (monoinsaturado), o óleo de girassol apresenta teores mais elevados do ácido linoléico (poliinsaturado), permitindo assim uma melhor avaliação da influência da adição de cobre sobre a degradação térmica.

Tabela 2. Características das oleaginosas canola e girassol (Adaptada da referência 18).

| Planta Oleogênosa | Teor de Óleo | Produtividade (kg/ha.ano) | Ciclo (dias) | Teor de ácido oleico (%) | Teor de ácido linoléico (%) |
|----------------------|-----------------|------------------------------|-----------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Canola | 38-40 | 1800 | 100-130 | 52-67 | 16-24 |
| Girassol | 40-45 | 1500 | 90-130 | 14-39 | 48-74 |

A consciência ambiental da população evoluiu em função do aumento da poluição atmosférica nos grandes centros urbanos (poluição automotiva e decorrente da geração de termoeletricidade) forçando os governos a intensificar a procura por combustíveis alternativos provenientes de fontes renováveis, ambientalmente corretas e sustentáveis. Desde então, a demanda por combustíveis renováveis vem se expandindo rapidamente [2].

Considera-se uma fonte alternativa renovável qualquer fonte de energia capaz de se regenerar dentro do ciclo de vida de sua utilização e que possa ser utilizada pelas gerações futuras [20].

Uma das fontes renováveis mais importantes, principalmente em países com significativa produção agropecuária como o Brasil, é a biomassa. Para a matriz energética brasileira, biomassa é toda matéria orgânica que possa ser transformada em energia mecânica, térmica ou elétrica [3].

De acordo com a definição técnica da Lei nº 9.478, de 6 de agosto de 1997, biocombustível é todo combustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna; ou, conforme regulamento, para outro tipo de geração de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil. [21].

Comparado aos combustíveis fósseis, a queima dos biocombustíveis apenas devolve à atmosfera uma parte do carbono que a planta fixou pela fotossíntese (por isso se diz que é neutro em termos de CO₂) [22].

Entre os biocombustíveis usados destacam-se: i) o biodiesel usado nos motores a diesel tradicionais, sem necessidade de adaptações; ii) o álcool, usado em motores adaptados; iii) o biogás, para geração de energia térmica, elétrica ou mecânica, em motores apropriados ou adaptados; e iv) o óleo vegetal, que em estado natural, é menos conhecido como combustível para motores, mas seu uso está se intensificando nos motores a diesel [23].

Em 1900, durante a Exposição Universal realizada em Paris, Rudolph Diesel testou o óleo de amendoim e outros óleos vegetais em sua nova invenção, o motor a combustão interna (motor diesel). Esse foi o início do uso de óleo vegetal como combustível. Na época, porém, o petróleo era barato e acabou sendo preferido como combustível para esses motores [24]. Na segunda metade do

século XX ocorreram crises no mercado mundial de petróleo, especificamente nas décadas de 1970 e 1990, aumentando a demanda por energia, o que impeliu vários países à busca por alternativas energéticas.

Ao contrário da gasolina e do diesel obtidos do petróleo, o óleo vegetal é renovável, livre de enxofre e de metais como vanádio (V), níquel (Ni) e mercúrio (Hg) na sua composição. Ele pode ser produzido em países com as mais variadas condições climáticas, além de ser um combustível seguro, pois é pouco volátil e tem um ponto de fulgor em torno de 200°C, de modo que não é inflamável e nem explosivo, podendo ser armazenado sem riscos por longos períodos. O menor custo de produção pode ser alcançado em alta escala aproveitando-se da produção tanto de grandes como pequenos produtores, possibilitando a descentralização [25].

No caso do uso de óleo vegetal em motores, alguns benefícios podem ser citados [22]: i) economia de custo de produção se feito em alta escala; ii) equivalência no desempenho dos veículos; iii) adequação a diferentes motores em mistura com diesel ou uso de óleo vegetal puro, com adaptação do equipamento; iv) diversidade de fontes vegetais para obtenção do óleo e v) possibilidade de aproveitamento de coprodutos, sem poluição do ambiente. Adicionalmente, o óleo vegetal é biodegradável, causando baixo impacto nos compartimentos ambientais.

O uso de óleo vegetal em motores é uma alternativa viável e vantajosa, tanto pelo balanço energético e custo menor, quanto pelo seu aproveitamento integral, sem as perdas que ocorrem no craqueamento e na transesterificação observadas no diesel e no biodiesel, respectivamente [24]. Ele pode ser extraído de diversas espécies de plantas que crescem em diferentes condições de clima e solo. No Brasil, a diversidade de plantas oleaginosas é enorme, representadas por espécies como: dendê, macaúba, babaçu, tucum, coco, buriti, noz pecã, castanha, macadâmia, pinhão, amendoim, soja, canola, nabo forrageiro, pinhão-manso, tungue, girassol, algodão, linhaça, gergelim, crambe, cártamo, nim e moringa, dentre muitas outras [2]. Na Tabela 3 é apresentada uma estimativa do teor de óleo vegetal de algumas espécies cultivadas. Nela pode ser verificado que as plantas que têm um menor teor de óleo são a soja e o algodão, ficando todas as demais com um teor de óleo próximo a 50%.

Tabela 3. Estimativa de teor de óleo de algumas espécies oleaginosas (Adaptada da referência 23).

| Espécie | Girassol | Algodão | Linhaça | Babaçu | Mamona | Canola | Soja |
|-------------------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Teor de óleo (%) | 35 – 52 | 15 – 25 | 30 – 48 | 55 – 65 | 40 – 50 | 40 – 50 | 18 – 22 |

É possível misturar ao diesel de 15% a 50% de óleo vegetal em motores a diesel de pré-câmaras e TDI (Turbo Diesel Injection) convertidos [3].

Graças à maior lubricidade, o desempenho dos motores movidos a óleo vegetal é equivalente aos movidos a diesel e um pouco melhor que por biodiesel. Contudo, o óleo vegetal requer rigorosa padronização e controle de qualidade devido às potenciais contaminações durante o processo de extração e estocagem [24].

Na Tabela 4 são apresentadas algumas características dos óleos vegetais em comparação com o diesel e o biodiesel. Verifica-se que os óleos vegetais são mais densos e muito mais viscosos e possuem ponto de fulgor mais elevado, sendo as outras características apresentadas semelhantes.

Tabela 4. Características dos óleos vegetais, diesel e o biodiesel (Adaptada da referência 23).

| | Óleo de canola | Óleo de soja | Diesel | Biodiesel |
|--|----------------|--------------|---------------|-----------|
| Densidade (g/cm³) | 0,91–0,93 | – | 0,82–0,85 | 0,86–0,90 |
| Viscosidade a 40°C (mm²s) | 38 | 36,8 | 2- 4,5 | 3,5–5,0 |
| Facilidade de ignição (índice de cetanas) | 40–42 | 36–39 | 51–56 | 50 |
| Valor calorífico (kJ/kg) | 35.000 | 39.950 | 41.400–43.500 | 36.200 |
| Ponto de fulgor (°C) | 220 | – | 50–80 | 120–135 |

Em termos de custo, qualquer óleo vegetal se torna vantajoso em relação ao diesel e chega a ser 40% mais barato que o biodiesel, motivo pelo qual já existe na Europa grande quantidade de veículos movidos a óleo vegetal, principalmente de canola [22].

1.3 Oxidação lipídica

A estabilidade oxidativa das moléculas de triglicerídeos derivados de ácidos graxos presentes nos óleos vegetais tem grande importância no mercado econômico mundial, que busca alternativas ao uso do combustível fóssil. Os principais fatores responsáveis pelo processo de degradação desses lipídeos são a exposição à atmosfera de oxigênio, a presença de metais e a temperatura na qual são armazenados [1].

A oxidação lipídica é um processo complexo e variável, dependendo do tipo de óleo e condições de oxidação. Uma grande variedade de produtos finais pode ser identificada, sendo os mais importantes os hidroperóxidos, álcoois e aldeídos. Umidade, hidrocarbonetos, ácidos graxos livres, ésteres e cetonas podem também ser produzidos. Há também significativa isomerização *cis-trans*, e conjugação das duplas ligações nos hidroperóxidos formados.

O mecanismo de auto-oxidação dos lipídios pode ser descrito em várias etapas [1,26-28]. Os radicais livres (R^\cdot) são formados de moléculas de lipídios (RH) pela reação com o oxigênio em presença de um catalisador como, por exemplo, a luz e o calor (reação a da Figura 2). Ácidos graxos insaturados, especialmente ácidos di e tri-insaturados, são mais facilmente convertidos a radicais livres do que ácidos graxos saturados, pois um átomo de hidrogênio é mais facilmente abstraído da molécula se uma dupla ligação está localizada no átomo de carbono adjacente. Na etapa de propagação (reação b da Figura 2), os radicais livres reagem com o oxigênio para formar radicais peroxil (ROO^\cdot). Radicais peroxil possuem alta energia e então, podem abstrair um átomo de hidrogênio de outra molécula de lipídio. O radical peroxil é então convertido a uma molécula de hidroperóxido lipídico (ROOH) gerando outro radical lipídico (reação c da Figura 2). Assim, uma mistura de hidroperóxidos é produzida. A

estrutura desses hidroperóxidos depende da estrutura do ácido graxo original. Esse processo pode se repetir por muitas vezes.

Hidroperóxidos, especialmente aqueles derivados de ácidos graxos poli-insaturados, são muito instáveis e se decompõem, resultando no acúmulo de produtos de oxidação secundária como aldeídos, cetonas e dienos conjugados. Esta etapa é catalisada por traços de metais ou íons metálicos.

Na etapa de terminação (reações d –f da Figura 2) ocorre a reação em cadeia entre os próprios radicais (R^\cdot), produzindo dímeros e polímeros. Lipídios oxidados contêm uma mistura de todos os produtos secundários.

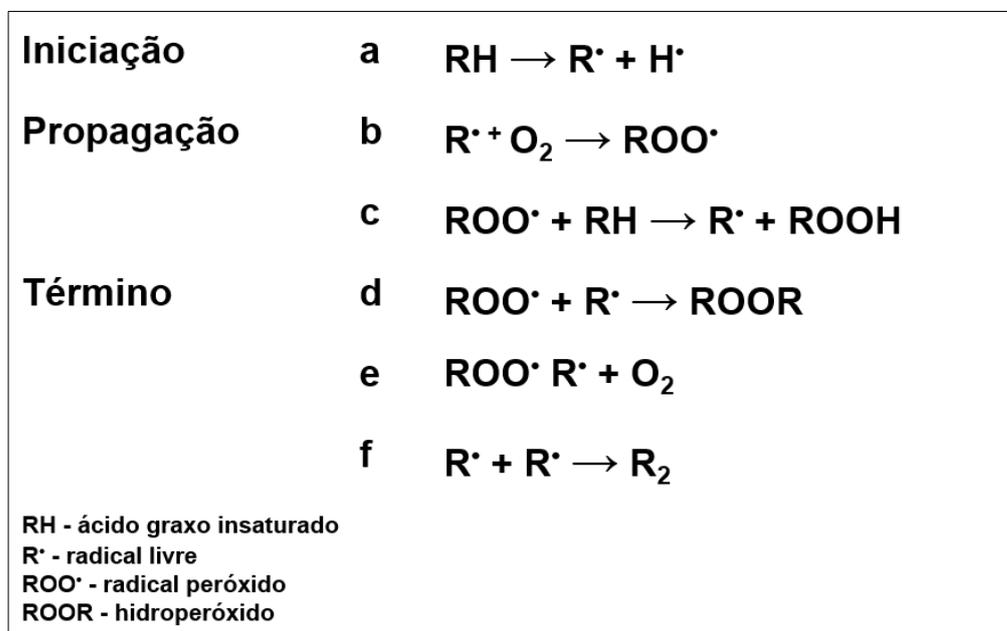


Figura 2. Mecanismo de auto-oxidação dos lipídios.

Os produtos de oxidação lipídica secundários são também instáveis; aldeídos em particular são muito reativos. Aldeídos facilmente se oxidam a peroxiácidos, que são também instáveis e se decompõem em uma mistura de outros produtos.

No ácido oléico a auto-oxidação envolve a abstração de hidrogênio do carbono 8 com a formação de dois radicais alílicos (Figura 3). Esses radicais intermediários reagem com oxigênio produzindo uma mistura de 8, 9, 10, 11 hidroperóxidos [26].

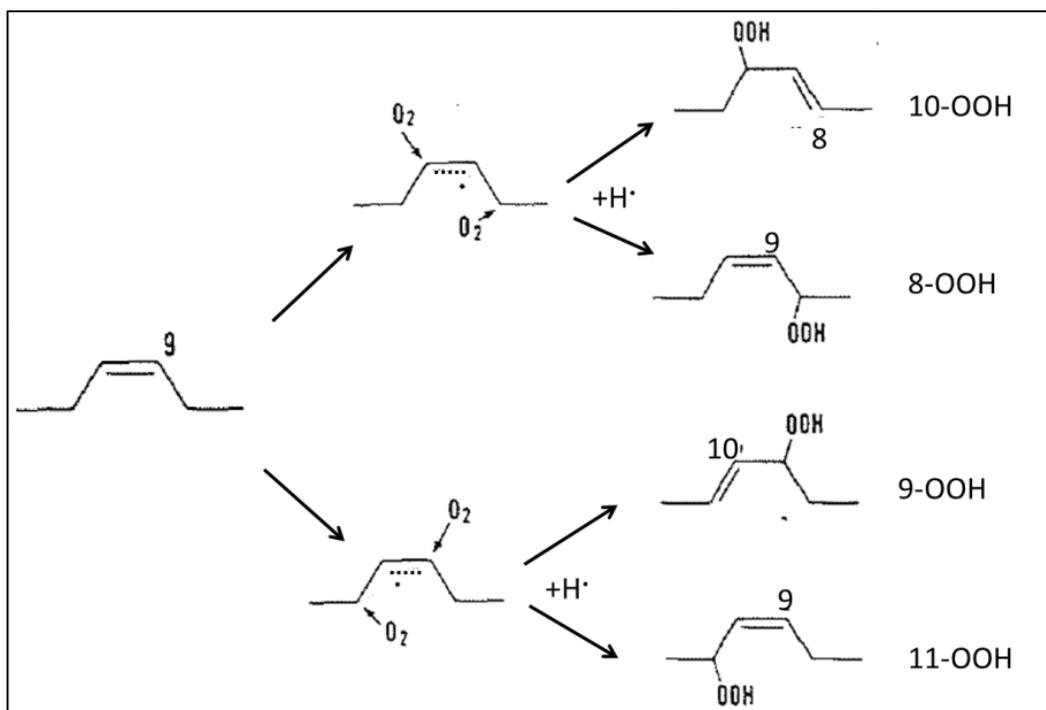


Figura 3. Mecanismo de auto-oxidação do ácido oleico.

Na Figura 4 observa-se que na auto-oxidação do ácido linoleico, o hidrogênio é abstraído da dupla ligação alílica no carbono 11 produzindo um radical pentadienil. Esse radical intermediário reage com oxigênio produzindo uma mistura de 9 e 13 dieno-hidroperóxidos [26].

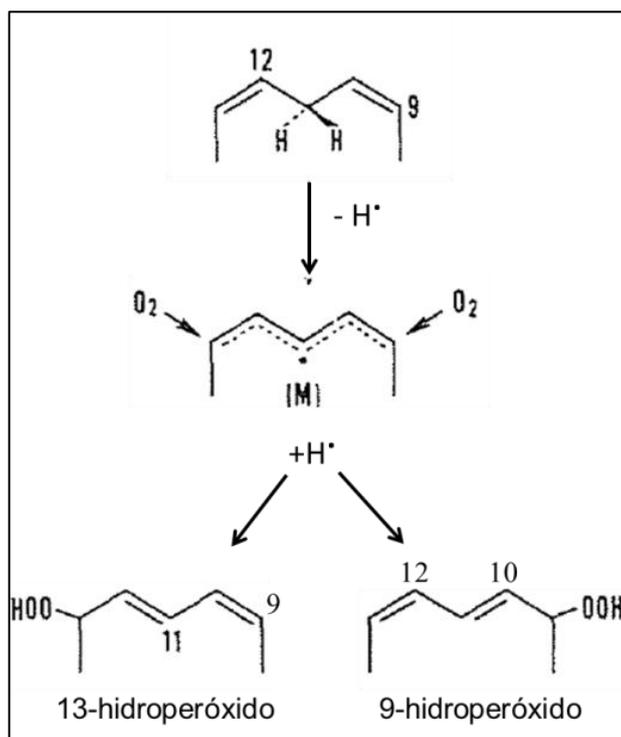


Figura 4. Mecanismo de auto-oxidação do ácido linoleico.

Na auto-oxidação do ácido linolênico (Figura 5), a abstração de hidrogênio nos carbonos 11 e 14 produz dois radicais pentadienil. Esses radicais intermediários reagem com oxigênio produzindo uma mistura de dienos e trienos conjugados 9, 12, 13 e 16 hidroperóxidos [26].

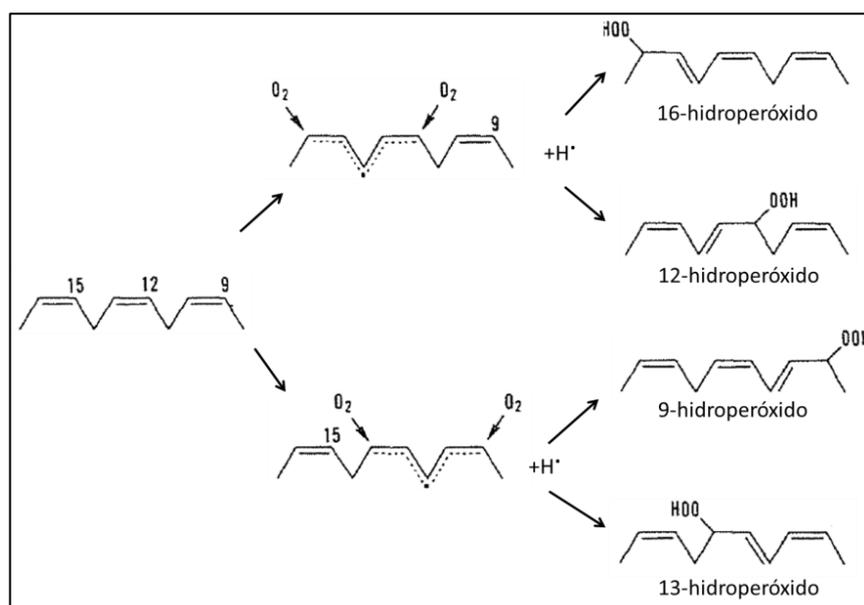


Figura 5. Mecanismo de auto-oxidação do ácido linolênico.

1.4 Abordagens utilizadas para a avaliação da estabilidade oxidativa

Uma das dificuldades para avaliar o grau de oxidação dos óleos vegetais reside na escolha do parâmetro mais adequado para efetuar essa determinação. De um modo geral, procura-se monitorar um determinado parâmetro indicador. Esse monitoramento não deve ser pontual, isto é, restrito a um determinado momento, mas sim deve ser efetuado ao longo do tempo, de forma a ser representativo da duração de vida do produto [1,29].

Em relação aos testes de estabilidade oxidativa, é importante estabelecer a distinção entre aqueles feitos nas condições normais de armazenamento ou de distribuição (testes de estabilidade de tempo real), e dos preditivos que avaliam a resistência à oxidação ao promover o envelhecimento acelerado (testes de estabilidade acelerados). Uma vez que os fenômenos naturais de oxidação são processos lentos, desenrolando-se frequentemente ao longo de vários meses, os testes de estabilidade em tempo real tornam-se, em geral, incompatíveis com a rotina do controle de qualidade a nível industrial, já que os testes em tempo real são demorados. Deste modo, os testes de estabilidade acelerados assumem particular importância na rotina analítica, pois permitem estimar de forma rápida a estabilidade oxidativa [30].

Existem na literatura, diversos métodos para a avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. Porém, em nenhum deles se obtém a correlação perfeita com as modificações organolépticas produzidas no decurso das reações de oxidação. Cada método fornece informações sob um estado particular do processo oxidativo, justificando a existência de um conjunto de testes.

Técnicas laboratoriais para a análise da estabilidade oxidativa em derivados de óleos e gorduras incluem o monitoramento do valor ácido [31-34], do índice de iodo [35-37], e determinação de dienos conjugados [38-40]. As técnicas automáticas incluem a medida da estabilidade do óleo (OSI) [41] e o teste de Rancimat [42]. Entre as técnicas espectroscópicas tem-se a espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) [43-46] e a espectroscopia de espalhamento Raman [47-48].

1.4.1 Valor ácido

O valor ácido (VA) é um dos indicadores mais significativos do grau de oxidação lipídica. O estudo da acidez tem a finalidade de quantificar os teores de ácidos graxos livres presentes em óleos, o que caracteriza a rancidez, isto é, a decomposição dos glicerídeos. Por definição, o VA é a massa de hidróxido de potássio necessária para neutralizar os ácidos livres de 1,0 g de amostra de óleo.

O VA indica o progresso da oxidação das amostras de óleo, pois os peróxidos formados durante a oxidação dos glicerídeos se tornam ácidos orgânicos, que podem ser titulados. Quanto maior o VA, maior é a formação de produtos de oxidação, ou seja, acidez elevada indica avançado estado de degradação, o que afeta a estabilidade térmica e oxidativa dos óleos vegetais [31-34].

Em um estudo sobre estabilidade do biodiesel de milho durante seu armazenamento, Boulifi *et al.* [32] observaram que a acidez das amostras em atmosfera ambiente de oxigênio aumentava no decorrer do experimento. Em contrapartida, os autores verificaram também que o VA das amostras armazenadas sob a atmosfera de argônio permaneceu quase constante. Bastos e Pereira [33], em um trabalho sobre a estabilidade térmica do óleo de canola, relataram que com o aquecimento das amostras a 180 °C, o teor de ácidos livres aumentava, tanto nas amostras sem adição de íons metálicos, como nas amostras fortificadas com diferentes íons (Fe^{3+} , Cu^{2+} e Al^{3+}). O aumento de VA foi maior na presença de íons metálicos, e mais pronunciado nas amostras contendo Cu(II). Coscione e Artz [34] verificaram que a adição de ferro, tanto como estereato férrico, como octanoato ferroso, às amostras de óleo de soja submetidas a diferentes temperaturas de aquecimento, levava a um aumento no VA, sendo o efeito maior nas amostras contendo octanoato ferroso.

1.4.2 Índice de iodo

Outro parâmetro para avaliação da estabilidade oxidativa é o índice de iodo [35-37], que mede o grau de insaturações totais de um óleo ou gordura,

indicando a propensão deste em polimerizar e formar depósitos (goma) nos motores.

O índice de iodo é definido pela massa de halogênios, expressa como iodo (I_2), incorporada por 100 g de amostra. A halogenação das duplas ligações é alcançada pelo excesso de reagente de Wijs (ICl). A seguir solução padrão de iodeto de potássio é adicionada e o I_2 gerado é titulado com solução padrão de tiosulfato de sódio [35]. Contudo, o índice de iodo indica o número total de duplas ligações, não distinguindo diferenças estruturais tais como a posição da dupla ligação na cadeia. Assim, ácidos graxos com diferentes estruturas podem ter o mesmo índice de iodo e apresentar diferentes susceptibilidades a oxidação. A oxidação dos compostos graxos insaturados se processa com diferentes taxas dependendo do número e da posição da dupla ligação.

As posições alílicas às duplas ligações são especialmente suscetíveis a oxidação devido a labilidade dos hidrogênios. As posições *bis*-alílicas, comuns em ácidos graxos poliinsaturados tal como ácido linoléico são ainda mais propensas à oxidação, pois os peroxi radicais formados possuem estruturas de ressonância estabilizadoras que aumentam a propagação da oxidação [1].

Em um artigo sobre a relevância do índice de iodo, Knothe [36] relatou que apesar desse índice fazer parte da especificação do biodiesel, ele não é suficientemente preciso para avaliar a suscetibilidade de um éster sofrer oxidação. Por conta disso, o autor sugeriu um método alternativo, o qual denominou “equivalentes de posição alílica (APE do inglês *Alilic Position Equivalents*) e equivalentes de posição *bis*-alílica (BAPE do inglês *Bis-Alilic Position Equivalents*).”, para melhor correlação com a estabilidade oxidativa.

Na Tabela 5 são apresentados os índices de iodo dos ácidos graxos predominantes nos óleos vegetais e nos respectivos ésteres de alquila produzidos com diferentes álcoois. Verifica-se que o índice de iodo dos diferentes ésteres de alquila diminui com o aumento da cadeia do álcool usado na sua produção. Por exemplo, o índice de iodo do linoleato de metila, linoleato de etila, linoleato de propila e linoleato de butila foram, respectivamente, 172,4, 164,5, 157,4 e 150,8 g de I_2 por 100 g de óleo.

Tabela 5. Índice de iodo de alguns compostos graxos insaturados (Adaptada da referência 37).

| Ácido | Índice de iodo | | | | | |
|------------|----------------|-------|--------|-------|---------|--------|
| | Ácido | Éster | | | | |
| | | TAG | Metila | Etila | Propila | Butila |
| Oléico | 89,9 | 86,0 | 85,6 | 81,7 | 78,2 | 75,0 |
| Linoléico | 181,0 | 173,2 | 172,4 | 164,5 | 157,4 | 150,8 |
| Linolênico | 273,5 | 261,6 | 260,4 | 248,4 | 237,6 | 227,6 |

Reagente de Wijs (ICl é uma solução de iodo cloro 0,2 mol.L⁻¹).

Knothe verificou também que o índice de iodo de um óleo vegetal ou gordura animal é quase idêntico ao do éster de metila correspondente [33]. A Tabela 5 mostra a composição de ácidos graxos e faixa de índice de iodo de alguns óleos vegetais. Observa-se que os valores de índice de iodo para os óleos de canola e girassol, objeto de estudo dessa Tese, estão próximos. Contudo, a composição de ácido graxos desses óleos é bastante diferente. Enquanto o óleo de canola possui de 52 a 67% de ácido oleico e 16 a 25% de ácido linoleico, o óleo de girassol possui de 14 a 39% de ácido oleico e 48 a 74% de ácido linoleico.

Tabela 6. Índice de iodo e composição de ácidos graxos de alguns óleos vegetais (adaptada da referência 37).

| Óleo vegetal | Índice de Iodo | Composição de ácidos Graxos (%m) | | | | | | | |
|--------------|----------------|----------------------------------|-----------|-----------|---------|-----------|-----------|----------|-------|
| | | 12:0 | 14:0 | 16:0 | 18:0 | 18:1 | 18:2 | 18:3 | 22:1 |
| Canola | 110-126 | | < 0,2 | 3,3-6,0 | 1,1-2,5 | 52-66,9 | 16,1-24,8 | 6,4-14,1 | 0-2 |
| Coco | 6-11 | 45,1-50,3 | 16,8-20,6 | 7,7-10,2 | 2,3-3,5 | 5,4-8,1 | 1,0-2,1 | 0-0,2 | |
| Milho | 103-128 | | 0-0,3 | 8,6-16,6 | 1,0-3,3 | 20,0-42,2 | 39,4-62,5 | 0,5-1,5 | 0-0,1 |
| Algodão | 99-119 | | 0,6-1,0 | 21,4-26,4 | 2,1-3,3 | 14,7-21,7 | 46,7-58,2 | 0-0,4 | 0-0,3 |
| Soja | 120-143 | | 0-0,2 | 8-13,3 | 2,4-5,4 | 17,7-26,1 | 49,8-57,1 | 5,5-9,5 | |
| Girassol | 110-143 | 0-0,1 | 0-0,2 | 5,6-7,6 | 2,7-6,5 | 14-39,4 | 48,3-74 | 0-0,2 | 0-0,2 |
| Sebo | 35-48 | | 1,4-7,8 | 17-37 | 6,0-40 | 26-50 | 0,5-5,0 | <2,5 | |
| Babaçu* | 10-18 | 40-50 | 11-27 | 5,2-11 | 1,8-7,4 | 9,0-2,0 | 1,4-6,6 | | |

1.4.3 Dienos conjugados

A determinação quantitativa dos dienos tem sido largamente utilizada como parâmetro na determinação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras [29]. O método AOCS TI 1a-64 é o mais comumente utilizado na determinação de dienos conjugados [38]. Nesse método, a amostra é dissolvida em isoctano e a absorbância da solução é medida. A oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados ocorre com a formação de hidroperóxidos e deslocamento das duplas ligações, com consequente formação de dienos conjugados (Figura 6).

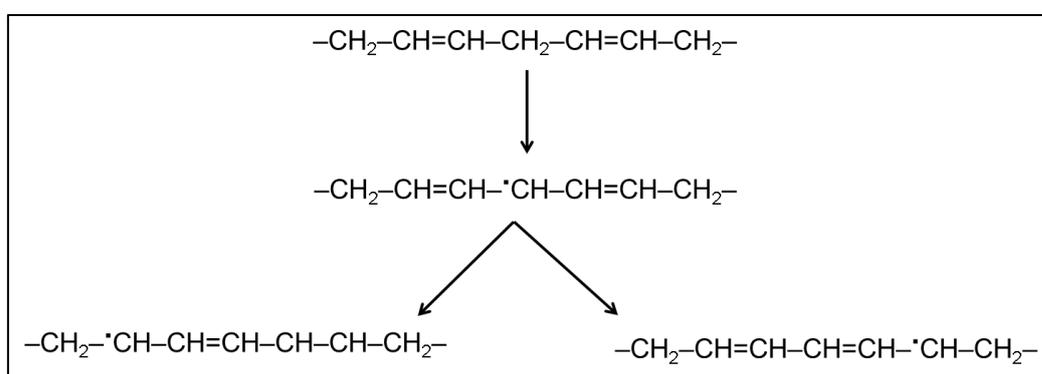


Figura 6. Formação de sistemas de duplas ligações conjugadas durante a oxidação de lipídeos poli-insaturados.

A primeira etapa da oxidação de ácidos graxos altamente insaturados é a mudança na dupla ligação. Esta mudança ocorre quando um hidrogênio é abstraído do grupo funcional metileno posicionado entre duas duplas ligações existentes na configuração original (1,4-pentadieno). Um radical intermediário pentadienil é produzido, e forma estruturas de ressonância na forma de dienos conjugados. Esses componentes intermediários reagem com oxigênio molecular para formar hidroperóxidos conjugados. A extensão da deslocalização da ligação está relacionado com o grau de peroxidação que ocorre no óleo insaturado [1].

As estruturas conjugadas absorvem fortemente na faixa de 232-234 nm. Os óleos vegetais não absorvem radiação eletromagnética em comprimentos de onda maiores do que 210 nm, pois não possuem sistemas de duplas ligações conjugadas [1]. O valor dienos conjugados é um indicativo dos produtos de oxidação primária. Os produtos secundários da oxidação, em particular as cetonas

insaturadas, apresentam um máximo de absorção em 272 nm [29,38]. Esta característica é particularmente interessante e permite o acompanhamento da evolução da oxidação com base na razão das absorvâncias (A) medidas nos comprimentos de onda que permitem a discriminação do grau de oxidação: $A_{272\text{nm}}/A_{232\text{nm}}$. Quanto maior o valor de $A_{232\text{nm}}$ mais elevado será o conteúdo de peróxidos, correspondendo ao início do processo de oxidação; por outro lado, quanto maior for o valor de absorvância à $A_{272\text{nm}}$, maior será o teor de produtos secundários gerados [82].

Jorge e Janiere [39] utilizaram o método AOCS TI 1a-64 no monitoramento do processo oxidativo do óleo de soja utilizado em frituras descontínuas. Os autores obtiveram êxito na determinação do índice de dienos conjugados, correlacionando-o com outros índices. Em um estudo recente, Gerde *et al.* [40] também utilizaram esse procedimento na determinação de dienos conjugados em amostras de óleo de fritura.

O método AOCS TI 1a-64 para a determinação dos dienos conjugados é rápido, simples, e requer pouca quantidade de amostra. Entretanto, o valor dos dienos conjugados depende da composição dos ácidos graxos da amostra, não podendo ser usado diretamente na comparação do estado de oxidação de espécies de óleos diferentes. A determinação espectrofotométrica é desaconselhável para análise de compostos que absorvam fortemente na região compreendida entre 200 e 220 nm [37].

1.4.4 Índice de estabilidade oxidativa

Os métodos de determinação do índice de estabilidade oxidativa (OSI do inglês *Oxidative Stability Index*) têm por finalidade prever a vida-de-prateleira de óleos e gorduras, pois nas condições de armazenamento, as alterações ocorridas nestes produtos são lentas. O OSI também é chamado de período de indução ou tempo de indução [29], e é um parâmetro comparativo utilizado no controle de qualidade de matérias primas e de processos.

Para se acelerar a oxidação, os testes se valem da elevação de temperatura, da adição de metais, do aumento da pressão de oxigênio, da exposição à luz e da

agitação, sendo destes, o aquecimento o mais utilizado e eficiente. Alguns métodos para a avaliação da estabilidade oxidativa monitoram as alterações ocorridas na amostra através de determinações como índice de peróxidos, análise sensorial, análise de voláteis entre outras [29].

Os métodos de estufa [49] e o Método de oxigênio ativo (*Active Oxygen Method* ou AOM) [50] têm sido os mais utilizados na determinação da estabilidade oxidativa, apesar do consumo de reagentes elevado e longo tempo de análise. No teste de estufa de Schaal, uma massa de 100 g da amostra é mantida a 65 °C sendo alíquotas retiradas e analisadas periodicamente, mediante análise sensorial ou índice de peróxidos (IP). O período de indução é determinado ao se detectar mudança brusca no IP.

No método AOM, ou teste de Swift, ar purificado é borbulhado, a um fluxo constante, na matéria aquecida a 98 °C. O valor de IP é determinado em intervalos regulares por iodometria [51]. O teste decorre ao longo do tempo necessário para se atingir valores de IP igual a 100 meqg / Kg (óleos vegetais) ou entre 20 e 60 meqg/Kg (gorduras animais). O período de indução é determinado através de um gráfico de valores IP em função do tempo. Porém, o princípio do método é passível de críticas pelo fato de se medir simultaneamente o nível de peróxidos resultante tanto dos processos de formação quanto de decomposição.

Técnicas automáticas para avaliar a resistência relativa à oxidação de óleos e gorduras incluem o PetroOXY [41], e principalmente Teste em Rancimat[®] [42], sendo este último usado neste trabalho.

No teste PetroOXY [41], no interior de uma pequena câmara hermeticamente selada, 5 mL de amostra é combinada com oxigênio a uma pressão de 700 kPa (aprox. 7 bar) e aquecido a uma temperatura de 140 ° C. Estas condições de ensaio iniciam um processo de envelhecimento artificial muito rápido, o que é medido por uma queda de pressão no interior da câmara. A estabilidade à oxidação é caracterizada pelo período de indução. O período de indução é o tempo decorrido entre o início do ensaio e o ponto de ruptura, que é definida como uma queda de pressão de 10% em relação à pressão máxima. Já no método Rancimat [42], a estabilidade à oxidação pode ser caracterizada pelo período de indução obtido quando amostras são submetidas a um processo de

oxidação acelerado, onde a oxidação forçada é obtida fazendo-se uma corrente de ar atravessar a amostra. Os vapores gerados pelo processo de oxidação são carregados pelo ar e capturados em uma armadilha (frasco contendo água). A solução aquosa em questão tem sua condutividade monitorada e o período de indução corresponde ao tempo, em horas, necessário para um aumento rápido da condutividade medida.

Em 1991, a AOCS oficializou para determinação de estabilidade oxidativa, o método Cd 12b-92 ou OSI (do inglês *Oil Stability Index* - OSI) [41], utilizando os equipamentos Oxidative Stability Instrument e o Rancimat. As temperaturas adotadas foram de 100 a 130 °C, com sugestão para uso de 110 °C, fluxo de ar de 10 L h⁻¹ e utilizando 2,5g de amostra [52].

Apesar da padronização das condições pelos métodos oficiais, a maior parte dos resultados existentes na literatura não são comparativos devido à diversidade de condições utilizadas, como temperatura e massa de amostra.

Na literatura existe disponível uma grande quantidade de dados sobre OSI de óleos e gorduras [53-57]. Contudo, como estes valores estão relacionados com as condições de temperatura, fluxo de ar e quantidade de amostra utilizada, torna-se difícil estabelecer comparações.

Hadorn e Zurcher [53] estudaram o efeito do fluxo de ar para a determinação da estabilidade oxidativa no Rancimat®, verificando não haver diferença nos resultados para fluxos de ar de (2, 3, 9 e 18) L.h⁻¹, quando se utiliza 2,5 g de amostra. Rauen Miguel *et al.* [54] estudaram a influência de vários parâmetros no período de indução determinado no Rancimat, verificando que a temperatura foi o parâmetro mais importante na variabilidade do período de indução. Warner *et al.* [55] compararam o período de indução, determinado pelos métodos AOM e Rancimat® para amostras de óleos de soja, óleo de colza de baixo teor de ácido erúico e óleo de girassol. Os autores obtiveram um coeficiente de correlação entre os dois métodos igual a 0,78, correlação menor do que o determinado por Gutiérrez Rosales (0,9962) [56] para 26 amostras de azeite de oliva virgem, com período de indução variando de 6 a 80 horas. Esses resultados mostram que a padronização dos métodos para determinação do OSI é necessária para a comparação da grande quantidade de dados relatados na literatura.

Em um estudo recente, Park *et al.* [57] mostraram que a estabilidade oxidativa depende da composição de ácidos graxos no óleo vegetal. Neste estudo, biodiesel de palma, colza e soja foram misturados em diferentes razões. Os autores verificaram que o OSI das misturas de biodiesel diminuía com o aumento da quantidade total dos ácidos linoléico e linolênico, confirmando as observações relatadas por Knothe [33]. Na Tabela 7, os resultados obtidos por Park *et al.* para a estabilidade oxidativa são resumidas.

Tabela 7. Estabilidade oxidativa e teor de ácidos graxos em diferentes amostras de biodiesel (adaptada da referência 57).

| | Biodiesel | | |
|-------------------------------------|-----------|-------|------|
| | Palma | Colza | Soja |
| Estabilidade Oxidativa EN 14112 (h) | 11 | 6,9 | 3,9 |
| % ácido Oleico (18:1) | 43,0 | 62,4 | 23,1 |
| % ácido Linoleico (18:2) | 11,4 | 19,7 | 83,3 |
| % ácido Linolênico (18:3) | 0,2 | 9,5 | 6,8 |

1.4.5 Espectroscopia no infravermelho

A região do infravermelho do espectro eletromagnético está situada na faixa entre 14290 e 200 cm^{-1} . A região que apresenta número de ondas entre 4000 e 400 cm^{-1} é a mais comumente utilizada pelos químicos orgânicos, sendo denominada infravermelho médio (MIR) [58]. Diferente da radiação na região do ultravioleta e do visível, que ao incidirem sobre uma molécula causam transições eletrônicas, a radiação infravermelha causa alteração nos modos rotacionais e vibracionais das moléculas. Assim, a radiação infravermelha, com número de onda entre 10000 e 100 cm^{-1} , ao ser absorvida por uma substância é responsável por transições de energia vibracional-rotacional e aquela com número de onda menor que 100 cm^{-1} , portanto com menor energia, é convertida em energia rotacional molecular pura [58].

Estudos sobre lipídeos utilizando espectrometria de infravermelho tiveram início em meados de 1940 [59-62]. Contudo, o interesse diminuiu com o surgimento de novas técnicas que implicavam em informação analítica mais específica em termos de identificação da estrutura de substâncias, como

cromatografia e ressonância magnética nuclear e a espectrometria de massas. A renovação do interesse pelo uso da espectroscopia de infravermelho se deu com o desenvolvimento de espectrômetros com transformada de Fourier (FT-IR do inglês *Fourier Transform Infrared*), que empregam um interferômetro para resolver a energia infravermelho em seus comprimentos de onda componentes, evitando muitas limitações associadas aos instrumentos convencionais de infravermelho dispersivo como baixa intensidade e pouca resolução [58].

Em um trabalho pioneiro, Sinclair et al [61], descreveram uma relação linear e diretamente proporcional entre duplas ligações *cis* para uma série de metil ésteres de ácidos graxos insaturados e a razão entre as absorvâncias a 2920 cm^{-1} , atribuída a vibração de estiramento do grupo $-\text{CH}_2-$, e a diferença entre as absorvâncias das bandas a 2920 e 3020 cm^{-1} , esta relativa ao grupo de olefinas *cis* $=\text{CH}-$, $(A_{2920}/(A_{2920}-A_{3020}))$. Desde então, vários autores [63-67] têm também sugerido que a espectroscopia FT-IR pode ser empregada na determinação do grau de insaturação de misturas de ácidos graxos.

Arnald e Hartung [64] utilizaram as razões das absorvância das vibrações de estiramento CH de olefinas a 3030 cm^{-1} e alifáticas a 2857 cm^{-1} para determinar o grau de insaturação de 25 diferentes óleos e gorduras, verificando que os valores calculados para as razões entre essas absorvâncias estavam linearmente correlacionados com os valores de índice de iodo obtidos, mostrando a viabilidade da abordagem espectroscópica para esse tipo de avaliação. Em outro trabalho, Afran e Newberg [65], também utilizando espectroscopia FT-IR, empregaram as razões das alturas das vibrações de estiramento CH a 3010 e 2854 cm^{-1} para determinar o grau de instauração e também obtiveram resultados comparáveis com os valores de índice de iodo medidos para as mesmas amostras.

A intensidade da banda olefínica a 3007 cm^{-1} foi usada na determinação do grau de insaturação de óleos e gorduras por Muniategui *et al.* [66]. Os autores analisaram amostras comerciais de óleo, tais como óleo de oliva, óleo de milho, óleo de amêndoa, óleo de girassol, óleo de soja, óleo de sementes de uva, além de gordura de porco e manteiga de cacau, obtendo um coeficiente de correlação igual a 0,9992 entre os dados obtidos por esta razão e os valores medidos na determinação do índice de iodo. Che Man *et al.* [67] utilizaram espectroscopia

FT-IR para prever os valores de índice de iodo em amostras de óleo de palma. Os autores desenvolveram um modelo de calibração utilizando regressão parcial dos mínimos quadrados (PLS do inglês *Partial Least Squares*), obtendo sucesso na validação do método proposto.

Todos os métodos mencionados são muito práticos e produzem resultados de modo rápido quando comparados às técnicas convencionais citadas nas seções anteriores. Deve-se notar que a maioria dos métodos mencionados identifica somente insaturações *cis*, mas se presentes, as insaturações *trans* devem ser levadas em conta, de modo a se obter um correto grau de insaturação.

O mais difundido uso da espectrometria de infravermelho para óleos e gorduras é a determinação das insaturações *trans* através da banda de absorção a 967 cm^{-1} , atribuída ao modo vibracional das duplas ligações *trans* isoladas. Este método foi padronizado pela International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) [68], American Oil Chemists' Society (AOCS) [69] e Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [70].

Esforços têm sido feitos para usar a espectroscopia FT-IR no desenvolvimento de modelos de calibração que relacionam a intensidade de uma banda de absorção característica de ligação *trans* isolada e a concentração dos isômeros *trans* isolados. Com o objetivo de desenvolver um método utilizando espectroscopia FT-IR para a avaliação de baixos teores *trans* nos óleos refinados, De Greyt *et al.* [71] construíram curvas de calibração para diferentes óleos através da adição de quantidades conhecidas de trielaidina como padrão. Os óleos foram analisados medindo a altura do pico a 967 cm^{-1} em relação a uma linha de base traçada entre 1002 e 932 cm^{-1} . A calibração foi estabelecida por regressão linear simples. A inclinação das diferentes curvas analíticas foi próxima à unidade (entre 0,9942 e 1,0041) e os coeficientes de determinação (R^2) foram bastante satisfatórios (entre 0,9990 e 0,9999), indicando serem estas calibrações úteis para posterior quantificação.

Sedman *et al.* [72] propuseram um método automatizado para a determinação do teor *trans* isolado em gorduras e em óleos por espectroscopia FT-IR, baseado em uma simples modificação do método padrão AOCS [69], eliminando o uso de CS_2 , um solvente volátil e tóxico, e da reação de metilação

para amostras com baixos teores *trans*. Isso foi conseguido através da utilização de uma célula de transmissão de fluxo aquecida, concebida especificamente para a análise de gorduras e óleos. Uma curva analítica (de 0 a 50% em teor de trielaidina) foi construída adicionando-se trielaidina às amostras certificadas de óleo de soja livres de conteúdo *trans*. A concentração de trielaidina nos padrões foi relacionada com a altura do pico nos espectros a 966 cm^{-1} . Esta técnica automatizada empregou a regressão PLS na construção do modelo de calibração. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre previsões obtidas para as amostras e os valores reais.

A espectroscopia FT no infravermelho próximo (NIR) também tem sido utilizada na determinação das insaturações *trans* [73-76]. Contudo, os perfis dos espectros na região do NIR possuem menos detalhes e consistem de sobreposições, sobretons e combinações de bandas de absorção fundamentais que ocorrem na região do infravermelho médio, sendo por isto, menos informativa que o MIR na determinação das insaturações *trans*.

Através do uso da espectroscopia FT-IR tem sido possível monitorar a adulteração de óleos e gorduras [77-78]. Vlatchos *et al.* [77] investigaram a adulteração de óleo de oliva extra virgem com diversos óleos vegetais, observando que no espectro dessas amostras existia uma diferença notável nas bandas próximas a 3006 cm^{-1} , atribuída a vibração de estiramento da ligação C-H de duplas ligações *cis* (=CH). Os óleos de girassol, soja e gergelim mostraram uma banda com máximo a 3009 cm^{-1} , enquanto o óleo de oliva extra virgem possuía um máximo de absorvância a 3006 cm^{-1} . Os óleos vegetais possuem maior proporção de grupos linolênico de acila e linoleico de acilado que o óleo de oliva extra virgem. Lai *et al.* [78] utilizaram a espectroscopia FT-MIR, com o acessório de reflectância total, para a rápida determinação de adulteração de óleos vegetais. Os autores utilizaram regressão PLS na quantificação da adição de adulterantes em óleo de oliva extra virgem, verificando que o modelo proposto era eficiente para os dois tipos de contaminantes estudados: o óleo de oliva refinado e o óleo de noqueira.

Guillén e Cabo [79] estudaram os espectros de amostras de diferentes óleos vegetais e verificaram que as frequências de algumas bandas possuíam valor

constante, independente da natureza da amostra. Entretanto, outras bandas, algumas na região impressão digital, dependiam da composição da amostra. Os autores verificaram que a proporção de grupos acila monoinsaturados e poli-insaturados causava deslocamento das bandas de valores máximos próximos a 3006, 1097 e 1400 cm^{-1} . O valor da frequência das bandas em 3006 e 1097 cm^{-1} aumentava, enquanto a banda em 1400 cm^{-1} era deslocada para valores menores com o aumento da proporção de grupos acila poli-insaturados nas amostras, concordando com as observações similares de Vlatchos *et al.*[77].

O valor de peróxidos (VP) é comumente determinado através de titulação iodométrica, usando o método padrão AOCS Cd 8-53 [51], no qual os compostos peroxídicos reagem com os íons iodeto, e são reduzidos a derivados hidroxilados, enquanto o iodeto é oxidado a iodo livre. Na presença de excesso de iodeto, um íon complexo que reage da mesma forma que o iodo livre é formado. O iodo é então, titulado com uma solução de tiosulfato, que é oxidado a tetrationato. Uma solução de amido é adicionada como indicador. A amostra é dissolvida em uma solução de ácido acético e clorofórmio, e a reação ocorre no escuro. O resultado é expresso em miliequivalentes de oxigênio ativo por quilograma de lipídio (meq.Kg^{-1}).

Yildiz *et al.* [80], utilizaram com sucesso espectroscopia FT-NIR para monitorar os níveis de oxidação em óleos vegetais como uma possível alternativa ao método de titulação convencional. Os pesquisadores desenvolveram modelos de calibração para medir o VP em óleos de soja e milho usando PLS a partir de espectros no NIR. Os níveis de oxidação das amostras foram também determinados usando o método padrão AOCS Cd 8-53 [51]. O modelo de calibração mais adequado foi baseado na primeira derivada dos espectros. Fortes correlações entre os valores previstos e os dados obtidos por NIR para VP, tanto nos conjuntos de calibração e validação, foram obtidos. Quando esta calibração foi aplicada a conjuntos de amostras de validação contendo números iguais de amostras de milho e óleo de soja, com VP variando de 0 a 20 meq.kg^{-1} , um coeficiente de correlação de pelo menos 0,99 entre titulação e valores obtidos por espectroscopia FT-NIR foi obtida, com um erro de previsão igual a 0,72 meq.kg^{-1} . Para ambos os tipos de óleo, as mudanças nos níveis de oxidação ocorreram na

região de 4836 cm^{-1} dos espectros NIR. Estas alterações pareceram estar associadas com a formação de hidroperóxidos durante a oxidação dos óleos.

Um dos parâmetros mais importantes para determinar qualidade de óleos vegetais é o teor de ácidos graxos livres (FFA do inglês *Free Fatty Acid*). O teor de FFA é tradicionalmente determinado por volumetria, um procedimento razoavelmente sensível, contudo os resultados são subjetivos, se não for usado um titulador automático. A espectroscopia FT-IR se tornou uma alternativa a estas técnicas devido à sua simplicidade no manuseio de amostras, sendo desnecessário qualquer pré-tratamento. Recentemente, vários estudos têm sido relatados utilizando espectroscopia FT-IR na determinação do teor de FFA em óleos comestíveis [81-87].

A determinação do teor de FFA pode ser realizada baseada na medição da absorção característica da vibração de estiramento do grupo funcional da carboxila a 1711 cm^{-1} ($\nu\text{ C=O}$) [82]. No entanto, a sobreposição parcial desta absorção com a forte banda éster dos triglicerídeos impõe limitações. Embora esta sobreposição seja contabilizada durante a calibração do método por espectroscopia FT-IR, a intensidade da banda do éster depende do número de saponificação do óleo, tornando-se necessário desenvolver uma equação de calibração individual para cada tipo de óleo [86]. Além disso, devido aos efeitos da matriz a posição da banda do éster também sofre alterações [87].

FT-IR também tem sido utilizado no monitoramento simultâneo da formação de aldeído e a determinação do valor de anisidina em óleos vegetais submetidos a estresse térmico. Dubois *et al.* [88], com o objetivo de desenvolver um método para determinação do valor de anisidina por espectroscopia FT-IR, utilizaram padrões de calibração de compostos considerados representativos de aldeídos formados durante a oxidação, tais como hexanal, *t*-2-hexenal e *t*-2 4-decadienal em relação ao óleo de canola. Esta abordagem mostrou-se viável e forneceu informações adicionais sobre os tipos de aldeídos presentes nas amostras.

Che Man e Setiowaty [89] utilizaram a espectroscopia FT-IR para prever o valor de anisidina em amostras de oleína de palma. A calibração foi preparada misturando oleína de palma oxidada termicamente e oleína de palma não oxidada,

abrindo uma ampla gama de valores anisidina. O estudo mostrou que essa abordagem espectroscópica, combinada com uma calibração PLS, é versátil e produz resultados exatos para estimativa do valor de anisidina de oleína de palma.

A espectroscopia de infravermelho contribuiu substancialmente para a compreensão detalhada do mecanismo de oxidação de óleos e gorduras, fornecendo informações para a identificação dos produtos formados durante a oxidação, assim como para o desenvolvimento de métodos para o monitoramento dinâmico da oxidação de óleos [43-46,90].

Moreno *et al.* [90] avaliaram a estabilidade oxidativa de óleos vegetais comumente utilizados como óleo de fritura para alimentos utilizando espectroscopia FT-IR. Os resultados mostraram a diminuição no grau de insaturação e aumento de isômeros *trans* quando os óleos foram aquecidos acima de 150 °C. Dréau *et al.* [43] também utilizaram espectroscopia FT-IR para comparar o comportamento de diferentes óleos submetidos a estresse térmico. Os autores observaram que todos os óleos apresentaram o mesmo mecanismo de envelhecimento. Contudo, os óleos com a menor proporção de ácidos graxos insaturados se mostraram mais resistentes à oxidação. Os autores propuseram um índice espectroscópico baseado na razão entre a área da banda com máximo em 3008 cm^{-1} e a área das bandas com máximo em 3050 a 2750 cm^{-1} , que inclui as bandas CH *cis* e os estiramentos assimétricos e simétricos das bandas de CH₂ e CH₃ dos compostos alifáticos, para a avaliação da estabilidade oxidativa destes óleos.

A espectroscopia no infravermelho é uma das técnicas analíticas mais importantes para a análise de derivados de óleos e gorduras. A literatura tem mostrado que através do seu uso é possível monitorar a estabilidade oxidativa de óleos e gorduras, assim como determinar os produtos de oxidação e estimar parâmetros de qualidade como índice de peróxido, dienos conjugados, grau de saturação, entre outros.

1.4.6 Espectroscopia Raman

Raman é uma técnica espectroscópica vibracional na qual um feixe de laser intenso, de frequência definida, é incidido na amostra. Naturalmente, a maioria dos fótons incidentes espalha, de tal forma a não sofrer mudança alguma de frequência original (espalhamento Rayleigh). Porém, uma pequena fração desses fótons interage com as moléculas da amostra trocando energia (ganhando ou perdendo) sem provocar transição de níveis de energia de fato. Esse espalhamento é, portanto, inelástico e denominado Raman [91].

A espectroscopia Raman pode ser usada numa ampla gama de aplicações e pode ser facilmente adaptada às análises de rotina, além de permitir medidas não destrutivas das amostras. Recentemente, alguns trabalhos utilizando espectroscopia Raman têm sido relatados relacionando bandas espectrais a parâmetros indexados a óleos e ésteres de cadeia longa derivados destes óleos [47-48,91-93]. Esta técnica tem se mostrado uma ferramenta promissora na análise de lipídeos, sendo a escolha apropriada para o estudo de grupamentos olefínicos, pois o fenômeno de espalhamento da radiação permite que grupos apolares, tais como os etilênicos C=C, apresentem bandas fortes [92-93]. Deste modo, pode ser usada na determinação e quantificação de diferentes parâmetros e propriedades dos lipídeos, como a determinação de insaturações de uma amostra ou a razão isomérica *cis* / *trans* além da quantificação de um triglicerídeo em particular.

Barthus e Poppi [92] utilizaram a espectroscopia Raman na determinação do índice de insaturação total de óleos vegetais. Os autores propuseram um modelo de calibração baseado na regressão PLS demonstrando que esta técnica é uma ferramenta útil em determinações quantitativas. Yang e Irudayaraj [93] utilizaram as espectroscopias FT-NIR, FT-IR e Raman combinadas com métodos quimiométricos na investigação da adulteração de óleo de oliva extra virgem. Os autores verificaram que a espectroscopia Raman apresentou o maior fator de correlação com os teores das misturas preparadas comparado às espectroscopias FT-NIR, FT-IR, embora estas fornecessem boa correlação.

A espectroscopia Raman também tem demonstrado ser uma ferramenta útil no monitoramento da oxidação de óleos vegetais devido ao alto conteúdo de informações dadas fornecidas pelos espectros. Ghesti *et al.* [47] a utilizaram no

monitoramento e quantificação da transesterificação do óleo de soja, e relataram que nas amostras transesterificadas ocorreu um aumento na intensidade da banda a 2932 cm^{-1} , atribuída ao estiramento dos grupos metil. Os autores observaram o deslocamento da banda correspondente a carbonila dos glicerídeos de 1748 cm^{-1} para 1739 cm^{-1} , e também observaram o surgimento dos picos a 861 cm^{-1} atribuídos às vibrações de estiramento das ligações R-C=O, e a 372 cm^{-1} atribuídos a deformação angular do grupamento CO-O-C, que relacionaram ao aparecimento de ésteres.

Muika *et al.* [48] estudaram a degradação oxidativa de óleos vegetais, com diferentes composições de ácidos graxos, submetidos a estresse térmico utilizando espectroscopia Raman e correlacionando com dados obtidos por espectroscopia FT-IR. Os autores observaram que os óleos se comportavam de modo diferente durante o processo de oxidação, atribuindo este fato a sua composição de ácidos graxos. Eles verificaram também a formação de sistemas de dupla ligação conjugada no início da oxidação, a formação de compostos carbonílicos saturados e duplas ligações *trans* isoladas durante todo o processo de oxidação.

Finalmente, vale mencionar que as espectroscopias Raman e FT-IR se complementam. A intensidade das bandas nos espectros de infravermelho e Raman diferem muito, contudo, a combinação das informações permite obter uma visão mais ampla das mudanças que ocorrem durante a oxidação térmica dos óleos vegetais.

1.5 Influência dos metais sobre a estabilidade oxidativa dos óleos vegetais

O contato dos óleos vegetais com os componentes metálicos do sistema de distribuição e de armazenamento leva à sua contaminação por metais. A presença de espécies metálicas é indesejável, mesmo nas baixas concentrações, já que estes desempenham um papel significativo na oxidação e degradação de óleos vegetais [1].

Os contaminantes metálicos catalisam a oxidação de radicais livres de ácidos graxos insaturados e dos ésteres metílicos destes ácidos. Estas moléculas

são altamente reativas porque contêm hidrogênios *bis*-alílicos, precursores de radicais livres, os quais reagem com oxigênio para formar hidroperóxidos. Os metais atuam como catalisadores da decomposição dos hidroperóxidos, acelerando a auto-oxidação [1,29]. Muitos estudos têm sido realizados para se compreender o efeito da contaminação metálica sobre a estabilidade, tanto de ésteres de ácidos graxos, como de óleos vegetais [94-96].

Knothe e Dunn [94] estudaram a relação entre a presença de metais e a estabilidade oxidativa de compostos graxos, verificando que entre os metais investigados (cobre, ferro e níquel), o cobre apresentava o maior efeito catalítico. Os autores adicionaram 10 mg e 20 mg de cobre (150 mesh) ao oleato de metila observando que a OSI diminuiu de 10,70 h para 5,55 e 5,60 h, respectivamente. Esses resultados indicaram que pequenas quantidades de metal produziam aproximadamente a mesma influência sobre a OSI que quantidades maiores. Mais ainda, observaram que a adição de 10 mg de cobre com 1 micron reduziu a OSI para 3,85 h, sugerindo que a estabilidade oxidativa dependia do tamanho da partícula (150 mesh = 106 micron).

Sarin e colaboradores [95] investigaram a influência de metais na estabilidade oxidativa de ésteres de óleo de sementes de pinhão manso. Diferentes metais de transição (ferro, níquel, manganês, cobalto e cobre adicionados como naftenatos) comumente encontrados nos tanques de estocagem, foram adicionados em diferentes concentrações às amostras. A presença dos metais no biodiesel resultou na aceleração da oxidação, reduzindo os valores de OSI, sendo que o cobre apresentou um efeito catalítico mais pronunciado que os outros metais, confirmando os resultados de Knothe e Dunn. Contudo, verificaram que todos os outros metais também exibiam uma influência negativa sobre a estabilidade oxidativa. Além disso, os autores verificaram que os valores para o período de indução independiam da concentração dos metais adicionados, e que se tornaram quase constantes com o aumento da concentração do metal, indicando que os metais atuavam como catalisadores.

Com o objetivo de avaliar o efeito de contaminantes metálicos (cobre em pó, ferro reduzido e zinco em pó) sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja, Silva e colaboradores [96] realizaram testes utilizando o método Rancimat[®].

Os autores verificaram uma redução no tempo de indução com o aumento da concentração dos metais, contudo, o tempo de indução tendia a se estabilizar mostrando a saturação do efeito contaminante dos metais, e indicando, assim, que os metais atuavam como catalisadores. Estes autores verificaram também que o Cu foi o metal que provocou um maior decréscimo na estabilidade do biodiesel, seguido do Fe e do Zn.

1.6 Antioxidantes

O processo de oxidação nos óleos vegetais pode ser atenuado pela eliminação de espécies químicas deletérias e correção de condições que iniciam a oxidação, ou ainda pela adição de substâncias que inibem a iniciação e propagação dos radicais livres. A adição de antioxidantes aos óleos vegetais tem sido utilizada em muitos setores da indústria, incluindo a indústria alimentícia, indústria farmacêutica, indústria de combustíveis e indústria de lubrificantes, entre outras. Contudo, os antioxidantes sintéticos exibem baixa degradabilidade, muitos deles são tóxicos e tem custo elevado.

Antioxidantes sintéticos são compostos fenólicos tais como butilato de hidroxianisol, hidroxil tolueno butilado (di-terc-butil metil fenol, BHT, do inglês *Butylated Hydroxy toluene*), propilgalato (n-Propil 3,4,5 Trihidroxil Benzoato) e 2-terc-Butil hidroquinona (TBHQ do inglês *Tertiary Butyl hydroquinone*) [97]. Entre os antioxidantes naturais estão incluídos tocoferóis, ácido ascórbico, carotenos e flavonoides que são prontamente biodegradados [98]. Entre os vários antioxidantes naturais, a curcumina possui grande potencial de emprego em vários segmentos da economia. A curcumina ou açafrão da Índia, (*Curcuma Longa L*) é conhecida no mercado internacional como “turmeric”. Classificada como planta condimentar, e originária do sudoeste da Ásia, atinge em média 120 cm de altura. De suas folhas emana um perfume agradável quando amassadas. Seu rizoma central é arredondado, com ramificações laterais, também tuberizadas [99].

São os rizomas que representam o interesse na cultura, neles estão presentes três compostos responsáveis por suas propriedades antioxidantes, curcumina (1,7 bis-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-diona), demethoxi-curcumina (1-(4-hidroxifenil)-7-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-

dien-3,5-diona), bis-demethoxi-curcumina (1,7-bis(4hidroxifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-diona) apresentados na Figura 7 [99].

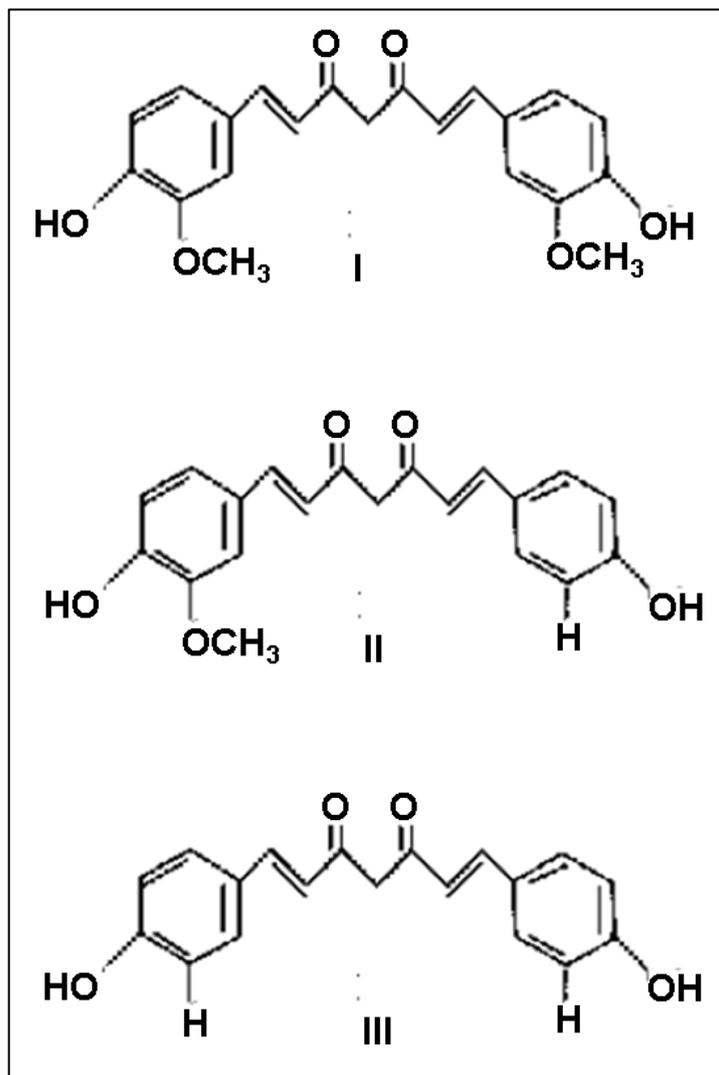


Figura 7. Representação gráfica dos três corantes da cúrcuma: I) curcumina (1,7 bis-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-diona), II) demethoxi-curcumina (1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-7-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-diona) e III) bis-demethoxi-curcumina (1,7-bis(4hidroxifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-diona).

A atividade da curcumina como antioxidante já foi relatada na literatura. Souza *et al.* [98] avaliaram a adição de curcumina no biodiesel de soja armazenado por um período de 180 dias, verificando que com a adição deste antioxidante, o período de indução do biodiesel diminuiu em 83%. As substâncias presentes na curcumina lhe conferem a possibilidade de emprego como antioxidante natural, e seu desempenho se mostrou promissor no uso como antioxidante para óleos vegetais utilizados como combustíveis.

Os antioxidantes fenólicos promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia Figura 8.

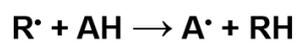
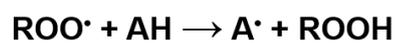


Figura 8. Mecanismo de ação para os antioxidantes fenólicos.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo geral avaliar a Influência do cobre metálico e do óxido de cobre (II) sobre a degradação de óleos de canola e de girassol submetidos a estresse térmico.

2.2 Objetivos Específicos

- Monitorar a estabilidade oxidativa através da avaliação de diferentes parâmetros.
- Contribuir para a elucidação do mecanismo de reação de oxidação e na identificação da natureza dos produtos gerados no processo.
- Avaliar características do óleo que são afetadas pela degradação térmica.

3. Experimental

3.1 Materiais e reagentes

O óleo de canola, o óleo de girassol, o cobre metálico (diâmetro de 14 a 25 μm e 99% de pureza) e o óxido cobre(II) (99% de pureza) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (EUA). Curcumina (99% de pureza) foi adquirida da Vetec (Brasil). Todos os outros reagentes químicos utilizados neste trabalho foram de grau analítico. Tetracloreto de carbono, biftalato de potássio, ácido acético, tiossulfato de sódio penta-hidrato e amido foram adquiridos da Merck (Alemanha). Tolueno, xileno, óleo mineral, hexano, ciclohexano, isopropanol, reagente de Wijs e hidróxido de potássio foram adquiridos da Vetec (Brasil).

3.2 Equipamentos

3.2.1 Instrumentos

Os espectros de espalhamento Raman foram obtidos com o espectrômetro FT-Raman da Perkin Elmer (EUA) modelo Raman Station 400 equipado com detector do tipo dispositivo de carga acoplada ou CCD³ (do inglês *charge-coupled device*) com arrefecimento termoelétrico⁴ com um sistema Peltier. O feixe laser de 785 nm tem indicado a potência nominal, quando novo, de 250 mW. Os espectros foram processados pelo programa Spectrum 6.3.5 (Perkin Elmer).

³ Dispositivo de carga acoplada ou CCD (*charge-coupled device*) é um sensor semicondutor para captação de imagens formado por um circuito integrado que contém uma matriz de capacitores acoplados. Sob o controle de um circuito externo, cada capacitor pode transferir sua carga elétrica para um outro capacitor vizinho.

⁴ Arrefecimento termoelétrico utiliza o efeito Peltier para criar um fluxo de calor entre a junção de dois tipos diferentes de materiais. Um refrigerador Peltier, aquecedor, ou bomba de calor termoelétrico é uma bomba de calor no estado sólido que transfere calor a partir de um lado do dispositivo para o outro, com um consumo de energia elétrica, dependendo do sentido da corrente, que pode ser usado tanto para o aquecimento ou para o arrefecimento, apesar de, na prática, a aplicação principal é arrefecimento.

Os espectros de absorção no infravermelho (obtidos na forma de Transformada de Fourier) foram obtidos num espectrofotômetro FTIR Spectrum 100 (Perkin Elmer, EUA) equipado com um detector piroelétrico de sulfato de glicina deuterado (DTGS). Os espectros foram processados com o programa Spectrum 6-1.0 (Perkin Elmer). Uma célula com janelas de KBr e espaçador de 0,05 µm foram utilizados para as amostras.

Os espectros de absorção no UV-Vis foram obtidos em espectrômetro modelo Cary 100 (Agilent, Japão) com uma lâmpada de deutério (UV) e outra de filamento de tungstênio (vis) e um tubo fotomultiplicador como detector. Os espectros foram processados pelo programa Cary WinUV 4.20 (468) (Agilent).

A estabilidade oxidativa foi determinada usando o equipamento Rancimat modelo 743 da Metrohm (Suíça).

Titulações ácido-base foram feitas em um titulador potenciométrico automático modelo 888 (Metrohm) com eletrodo combinado de pH com cloreto de lítio saturado em etanol com membrana de vidro.

O teor de cobre foi determinado em um espectrômetro de absorção atômica modelo 1100B da Perkin Elmer, equipado com lâmpada de catodo-oco, sistema de nebulização e queimador capazes de serem utilizados com soluções orgânicas e chama de Ar/ C₂H₂.

3.2.2 Equipamentos auxiliares

- Estufa marca Ethickthechinilogye,
- Balança marca Sartorius modelo MSU 524S
- Micropipetas semi-automáticas de diferentes capacidades, 50 µL, 100 µL, 200 µL, 500 µL e 1000 µL, que utilizam ponteiras de polipropileno descartáveis.
- Dispensador de volume variável de 1,0 a 5,0 mL.

3.3 Procedimentos

3.3.1 Contaminação das amostras de óleo e amostragem

Óxido cúprico ou cobre metálico foram adicionados aos óleos de canola e girassol, gerando suspensões contendo cobre total do montante equivalente a 2000 mg kg⁻¹. Todas as suspensões foram preparadas em duplicata. As amostras de óleo, sem adição de cobre foram usadas como referência. Adicionalmente, foram também preparadas amostras contendo equivalente a 1000 mg kg⁻¹ do antioxidante curcumina e 2000 mg kg⁻¹ de óxido cúprico. As amostras foram armazenadas em um recipiente de vidro aberto durante 14 dias em estufa sem aeração, ajustada na temperatura de 90 °C ± 1 °C. Logo após a adição de cobre e, periodicamente (3, 7, 10 e 14 dias), retiraram-se alíquotas para avaliação da estabilidade oxidativa através da determinação do índice de saponificação, valor ácido, índice de iodo, pelos espectros de absorção no infravermelho e no UV-Vis, de espalhamento Raman e pelo teste Rancimat®. Antes de realizar as análises, as amostras foram filtradas a vácuo com papel de filtro quantitativo a fim de remover qualquer partícula de cobre que pudesse estar em suspensão.

As amostras foram assim identificadas: óleo de canola puro (OC); óleo de canola contendo cobre metálico (OC + Cu(0)); óleo de canola contendo óxido cúprico (OC + CuO); óleo de canola contendo óxido cúprico e curcumina (OC + CuO + AO); óleo de girassol puro (OG); óleo de girassol contendo cobre metálico (OG + Cu(0)); óleo de girassol contendo óxido cúprico (OG + CuO); óleo de girassol contendo óxido cúprico e curcumina (OG + CuO + AO).

3.3.2 Índice de saponificação

Para a determinação do índice de saponificação foi empregado o método descrito na norma AOCS Ca 6b-53 [100]. Resumidamente, pesou-se 1,0000 g de amostra em balão de fundo redondo de 250 mL, adicionou-se 25,00 mL de metiletilcetona e 25 mL de KOH 0,5 mol.L⁻¹, conectou-se ao condensador de refluxo e manteve-se sob refluxo por 30 minutos. Após o refluxo, adicionou-se 50 mL de tolueno, e ainda quente, adicionou-se de 3 a 5 gotas de fenolftaleia. Titulou-se com HCl 0,5 mol⁻¹ previamente padronizado. Os valores para o índice de saponificação dado em mg KOH / g amostra, iodo são obtidos a partir da Equação 2.

$$IS = \frac{(B-A) \times C \times 56,1}{m} \quad (1)$$

Onde: C é a em quantidade de matéria (mol L⁻¹) da solução de KOH; VB é o volume gasto na titulação da solução branco; VA é o volume gasto na titulação da amostra; m é a massa, em gramas, da amostra.

3.3.3 Determinação do teor de cobre

Para a determinação do teor de cobre, pesou-se, ao décimo de miligrama, aproximadamente 1,0 g de amostra em tubo de polipropileno graduado de 15 mL e, ainda na balança, avolumou-se até 10 mL com xileno, anotando-se as massas da amostra e da solução final. Foram preparadas soluções de calibração de 0,1000 mg L⁻¹, 0,2000 mg L⁻¹, 0,3000 mg L⁻¹ 0,4000 mg L⁻¹ da seguinte maneira: usando as micropipetas semi-automáticas de volume fixo, transferiu-se 0,1000 mL, 0,2000 mL, 0,3000 mL e 0,4000 mL da solução padrão de cobre 10,0000 mg kg⁻¹ para tubos de polipropileno de 15 mL. Com auxílio de um dispensador, completou-se o volume até 10 mL com a solução diluente (120 g L⁻¹ de óleo mineral em xileno). O branco foi preparado da mesma forma sem adicionar qualquer solução contendo o metal. O comprimento de onda adequado para cobre foi ajustado e, então conduziu-se a aspiração da solução de óleo mineral (vaselina

líquida) em xileno (120 g L^{-1}) para ajustar o instrumento no zero de absorvância. Em seguida, efetuou-se a aspiração do branco (zero da curva) e das soluções de calibração. Foram realizadas cinco leituras para cada ponto da curva. Conduziu-se a aspiração das soluções das amostras e realizaram-se as leituras da mesma maneira que as dos padrões. Determinou-se a concentração de cobre das duplicatas da amostra, consultando a curva de calibração externa construída com os padrões de calibração.

3.3.4 Determinação do valor ácido

Para a determinação do valor ácido (VA) foi empregado o método descrito na norma ASTM D664 procedimento A “*Test method for acid number of petroleum products by potentiometric titration*” [31]. Resumidamente, 20 g da amostra são diluídos com 100 mL de uma mistura de solventes (preparado misturando de 495 mL de tolueno com 500 mL isopropanol e 5 mL de água). A solução resultante foi então titulada com uma solução de KOH alcoólica $0,1000 \text{ mol L}^{-1}$ padronizada. A padronização foi feita com biftalato de potássio. A titulação se procedeu em sistema automatizado. Os valores para o índice de acidez foram obtidos a partir da Equação 2, onde C é a concentração em quantidade de matéria (mol L^{-1}) da solução alcoólica de KOH; V_B é o volume gasto na titulação da solução branco; V_A é volume gasto na titulação da solução de amostra e m é massa, em gramas, da amostra.

$$\text{Índice ácido} = \frac{(V_B - V_A) \times C \times 56,1}{m} \quad (2)$$

3.3.5 Determinação índice de iodo

A determinação do índice de iodo foi feita pelo método de Wijs, conforme descrito na norma Europeia EN14111 “*Derivados de Aceites y Grasas – determinación del Índice de Yodo*” [35]. Resumidamente, 20 mL de uma mistura

ciclohexano:ácido acético (1:1 v/v) foram adicionados a aproximadamente 0,1300 g de óleo. Em seguida, 25,00 mL de uma solução de monocloreto de iodo (reagente de Wijs) foram adicionados à solução de óleo, que foi mantida no escuro durante 1 h antes da adição de iodeto de potássio. Deste modo, as insaturações presentes nos componentes do óleo são quebradas por reação de adição de iodo. O excesso de iodo foi determinado por iodometria (com uma solução de tiosulfato de sódio penta-hidratado) usando solução de amido como indicador, adicionado quando surgiu a coloração amarelada, prosseguindo com a titulação até a cor azul desaparecer. Os valores para o índice de iodo são obtidos a partir da Equação (3),

$$\text{Índice de iodo} = \frac{(V_B - V_A) \times C \times 12,69}{m} \quad (3)$$

Onde: C é a concentração em quantidade de matéria (mol L^{-1}) da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$; V_B é o volume gasto na titulação da solução branco; V_A é o volume gasto na titulação da amostra; m é a massa, em gramas, da amostra.

3.3.6 Determinação da estabilidade oxidativa por Rancimat

A estabilidade oxidativa foi determinada de acordo com a norma European Standard EN 14112(2009) “*Automotive fuels–Fatty acid methyl ester (FAME) fuel and blends with diesel fuel–Determination of oxidation stability by accelerated oxidation method*” [51]. Resumidamente, 3,0 g de amostra foram aquecidas a 110°C sob fluxo de ar constante a uma vazão de 10 L h^{-1} . Os vapores liberados durante a oxidação foram borbulhados em um frasco contendo água de modo a se monitorar a condutividade com um eletrodo de par de placas de platina conectada ao um medidor apropriado. O tempo de indução foi estabelecido quando a condutividade começa a aumentar rapidamente.

3.3.7 Medições por espectroscopia de absorção no UV-vis

Todas as amostras foram preparadas diluindo-se aproximadamente 1,0000 g de cada amostra com hexano até cerca de 20,0000 g de solução final. Cada amostra foi colocada em uma cubeta de quartzo de 10 mm de diâmetro, e após a varredura a cubeta foi lavada três vezes com hexano e ambientada mais três vezes com a amostra seguinte. As varreduras espectrais foram feitas na faixa 200 a 400 nm, e as absorvâncias medidas em 232 e 270 nm. Os espectros foram coletados com uma velocidade de 600 nm min⁻¹.

3.3.8 Medições por espectroscopia de absorção no infravermelho

Todas as amostras foram preparadas diluindo-se aproximadamente 1,0000 g de cada uma em tetracloreto de carbono até cerca de 10,0000 g de solução final. Cada amostra foi colocada na cela de KBr. Após a varredura, a cela KBr foi lavada três vezes com acetona e ambientada mais três vezes com a solução da amostra seguinte. Os espectros na região do infravermelho por FTIR foram obtidos com resolução de 4 cm⁻¹ e 16 varreduras, na faixa de 4000-850 cm⁻¹.

3.3.9 Medições por espectroscopia de espalhamento Raman

As amostras foram colocadas diretamente em uma cubeta de quartzo de 10 mm de diâmetro, e após a varredura, a cubeta foi lavada três vezes com hexano e ambientada mais três vezes com a amostra seguinte. Os espectros foram coletados com resolução de 4 cm⁻¹ e 16 varreduras, na faixa de 3300-3500 cm⁻¹.

4. Resultados e discussão

4.1 Óleo de canola

Uma vez que os fenômenos naturais de oxidação são processos lentos, os testes de estabilidade acelerados assumem particular importância, pois permitem estimar de forma rápida a estabilidade oxidativa e avaliar de forma representativa a duração de vida do produto. Vários parâmetros podem ser monitorados, usando diferentes abordagens, permitindo que, com a informação conjunta de dados, se compreenda o mecanismo de reação, a natureza dos produtos gerados no processo, assim como as características do óleo que são afetadas.

4.1.1 Teor de cobre

A concentração de cobre nas amostras de óleo de canola contendo cobre metálico e CuO foram $14,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ e $4,6 \text{ mg.kg}^{-1}$, respectivamente. A concentração de cobre nas amostras de óleo de canola puro foi menor do que o limite de detecção do método.

4.1.2 Índice de saponificação

A reação de saponificação pode estabelecer o grau de degradação e a estabilidade, verificar se as propriedades dos óleos estão de acordo com as especificações e identificar possíveis fraudes e adulterações [101].

O índice de saponificação é definido como o número de (mg) de hidróxido de potássio (KOH), necessários para saponificar os ácidos graxos, resultantes da hidrólise de um grama da amostra [100]. Tal índice é inversamente proporcional ao peso molecular médio dos ácidos graxos dos triglicerídeos presentes. Ou seja, quanto menor o peso molecular do ácido graxo, tanto maior será o índice de saponificação. Para as gorduras vegetais, quanto mais altos os índices de saponificação mais se prestam para fins alimentares [102].

O índice de saponificação das amostras derivadas de óleo de canola no início do experimento, antes do aquecimento a 90 °C, e após 14 dias de aquecimento (t_{14}) estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Índice de saponificação das amostras derivadas de óleo de canola.

| Amostra | Índice de saponificação | |
|------------|-------------------------|----------|
| | t_0 | t_{14} |
| OC puro | 186 | 185 |
| OC + Cu(0) | 186 | 185 |
| OC + CuO | 186 | 185 |

Verificou-se que não ocorreu variação do índice de saponificação tanto na amostra de óleo de canola puro, como nas amostras de óleo de canola contaminadas com o metal.

4.1.3 Valor ácido

O valor ácido (VA) indica o progresso da oxidação das amostras de óleo aumenta durante a oxidação, pois os peróxidos formados a partir dos glicerídeos se tornam ácidos orgânicos. Assim, quanto maior o VA na amostra, maior será a formação de produtos de oxidação no óleo. O VA das amostras de óleo de canola durante o experimento foi indicado como a razão VA_{t_x}/VA_{t_0} , onde VA_{t_x} é o valor ácido medido em um tempo específico e VA_{t_0} é o valor ácido inicial da amostra, medido logo após a adição de cobre ao óleo. A variação do VA nas amostras de óleo (medido em réplicas autênticas) ao longo de um experimento de oxidação de 14 dias é mostrada na Figura 9.

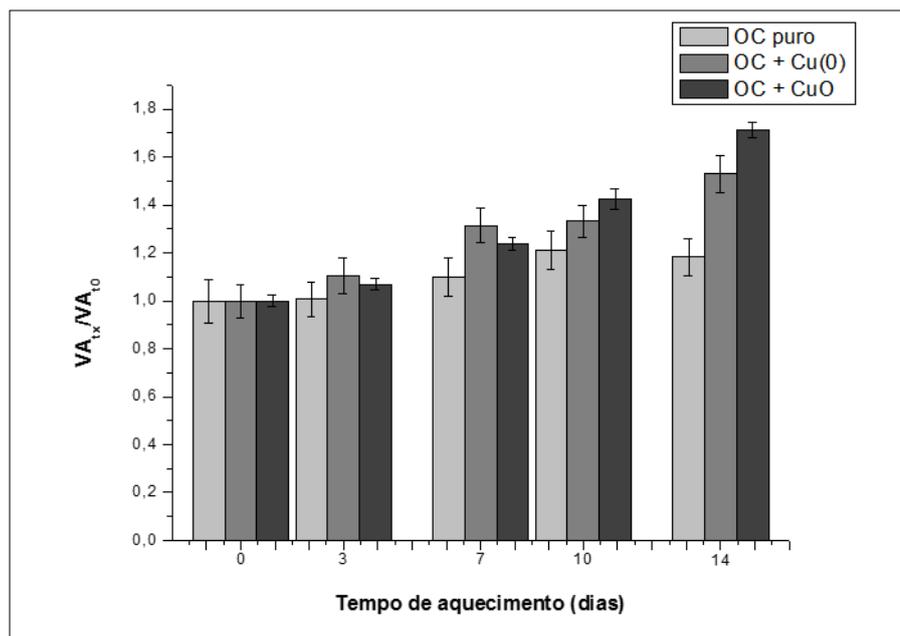


Figura 9. Valor ácido (VA_{tx}/VA_{t0}) medido para as amostras de óleo de canola puro e para as amostras de óleo de canola contaminadas com Cu (0) e CuO em função do tempo e na temperatura de 90 °C, sendo VA_{tx} o valor ácido medido em um tempo específico e VA_{t0} o valor ácido inicial.

Os resultados mostraram aumento do VA com o progresso da oxidação tanto nas amostras contaminadas com cobre quanto na amostra de óleo puro, indicando sua degradação oxidativa sob as condições de temperatura estabelecidas (90 °C). Inicialmente este aumento parece ser mais pronunciado nas amostras contendo cobre metálico. Contudo, durante o decorrer do experimento, as amostras contendo CuO apresentam quantidades maiores de produtos derivados do processo oxidativo. Até o dia 3 do experimento o cálculo da ANOVA mostrou que a variação no VA de todas as amostras são estatisticamente iguais, pois o valor de $F_{calculado}$ (1,02) foi menor do que o $F_{tabelado}$ (4,26). A partir deste ponto, as amostras contendo cobre mostram um aumento mais pronunciado no VA do que as amostra de óleo puro, culminando, no dia 10 do experimento, com a consolidação das diferenças, sendo observado um significativo aumento no VA das amostras contaminadas. Ao final do experimento, dia 14, verificou-se um aumento no VA de 1,5 e 1,7 para as amostras contaminadas com partículas de cobre metálico e CuO, respectivamente, enquanto, as amostras de óleo de canola puro mostraram um aumento de 1,2 vezes no VA em relação ao início do experimento.

O aumento no VA de amostras de óleos vegetais durante a decomposição térmica está de acordo com dados relatados na literatura. Por exemplo, em um estudo sobre a estabilidade do biodiesel de milho durante a estocagem a temperatura ambiente, Boulifi *et al.* [32] observaram que após dez meses de armazenamento, o VA destas amostras foi de três vezes maior do que o valor inicial. Bastos *et al.* [33] relataram que com o aquecimento por oito horas do óleo de canola a 180 °C, o teor de ácidos livres aumentou em quatro vezes nas amostras contaminadas com Cu^{+2} . A divergência entre os valores apresentados no presente estudo e os valores reportados por Boulifi *et al.* e por Bastos *et al.* pode ser atribuída as diferentes condições de estresse térmico as quais as amostras foram submetidas, pois a temperatura desempenha um papel importante na oxidação de óleos.

4.1.4 Índice de iodo

O índice de iodo, que mede o grau de instauração pela reação de iodo nas ligações etilênicas das cadeias de ácidos graxos, é um dos métodos mais comuns na determinação do nível de insaturação de óleos. Como a ocorrência de processos oxidativos é geralmente relacionada com uma redução nas insaturações presentes no óleo, este parâmetro tem sido utilizado para avaliar a evolução do processo oxidativo. Os resultados obtidos no presente estudo indicaram uma ligeira diminuição (cerca de 4%) no índice de iodo de todas as amostras de óleo não importando se elas foram previamente contaminadas com as espécies de cobre. Isso indicou que o número total de insaturações não é afetado durante os processos oxidativos mediados por cobre, como pode ser visto na Tabela 9, onde os valores são dados em gramas de I_2 reagidos por cada 100 g de óleo (g $\text{I}_2/100$ g).

Tabela 9. Índice de iodo ($\text{g I}_2/100 \text{ g}$) durante o experimento de oxidação para as amostras de óleo de canola puro e amostras de óleo de canola contendo cobre metálico e CuO mantidas a 90°C .

| Amostra | Tempo (dias) | | | | |
|-------------|--------------|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 3 | 7 | 10 | 14 |
| OC | 113 | 112 | 110 | 110 | 108 |
| OC + Cu (0) | 113 | 113 | 111 | 111 | 108 |
| OC + Cu(II) | 113 | 112 | 111 | 110 | 108 |

No presente estudo, o processo de oxidação acelerada observada para amostras contaminadas com partículas de cobre metálico ou Cu(II) não se refletiu nos valores de índice de iodo observados, sugerindo que uma grande parte da oxidação no óleo de canola contaminado com cobre não envolve diretamente as ligações duplas olefínicas.

Esta informação é corroborada por publicações anteriores, como o de Souza *et al.* [98]. Esses autores observaram que o índice de iodo de amostras de biodiesel de soja apenas diminuiu de 103 a 95 g de I_2 por 100 g de óleo após 30 dias de armazenamento.

4.1.5 Estabilidade oxidativa por Rancimat

A estabilidade à oxidação pode ser caracterizada pelo tempo de indução, obtido quando amostras são submetidas a um processo de oxidação acelerado. O teste Rancimat® [42] foi usado neste trabalho.

Os resultados mostraram que, com a evolução do processo oxidativo, o tempo de indução diminuiu para todas as amostras (Figura 10). Verificou-se também que as amostras contendo cobre, não importando em qual estado de oxidação, 0 ou +2, sofreram uma diminuição mais pronunciada no tempo de indução. No dia 3 do experimento as amostras contaminadas com cobre sofreram um expressivo decréscimo nos seus tempos de indução. Na amostra contaminada com cobre metálico observou-se uma diminuição no tempo de indução de 0,73 h para 0,25 h, equivalente a uma redução de 65,7%, e na amostra contaminada com Cu II o tempo de indução passou de 0,73 para 0,14 h, valor que corresponde a

80,8%, atingindo valores de tempo de indução próximos aos valores mínimos determinados neste teste. Contudo, na amostra de óleo de canola puro observou-se uma diminuição significativa do tempo de indução apenas no dia 7 do experimento, sendo a redução no dia 3 de 24,9%.

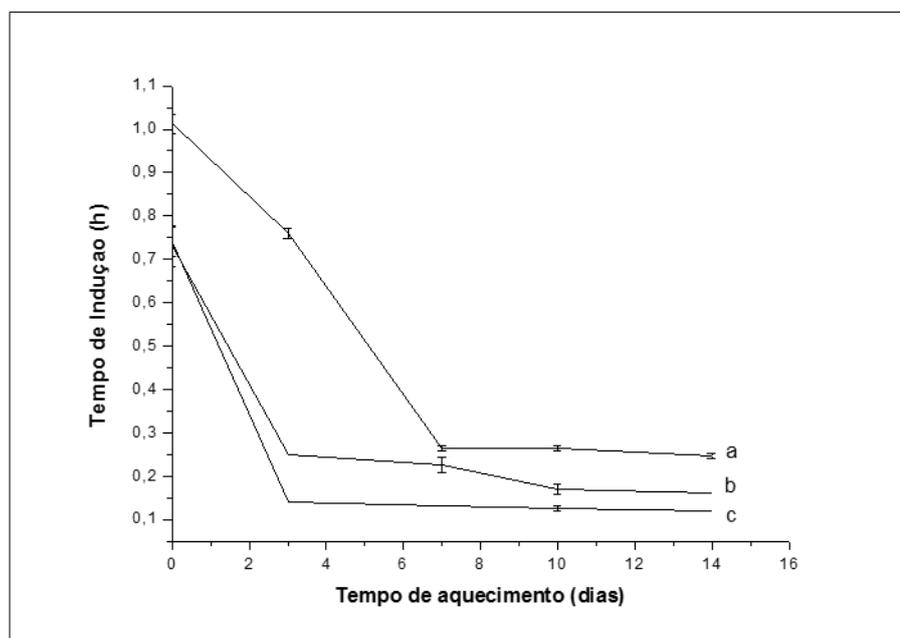


Figura 10. Tempo de indução (TI) em função do tempo de estocagem para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: a) óleo de canola puro; b) óleo de canola contaminado com partículas de cobre metálico e c) óleo de canola contaminado com CuO.

Ao final do experimento, dia 14, verificou-se que as amostras de óleo de canola puro sofreram uma redução de 75,8% em seus tempos de indução, enquanto as amostras contaminadas com cobre metálico e Cu(II) apresentaram uma diminuição do tempo de indução de 78,1 e 83,8%, respectivamente.

Os dados obtidos no presente trabalho concordam com os resultados relatados na literatura [95-96,103]. Sarin *et al.* [95] e Silva *et al.* [96] também verificaram o efeito nocivo da adição do cobre sob a estabilidade oxidativa do éster metílico de palma e do biodiesel de soja, respectivamente. Jain e Sharma [103] observaram que, nas amostras de biodiesel de pinhão manso estocadas à temperatura ambiente, o tempo de indução, após 1,5 meses de estocagem, decresceu de 4 h para 3 h, equivalente a 25% de redução. Os autores também

verificaram que, nas amostras contaminadas com cobre durante o mesmo período de estocagem, a diminuição do tempo de indução foi mais pronunciada, diminuindo de 0,5 h para 0,15 h, uma redução de 70% do tempo de indução. A redução no tempo de indução no estudo realizado por Jain e Sharma é semelhante aos valores determinados no presente trabalho, embora o tempo de estocagem tenha sido diferente. Esta divergência pode ser atribuída as diferentes temperaturas nas quais os estudos foram realizados, pois, enquanto nesta Tese as amostras foram aquecidas a 90 °C, Jain e Sharma estocaram suas amostras a temperatura ambiente.

4.1.6 Espectroscopia de absorção no UV

As absorvâncias medidas no UV-Vis a 232 e 270 nm foram utilizadas para o acompanhamento da oxidação do óleo durante o período do experimento de aquecimento. Essas medições são feitas nesses comprimentos de onda porque os produtos de oxidação, dienos conjugados e produtos secundários como as cetonas insaturadas, absorvem fortemente a 232 e 270 nm, respectivamente. A diferença na evolução destas bandas com o progresso do tratamento térmico é particularmente interessante, uma vez que permite avaliar os diferentes estágios do processo de oxidação.

A banda com o máximo de absorvância a 232 nm corresponde aos hidroperóxidos, e, portanto, ao início do processo de oxidação. Assim, quanto maior a intensidade da absorvância neste comprimento de onda maior será o conteúdo em peróxido na amostra de óleo. Na Figura 11 observa-se que a absorvância medida neste comprimento de onda aumentou cerca de 20% após três dias de aquecimento, independentemente da contaminação com cobre metálico ou CuO, permanecendo relativamente constante até o décimo dia do experimento. No último dia (14° dia) do experimento, um aumento adicional (cerca de 25%) de absorvância foi observado em todas as amostras.

Esses dados concordam com os resultados observados para VA, que também mostram um significativo aumento a partir do dia 10 do experimento. A primeira etapa de oxidação de ácidos graxos insaturados é a alteração na dupla ligação. Esta mudança ocorre quando um átomo de hidrogênio é abstraído do grupo

metileno posicionado entre duas duplas ligações existentes na configuração original. Assim, um radical intermediário é produzido, formando estruturas de ressonância contendo dienos conjugados. Estes componentes intermediários reagem com oxigênio molecular levando a formação de hidroperóxido conjugado (Figuras 3, 4 e 5). A extensão do deslocamento da ligação está relacionada com o grau de insaturação do óleo. Por esse motivo, o valor da absorvância medida a 232 nm em óleo puro submetido a um aquecimento é próximo dos valores de óleo contaminado com CuO.

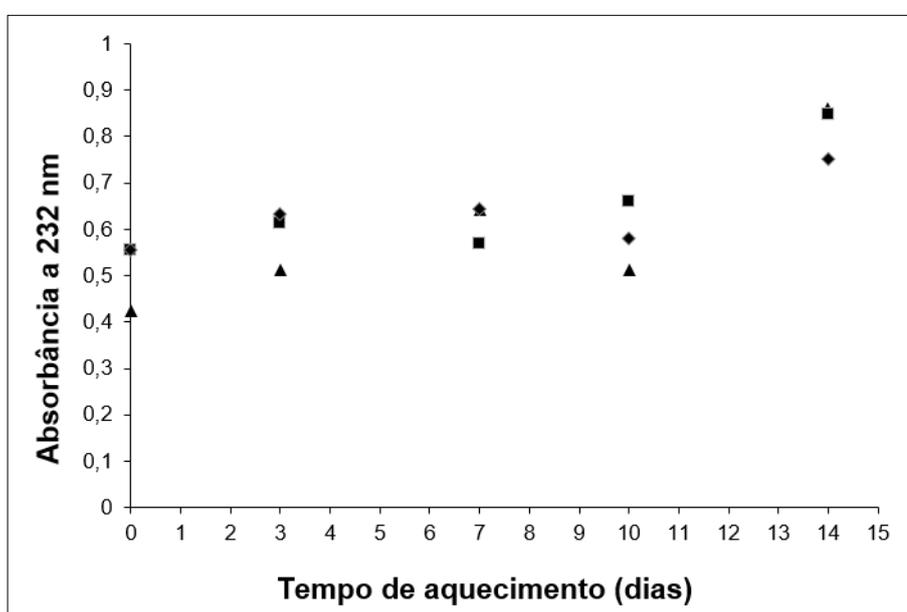


Figura 11. Absorvância no UV medida em 232 nm em função do tempo de aquecimento a 90 °C para as amostras de óleo de canola: ♦ óleo de canola puro; ■ óleo de canola contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de canola contaminado com CuO.

Na Figura 12 pode-se observar que nas amostras contaminadas com cobre as intensidades das absorvâncias em 270 nm foram maiores do que na amostra de óleo de canola puro. Verificou-se também um aumento na intensidade da absorvância a 270 nm de 3,2 e 3,6 para as amostras contaminadas com cobre metálico e para as contaminadas com CuO, respectivamente, enquanto, as amostras de óleo de canola puro mostraram um aumento de 2,4 vezes em relação ao início do experimento. Como o aumento da absorvância a 270 nm corresponde

ao aumento do teor de produtos secundários, esses resultados indicam que as amostras que contém cobre sofreram maior oxidação, sugerindo que o cobre atua como catalisador.

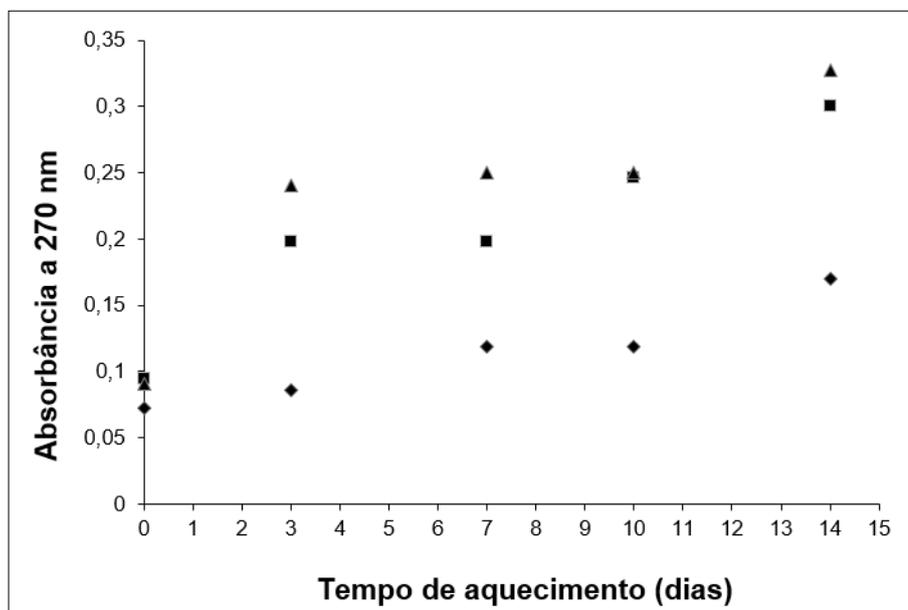


Figura 12. Absorvância no UV a 270 nm em função do tempo de aquecimento a 90 °C do óleo de canola: ♦ óleo de canola puro; ■ óleo de canola contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de canola contaminado com CuO.

Os hidroperóxidos formados na primeira etapa de oxidação são muito instáveis, e decompõem-se em produtos de oxidação secundários, que absorvem a 270 nm. A primeira etapa da decomposição de um hidroperóxido insaturado é a clivagem homolítica da ligação oxigênio-oxigênio (I), para se obter um radical alcoxi e radicais hidroxí. A clivagem da ligação carbono-carbono (ii) e (iii) conduz a formação de ésteres e aldeídos, respectivamente (Figura 13).

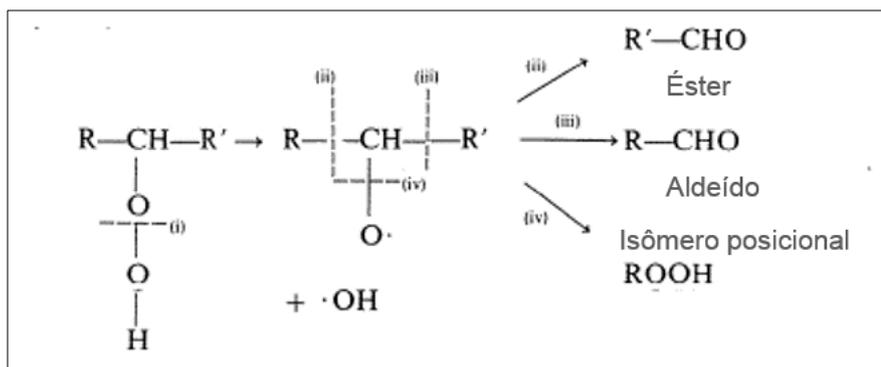


Figura 13. Mecanismo de formação de produtos secundário da oxidação lipídica.

A clivagem carbono-oxigênio (IV) pode proporcionar um caminho para a isomerização posicional do hidroperóxidos insaturados, por exemplo, 9 dieno-hidroperóxidos e 13 dieno-hidroperóxidos (Figura 14).

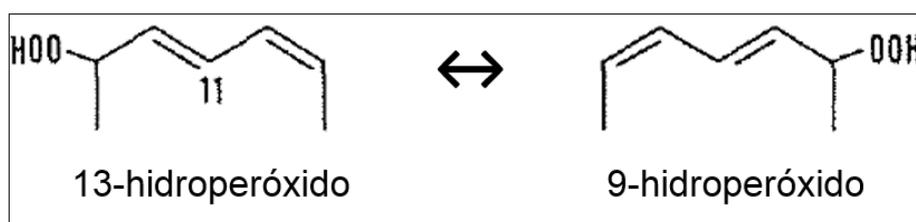


Figura 14. Isômeros posicionais 9 dieno-hidroperóxidos e 13 dieno-hidroperóxidos.

Os resultados do presente estudo estão de acordo com dados apresentados na literatura. Por exemplo, Dantas *et al.* [104] observaram que a intensidade de ambas as bandas, a 232 e a 270 nm, aumentou com o decorrer do tratamento térmico do biodiesel de milho aquecido a 150 °C.

4.1.7 Espectrometria de absorção no infravermelho

Amostras de óleos são geralmente complexas e contém uma mistura de vários compostos diferentes cujos espectros de infravermelho são bastante similares e se sobrepõe. Contudo, estes espectros refletem as diferenças na composição das amostras estudadas. Assim, a identificação de bandas específicas possibilita relacionar características espectrais com parâmetros associados à

oxidação dos óleos vegetais. Na Figura 15 é mostrado o espectro típico do óleo de canola sem adição de cobre e antes de ser submetido ao aquecimento a 90 °C.

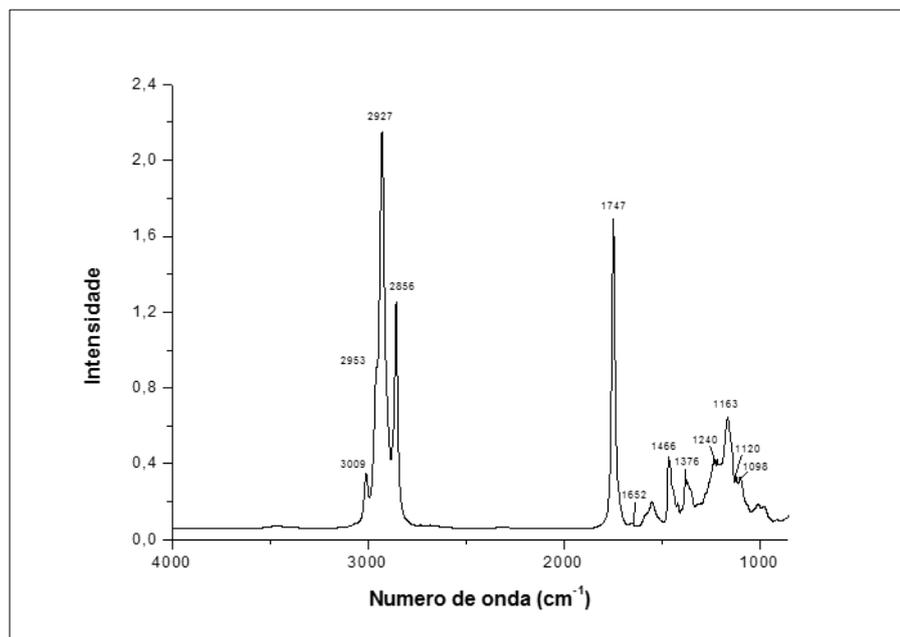


Figura 15. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) do óleo de canola puro usado como referência.

As atribuições das bandas de infravermelho foram realizadas por comparação dos dados da literatura [105-107]. O espectro mostra uma pequena banda com máximo em 3472 cm^{-1} que está associada à um sobretom da absorção da carbonila do éster glicérido. Um ombro próximo a 3027 cm^{-1} e uma banda com máximo em aproximadamente 3009 cm^{-1} são também observados. Essas bandas são atribuídas às vibrações de estiramento das duplas ligações *trans* e *cis*, respectivamente. Contudo, a intensidade da banda *trans* é, em comparação, pequena, indicando que os isômeros *trans* não estão presentes em quantidades significativas nos óleos. O estiramento assimétrico do grupo metil causa um ombro a 2953 cm^{-1} . Como esperado, tanto a banda de estiramento assimétrico (com máximo em 2927 cm^{-1}) quanto à de estiramento simétrico (com máximo em 2856 cm^{-1}) dos grupos metileno estão presentes. A grande intensidade destas bandas reflete a quantidade de grupos CH_2 presentes nas cadeias carbônicas. O estiramento ($\text{C}=\text{O}$) do éster dos triglicerídeos é observado como uma banda

intensa a 1747 cm^{-1} . Uma pequena banda pode ser detectada a 1652 cm^{-1} . Olefinas *cis* dissustituídas absorvem próximo a 1650 cm^{-1} . Por esta razão, essa banda pode ser atribuída à vibração do estiramento da ligação C=C dos grupos acila dos ácidos oléico e linoléico. Com máximo em aproximadamente 1466 cm^{-1} verificou-se uma banda assimétrica que pode ser atribuída aos movimentos de deformação angular do tipo *scissoring* dos grupos metileno. Com máximo em 1376 cm^{-1} ocorreu uma banda que pode ser associada à deformação angular simétrica dos grupos metila. As bandas com máximo em 1240 e 1163 cm^{-1} são devidas à vibração de estiramento $\nu(\text{C}-\text{CO}-\text{O})$ do grupo éster e à deformação angular do grupo CH_2 . As bandas com máximo em 1120 e 1098 cm^{-1} estão associadas às vibrações de estiramento dos grupos $\nu(\text{O}-\text{C}-\text{C})$ do éster [54-55,70-71,102]. A vibração de estiramento da ligação C-O dos ésteres derivados de álcoois secundários aparece com máximo em aproximadamente 1100 cm^{-1} .

Como a espectroscopia de infravermelho tem sido considerada uma técnica experimental eficiente no monitoramento da oxidação de óleos vegetais e existem métodos variados baseados em FT-IR para a determinação de índices relacionados à oxidação de óleos vegetais. Neste trabalho, essa espectroscopia foi aplicada de modo a monitorar as razões entre os valores das absorbâncias $(I_{\nu_1}/I_{\nu_2})_{\text{tx}}$, em vez dos valores absolutos de absorbância (I_{ν}). Isso foi feito de tal modo a minimizar variações naturais de réplicas e quaisquer diferenças devido ao registro de espectros. De fato, tal como mencionado, as proporções específicas da intensidade espectrais foram utilizados por vários autores para caracterizar óleos vegetais [64-65] e, como indicadores do grau de oxidação dos óleos [43-46]. A banda a 2856 cm^{-1} foi escolhida como referência para comparação, em relação às variações na intensidade de outras bandas, uma vez que é a banda característica do estiramento simétrico de grupos metileno, que se espera não sofrer variações durante processos oxidativos. Além disso, é uma banda estreita e simétrica.

Após submeter as amostras aos ensaios de envelhecimento por estresse térmico, verificou-se que as bandas mais afetadas pela adição de cobre foram aquelas a 3009 , 1747 e 1240 cm^{-1} , para efeito de quantificação foram escolhidas as bandas 3009 e 1747 cm^{-1} . As variações nas razões de intensidades máximas das

bandas $(I_{2856}/I_{3009})_{tx}/(I_{2856}/I_{3009})_{t0}$ ao longo do processo de oxidação para as amostras de óleo de canola puro são apresentadas na Figura 16.

A intensidade das bandas (alturas), tanto do estiramento simétrico de grupos metileno e quanto das vibrações de estiramento das duplas ligações *cis*, foi medida em 2856 cm^{-1} e 3009 cm^{-1} , respectivamente. Essas medições foram efetuadas em relação a linha de base entre 3040 a 2800 cm^{-1} . O desvio padrão combinado para os valores desta razão produziram um coeficiente de variação menor que 0,18%.

Pode-se observar que com a progressão do processo de oxidação, as razões da absorvância medida a 2855 cm^{-1} (estiramento simétrico da vibração dos grupos CH_2) e a absorvância medida a 3009 cm^{-1} (grupos *cis*-olefínicos) aumenta significativamente, sugerindo uma diminuição no número de duplas ligações *cis* ao longo do processo.

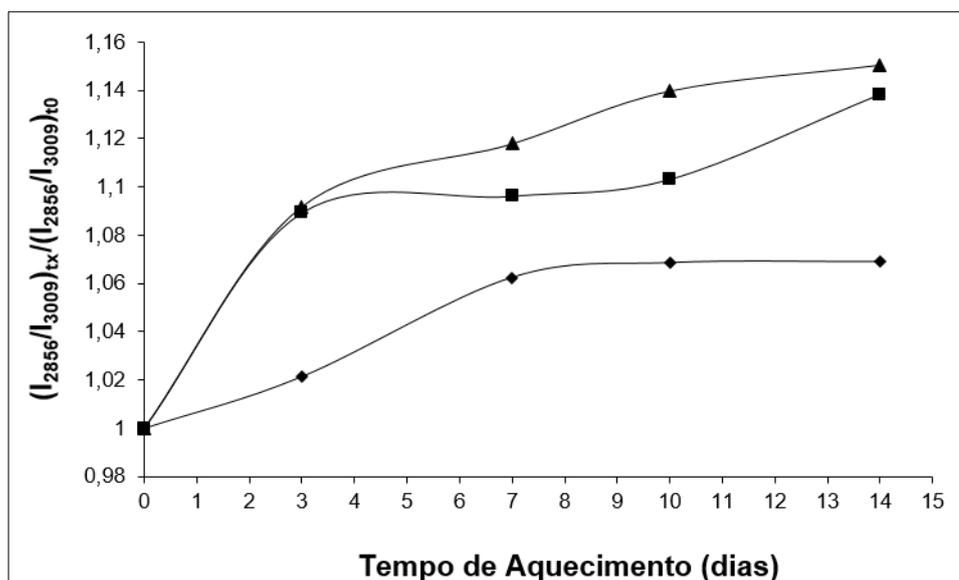


Figura 16. Variação da razão $(I_{2856}/I_{3009})_{tx}/(I_{2856}/I_{3009})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$: ♦ óleo de canola puro; ■ óleo de canola contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de canola contaminado com CuO .

Como observado na Figura 15, a oxidação do óleo puro parece estabilizar após o dia 7. Para as amostras contaminadas, as taxas de oxidação iniciais (até ao

dia 3) são semelhantes, não importa quais espécies de cobre estão presentes, e 4,3 vezes maior do que a observada para o óleo puro no mesmo período de tempo. Após o dia 3 parece ocorrer um tempo de indução, que é muito curto para a amostra contendo CuO e com duração de cerca de sete dias (desde o dia 3 ao dia 10) para a amostra que contém partículas de Cu metálico. Após o tempo de indução, a oxidação das amostras contaminadas continua até ao último dia monitorado (dia 14). Neste último dia de monitoramento, o valor da razão $(I_{2856}/I_{3009})_{ix}/(I_{2856}/I_{3009})_{i0}$ é 1,14 e 1,15, respectivamente, para as amostras contaminadas com partículas Cu metálico e de e CuO, enquanto que o valor máximo de 1,07 é alcançado sete dias antes para o óleo puro. Estes resultados sugerem que o cobre atua como um catalisador na oxidação do óleo de canola, o que é consistente com os resultados descritos na literatura e nos resultados obtidos neste estudo para as determinações de VA e análise usando Rancimat e UV.

É relevante salientar que o índice de iodo indica o número total de duplas ligações, não distinguindo diferenças estruturais, tais como a posição da dupla ligação na cadeia. Por esse motivo, ácidos graxos com estruturas diferentes podem ter o mesmo valor de índice de iodo, mas diferentes susceptibilidades à oxidação [36]. Assim, as diferenças entre as variações do índice de iodo e da razão $(I_{2856}/I_{3009})_{ix}/(I_{2856}/I_{3009})_{i0}$ podem ser atribuídas ao fato das insaturações *trans* não terem sido contabilizadas. De fato, Knothe [36] relatou que o índice de iodo não é suficientemente preciso para a melhor correlação com a estabilidade oxidativa.

Resultados semelhantes aos relatados foram obtidos por Guillén e Cabo [45], que observaram o aumento ao longo do tempo da razão entre as intensidades medidas a 2855 cm^{-1} e 3009 cm^{-1} para o óleo de noqueira, óleo de girassol e óleo de oliva armazenados a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dreau *et al.* [108] observaram correlações semelhantes ao monitorar o envelhecimento do óleo de jojoba, a 140°C . Esses autores verificaram que durante o processo de oxidação, a banda a 3004 cm^{-1} diminuía, e surgia um ombro na banda próxima a 1746 cm^{-1} . Muika *et al.* [48] também relataram diminuição na intensidade da banda próxima a 3008 cm^{-1} no monitoramento da oxidação de óleos vegetais. Portanto, os valores da razão $(I_{2856}/I_{3009})_{ix}/(I_{2856}/I_{3009})_{i0}$ podem ser considerados um parâmetro indicativo do grau de oxidação do óleo.

A banda espectral forte com máximo em 1747 cm^{-1} , relacionada com carbonila de ésteres de triglicerídeos, também sofre alterações durante o processo de oxidação, tal como ilustrado na Figura 17 para a amostra de óleo de canola contaminada com CuO.

A intensidade das bandas (alturas), tanto do estiramento simétrico de grupos metileno e quanto das vibrações de estiramento das duplas ligações cis, foi medida em 2856 cm^{-1} e 3009 cm^{-1} , respectivamente. Essas medições foram efetuadas em relação a linha de base entre 3040 a 2800 cm^{-1} . O desvio padrão combinado para os valores desta razão produziram um coeficiente de variação menor que $0,18\%$. A intensidade da banda (altura) do estiramento simétrico de grupos metileno foi medida em 2856 cm^{-1} , e a intensidade da banda correspondente às vibrações de estiramento dos grupos éster dos triglicerídeos foi medida em 1746 cm^{-1} . Essas medições foram efetuadas em relação a linha de base entre 3040 a 2800 cm^{-1} . O desvio padrão combinado para os valores desta razão produziram um coeficiente de variação menor que $0,18\%$.

A banda com máximo a 1240 cm^{-1} , associada à vibração de estiramento da ligação C–O dos grupos éster, sofre mudanças semelhantes durante o processo de oxidação, que é uma evidência adicional da degradação dos grupos R–COO–R. A diminuição da intensidade da banda a 1240 cm^{-1} também foi mais pronunciada nas amostras contaminadas com Cu(II), sugerindo que esta espécie de cobre promoveu um maior grau de oxidação.

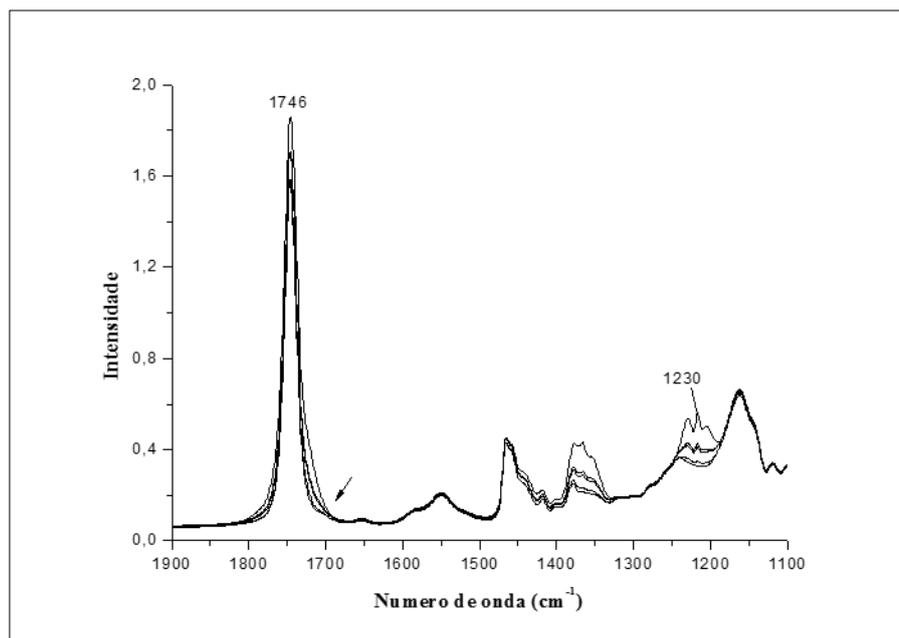


Figura 17. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de canola contaminadas com CuO: logo após a contaminação (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90°C.

Na Figura 17 pode-se observar um pequeno ombro perto de 1710 cm^{-1} , assinalado pela seta, que pode ser atribuído à presença de ácidos graxos livres formados durante a oxidação do óleo. Em um estudo anterior, o Lancer *et al.* [63] mediram com êxito o teor de ácidos graxos livres em óleos brutos por FT-IR através deconvolução das bandas de carbonila em 1710 cm^{-1} . Produtos de oxidação secundários absorvem próximo às, 1746 cm^{-1} , e por isso, suas absorções são sobrepostas pela vibração do grupo funcional carbonilo do éster. Embora tenha sido identificado um pequeno ombro que pode ser atribuído à presença de ácidos graxos livres, não foi possível o cálculo preciso da área para estimar o teor de ácidos graxos livres nas amostras de óleo de canola.

Tomados em conjunto, os resultados obtidos com a espectroscopia de absorção no infravermelho confirmam que o cobre (não importa a espécie) participa ativamente do processo de degradação do óleo, indicando também que o óleo puro pode sofrer um mecanismo de oxidação quando armazenado a alta temperatura. Também é interessante observar que não ocorreram alterações nas bandas com máximo em 1120 e 1098 cm^{-1} , que estão associadas com às vibrações de estiramento dos grupos $\nu(\text{O}-\text{C}-\text{C})$ do éster, sugerindo que a clivagem que

ocorre é a de C–O, isto é, a hidrólise da função éster dos triglicéridos. Na Figura 18 pode-se observar a representação dos modos de estiramento em um éster e seus respectivos números de onda.

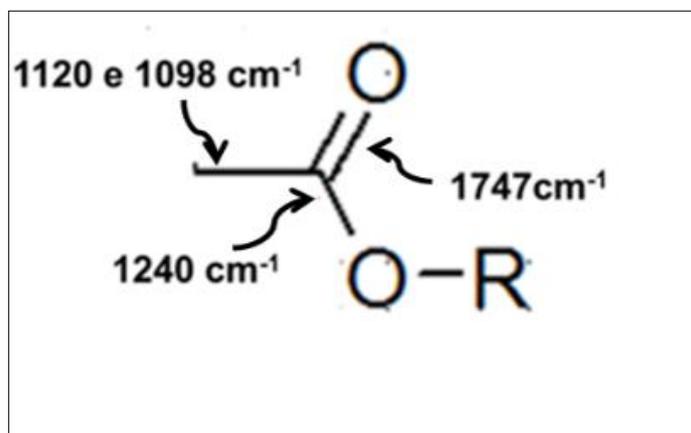


Figura 18. Representação dos modos de estiramento em um éster e seus respectivos números de onda.

Na Figura 19 e na Figura 20 é mostrada a região do espectro compreendida entre 1900 e 1100 cm^{-1} para as amostras de óleo de canola puro e óleo de canola contaminado com cobre metálico, respectivamente. Do mesmo modo que nas amostras de óleo de canola contaminada com Cu(II) , a banda com máximo em 1747 cm^{-1} (carbonila de ésteres de triglicerídeos) e a banda a 1240 cm^{-1} (vibração de estiramento da ligação C–O dos grupos éster) também sofrem alterações durante o processo de oxidação. Pode-se também observar um pequeno ombro perto de 1710 cm^{-1} , assinalado pela seta nas Figuras 19 e 20, que pode ser atribuído à presença de ácidos graxos livres formados durante a oxidação do óleo.

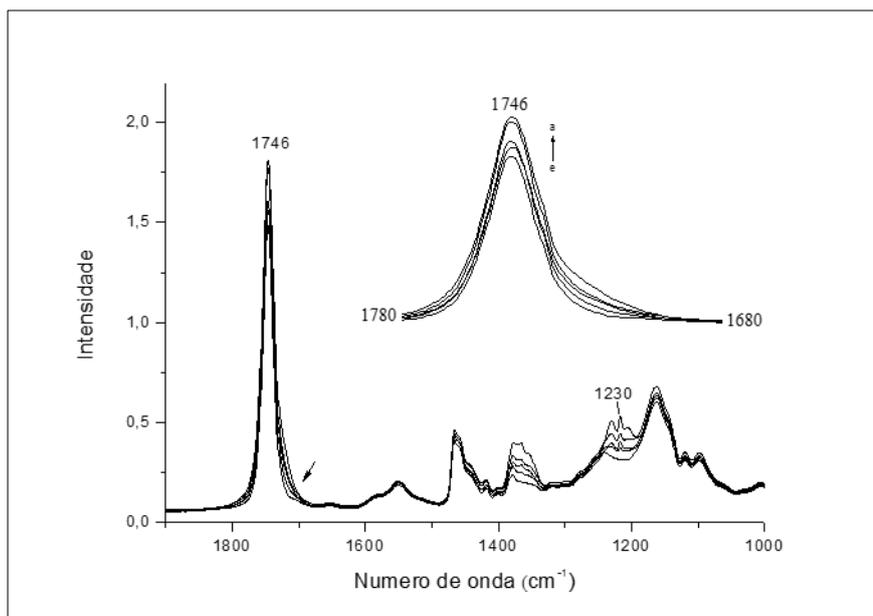


Figura 19. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de canola contaminadas com cobre metálico: logo após a contaminação, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C.

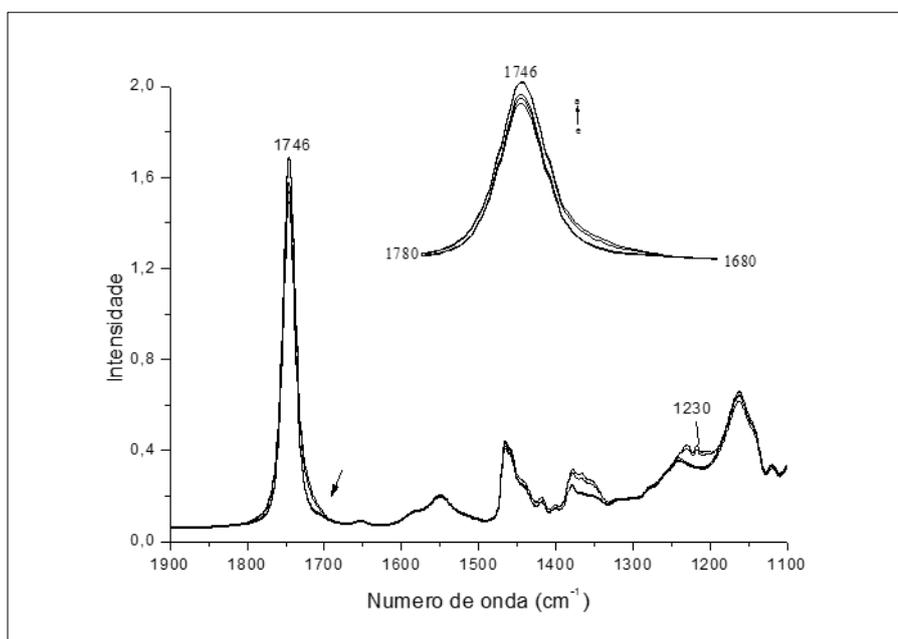


Figura 20. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de canola puro logo após a contaminação, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90°C.

O aumento da razão $(I_{2856}/I_{1747})_{tx}/(I_{2856}/I_{1747})_{t0}$ observado na Figura 21 sugere que o número de grupos éster diminuiu nas amostras de óleo contaminado com cobre. O aumento desta razão é muito menos pronunciado no óleo de canola puro, o que sugere a interação entre o átomo de oxigênio dos grupos éster e o cobre, talvez envolvendo a formação de um complexo de coordenação em solução. Observações semelhantes foram feitas por Muika [48] e Van der Voort, [46], no entanto eles atribuíram tal diminuição na banda de éster a um efeito de diluição devido à absorção de oxigênio pelas amostras.

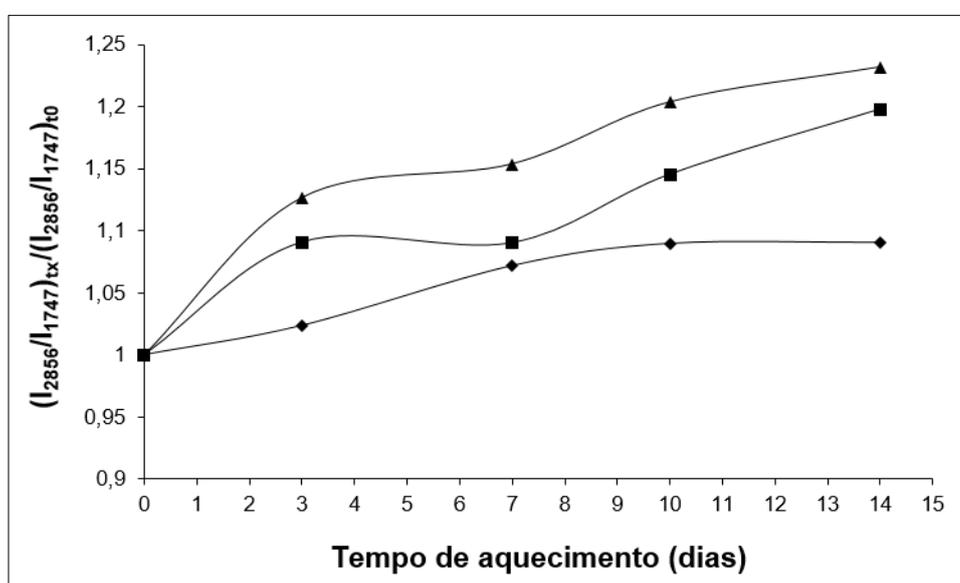


Figura 21. Variação da razão $(I_{2856}/I_{1747})_{tx}/(I_{2856}/I_{1747})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: ♦ óleo de canola puro; ■ óleo de canola contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de canola contaminado com CuO.

A ligação éster nos triglicerídeos é uma das ligações mais estáveis nos óleos, e sua hidrólise apenas ocorre em temperaturas superiores a 185 °C e na presença de umidade [26]. Assim, nas condições deste estudo, a clivagem da ligação éster não é esperada. No entanto, acredita-se que a hidrólise de ligações éster seja a principal causa da produção de ácidos graxos livres, sendo o aumento expressivo no VA observado, um indicativo da formação destes compostos. A Figura 22 apresenta o mecanismo proposto para hidrólise da ligação éster na presença de cobre.

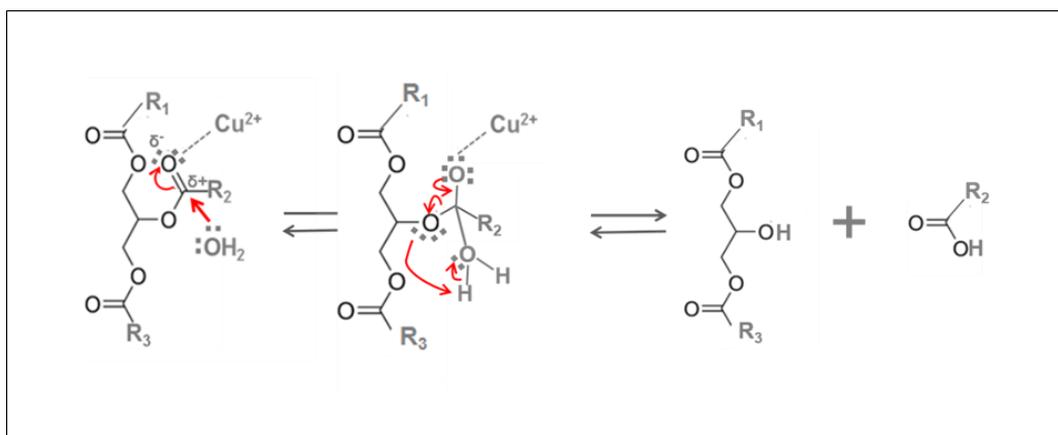


Figura 22. Mecanismo da hidrólise da ligação éster na presença de cobre.

Os resultados deste estudo indicam que o CuO exerce maior efeito catalítico do que as partículas de cobre metálico, pois tanto a diminuição no número de insaturações como a diminuição na banda característica das carbonilas dos ésteres são maiores nas amostras contendo CuO. Estes resultados estão de acordo com outros autores. Aquino *et al.* [109], por exemplo, avaliaram o efeito da temperatura sobre a taxa de corrosão de cobre e latão, quando imersos em biocombustíveis, notando que a taxa de corrosão para o bronze foi sempre mais elevada do que para o cobre em todas as condições de estudo. Os resultados indicaram que o latão favoreceu a degradação do biodiesel mais significativamente devido à liberação de íons Cu^{2+} .

Na Figura 23 e na Figura 24 é mostrada a região do espectro entre (3200 e 3600) cm^{-1} para as amostras contaminadas com cobre metálico e Cu(II), respectivamente. Observa-se que a banda com máximo em aproximadamente 3472 cm^{-1} (sobretom da carbonila do éster dos glicerídeos) se torna mais larga e mais intensa devido à sobreposição da banda original com outra absorção causada pelos hidroperóxidos gerados pela oxidação dos óleos. Estes resultados confirmam os dados obtidos por espectroscopia de absorção no UV, que indica um crescente aumento no teor de peróxidos.

Os resultados obtidos na presente Tese estão em concordância com os relatados por outros autores [45,110]. Hamed e Allam [110] observaram que nas amostras de óleo de girassol aquecidas a 70 °C a banda com máximo em

aproximadamente 3572 cm^{-1} aumentou de intensidade e sofreu um deslocamento para valores de números de onda menores. Guillén e Cabo [45] na avaliação da estabilidade oxidativa de óleos vegetais comerciais (soja girassol, milho e oliva) aquecidos a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ também observaram que a banda com máximo em aproximadamente 3572 cm^{-1} se tornou mais larga e que com o progresso da oxidação seu máximo se deslocou para números de onda menores.

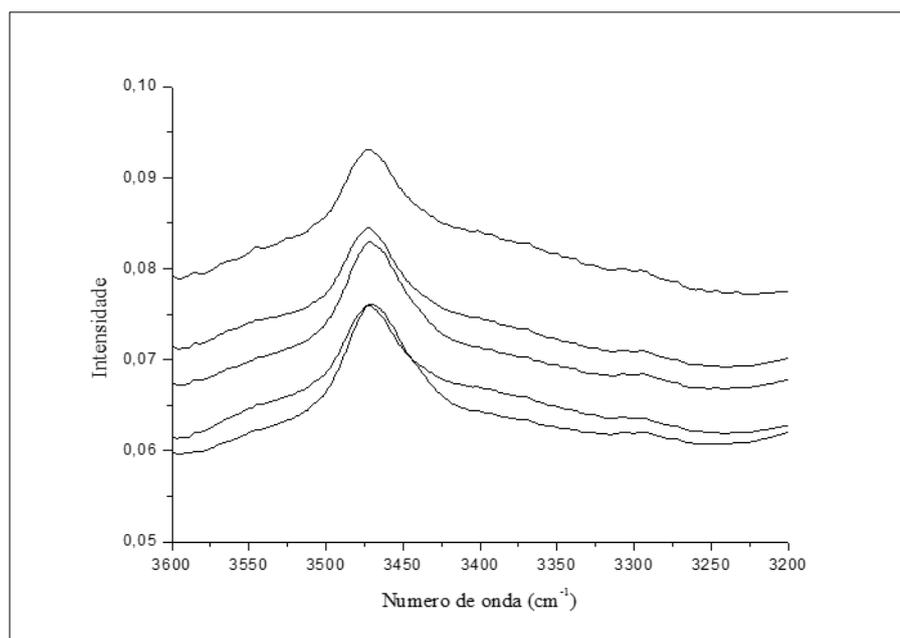


Figura 23. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) do óleo de canola contaminadas com Cu metálico: logo após a contaminação, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$.

O aumento da intensidade e largura da banda é mais pronunciado nas amostras de óleo de canola contendo CuO, sugerindo que essas amostras apresentam maior taxa de oxidação no decorrer do experimento. Este resultado concorda com os dados obtidos na determinação do VA, que mostram um aumento maior nas amostras contaminadas com CuO, assim como com os resultados obtidos com o teste Rancimat, no qual se verifica que estas amostras sofreram uma diminuição mais pronunciada no tempo de indução.

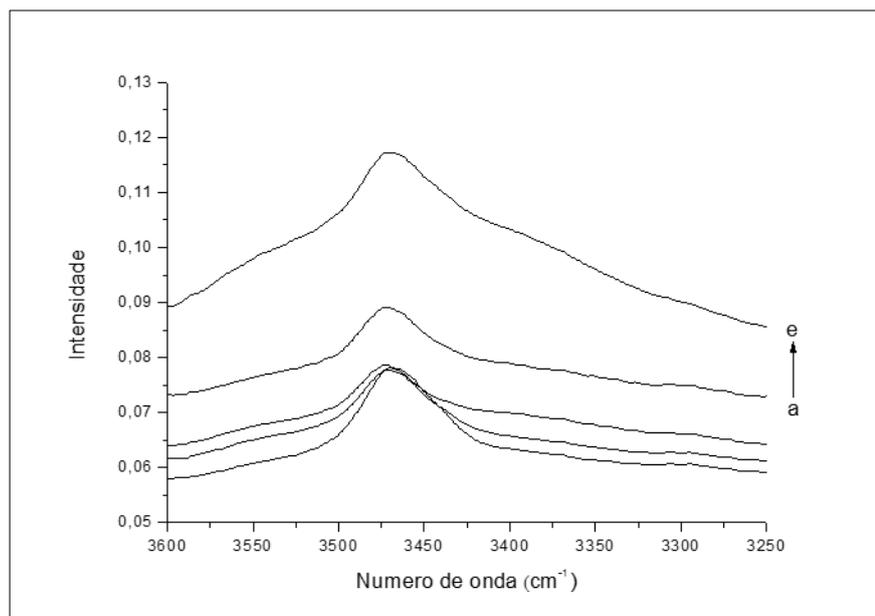


Figura 24. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de canola contaminadas com CuO: logo após a contaminação, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C.

Na Figura 25 é mostrada a região entre 3600 e 3100 cm⁻¹ para o óleo de canola puro. Estas amostras apresentam um comportamento diferente das amostras contaminadas com cobre. Observa-se que a banda com máximo em aproximadamente 3472 cm⁻¹ sofre um pequeno aumento até o dia 3, permanecendo, então, praticamente inalterada até o dia 10 quando volta a aumentar. Este resultado é consistente com os resultados observados na absorção no UV a 232 nm.

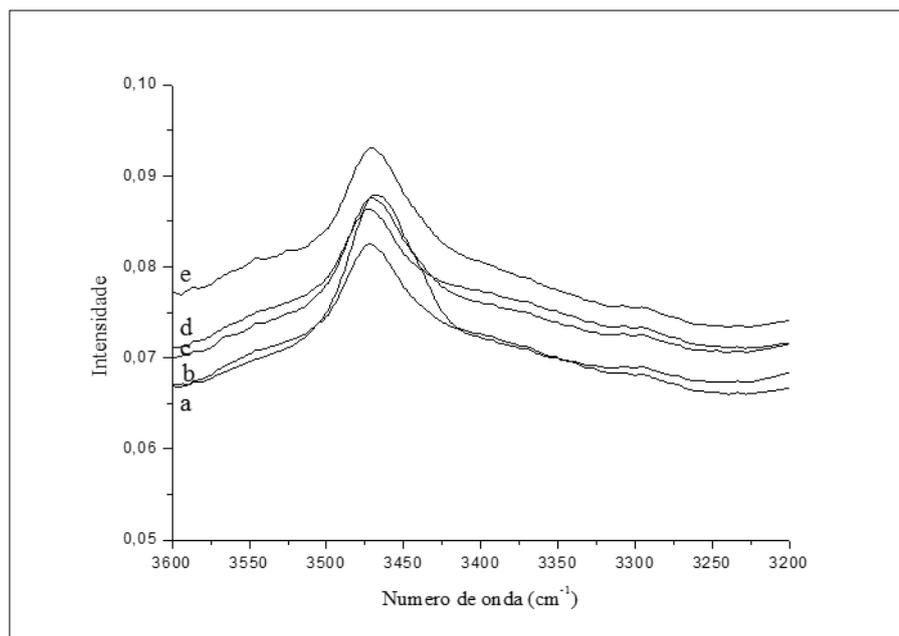


Figura 25. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de canola puro: antes de ser submetido a aquecimento, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C.

4.1.8 Espectroscopia de espalhamento Raman

Os espectros de espalhamento Raman das amostras estudadas são similares visualmente, sendo que as atribuições das bandas aos grupos responsáveis foram realizadas por comparação com dados da literatura [91-93]. Na Figura 26 é mostrado o espectro de espalhamento Raman do óleo de canola sem adição de cobre e antes de ser submetida ao tratamento térmico.

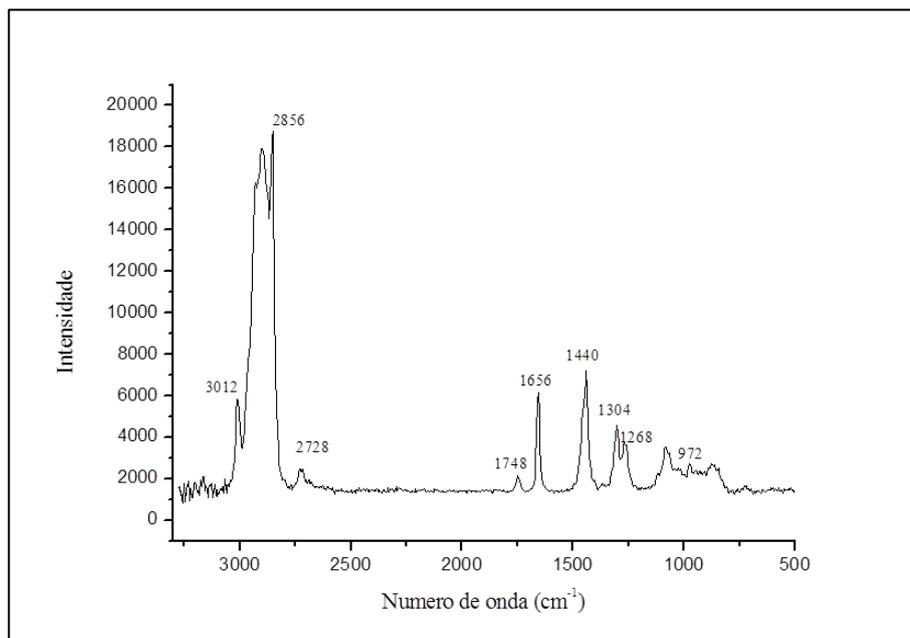


Figura 26. Espectro de espalhamento Raman do óleo de canola puro antes de ser submetido a estresse oxidativo.

Uma banda com máximo em 3012 cm^{-1} foi observada e atribuída ao estiramento das duplas ligações *cis*. O estiramento assimétrico do grupo metila causa um ombro a 2956 cm^{-1} . Observou-se também uma banda de estiramento assimétrico do metileno com máximo a 2926 cm^{-1} e a banda de estiramento simétrico do metileno com máximo em 2856 cm^{-1} . A banda com máximo atribuído em 2727 cm^{-1} é referente ao estiramento da ligação C-H de aldeídos. Os grupos C=O dos triglicerídeos mostram um estiramento com máximo em 1748 cm^{-1} . Verificou-se uma banda com máximo em 1656 cm^{-1} , que pode ser atribuída a olefinas *cis* dissustituídas. O espectro também mostrou uma banda com máximo em 1440 cm^{-1} , referente a deformação angular do grupo metileno. A banda de estiramento simétrico das duplas ligações *cis* aparece com máximo em 1268 cm^{-1} . A pequena banda, com máximo em 974 cm^{-1} , pode ser atribuída à vibração da deformação angular fora do plano de grupos olefínicos *trans* dissustituídos.

Os espectros de FT-IR e espalhamento Raman apresentam pontos de concordância e também diferenças. Por exemplo, o estiramento C-H apresenta bandas muito intensas na região entre 3000 e 2800 cm^{-1} em ambos os casos,

enquanto que o estiramento C=O apresenta absorção muito intensa a 1746 cm^{-1} no espectro de FT-IR e uma banda fraca no Raman com máximo em 1748 cm^{-1} .

Semelhantemente aos espectros de espalhamento Raman, bandas muito fracas próximas a 968 cm^{-1} (referentes às ligações *trans* C=C) foram observadas no espectro FT-IR. A banda de estiramento da ligação *cis* C=C com máximo em 1653 cm^{-1} no espectro de FT-IR é fraca, porém, intensa (máximo em 1656 cm^{-1}) no espectro do espalhamento Raman. Após submeter as amostras aos ensaios de envelhecimento por estresse térmico, verificou-se que as bandas mais afetadas pela adição de cobre foram aquelas a 1267 , 1656 e 3012 cm^{-1} . Neste trabalho, foram avaliadas as mudanças das intensidades da banda que corresponde à vibração das duplas ligações *cis*, com máximo em 3012 cm^{-1} .

A banda com máximo em 2856 cm^{-1} foi escolhida como referência para comparação em relação às variações na intensidade de outras bandas, uma vez que é a banda característica do estiramento simétrico de grupos metileno, que se espera não sofrer variações durante o processo oxidativo.

Na Figura 27 é apresentada a variação das razões $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_0$ ao longo do processo de oxidação para as amostras de óleo de canola puro e óleo de canola contendo cobre metálico e CuO. A intensidade das bandas (alturas), tanto do estiramento simétrico de grupos metileno e quanto das vibrações de estiramento das duplas ligações *cis*, foi medida em 2856 cm^{-1} e 3012 cm^{-1} , respectivamente. Essas medições foram efetuadas em relação a linha de base entre 3040 a 2800 cm^{-1} . O desvio padrão combinado para os valores desta razão produziram um coeficiente de variação menor que $0,16\%$.

Os resultados mostraram diminuição na banda 3012 cm^{-1} (estiramento da ligação C-H das duplas ligações *cis*) indicando perda das insaturações. Esse comportamento pode ser atribuído à isomerização das duplas ligações *cis* que ocorre durante a oxidação dos triglicerídeos [107], direcionando a formação de produtos contendo ligações *trans* [26], tanto duplas ligações *trans*, como sistemas de duplas ligações conjugadas *trans*.

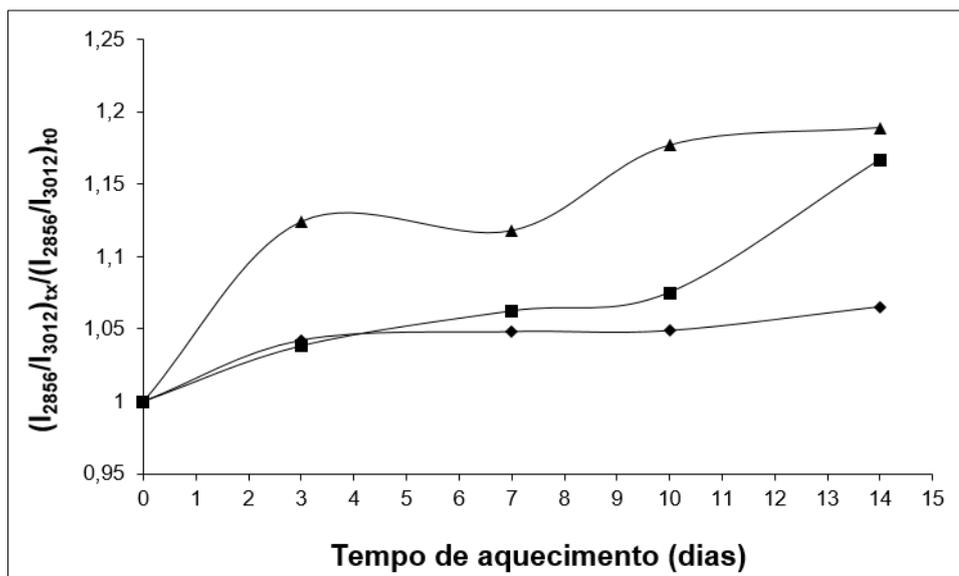


Figura 27. Variação da razão $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_{i0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: ♦ óleo de canola puro; ■ óleo de canola contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de canola contaminado com CuO.

O aumento na razão $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_{i0}$ foi mais pronunciado nas amostras contendo cobre, confirmando os resultados observados na análise por FT-IR. A diminuição na intensidade da banda com máximo em 3012 cm^{-1} não refletiu propriamente a quebra das duplas ligações, mas sim a extensão da isomerização das ligações *cis*, e, portanto, o progresso da oxidação. Deste modo, pode-se considerar que as amostras contendo Cu(II) sofreram maior oxidação.

4.1.9 Avaliação do conjunto de resultados

Os metais podem atuar como iniciadores para a oxidação de ácidos graxos [26]. O ânion superóxido produzido pode perder um elétron, dando origem a um oxigênio singleto, muito instável e reativo, que forma um radical peróxido, o qual subsequentemente reage com moléculas de lipídeo para formar hidroperóxidos. O cobre, um metal de transição, pode formar complexos e assim estabilizar espécies intermediárias, como as que são formadas durante a oxidação térmica de óleos vegetais. Além disso, o cobre pode reagir com os hidroperóxidos, produtos primários de oxidação, produzindo alcóxidos e radicais peroxila que propagam o

processo de oxidação [1,26]. O radical peroxil pode reagir com outros lipídeos, promovendo tanto a propagação do processo de peroxidação, como reagindo com outros radicais presentes no óleo e produzindo espécies secundárias, como aldeídos e cetonas. Os produtos de degradação são, assim, formados por reações entre hidroperóxidos e lipídeos oxidados, produzindo uma mistura complexa de todos os subprodutos.

Nas condições deste estudo, acredita-se que o cobre promove a hidrólise de ligações éster. O aumento expressivo observado no VA é um indicativo da produção de ácidos graxos livres, produtos da oxidação hidrolítica dos ésteres presentes nos óleos. Os resultados obtidos com a espectroscopia de absorção no infravermelho confirmam que ocorre a clivagem da ligação C–O, isto é, a hidrólise da função éster dos triglicéridos, pois se observa um aumento na razão $(I_{2856}/I_{1747})_{ix}/(I_{2856}/I_{1747})_{i0}$, ou seja, uma diminuição dos grupos éster nas amostras de óleo contaminado com cobre. No entanto, não ocorreram alterações nas bandas com máximo em 1120 e 1098 cm^{-1} , que estão associados com ligações C–C do grupo éster.

Os dados obtidos sugerem que ocorre isomerização das duplas ligações *cis*, e não a quebra das duplas ligações. Observou-se uma suave diminuição no índice de iodo, indicando que uma grande parte da oxidação no óleo de canola contaminado com cobre não envolveu diretamente as ligações duplas olefínicas. A espectroscopia de infravermelho mostrou que as intensidades máximas das razões $(I_{2856}/I_{3009})_{ix}/(I_{2856}/I_{3009})_{i0}$ diminuíram ao longo do processo de oxidação, sugerindo a redução das ligações duplas *cis*. Contudo, esta observação pode ser atribuída ao fato das insaturações *trans* não serem contabilizadas nesta razão. Esses resultados são confirmados pela espectroscopia Raman, na qual se observou uma diminuição na banda 3012 cm^{-1} (estiramento da ligação C–H das duplas ligações *cis*).

Os resultados confirmam que o cobre (não importa a espécie) participa ativamente do processo de degradação do óleo, sendo as amostras contaminadas com Cu(II) as que sofreram maior oxidação. Os dados obtidos na determinação do VA mostram um aumento maior nas amostras contaminadas com Cu(II). No teste Rancimat, a amostra contaminada com Cu(II) sofreu uma diminuição mais pronunciada no tempo de indução. Verificou-se também um aumento maior na

intensidade da absorvância a 270 nm para a amostra contendo Cu(II) (3,6 vezes). A diminuição da intensidade da banda a 1746 cm^{-1} também foi mais pronunciada nas amostras contaminadas com Cu (II). Tomados em conjunto, esses resultados sugerem que esta espécie de cobre promoveu um maior grau de oxidação.

4.2 Óleo de Girassol

4.2.1 Teor de cobre

A concentração de cobre nas amostras de óleo de girassol contendo cobre metálico e Cu(II) foi $13,8\text{ mg.kg}^{-1}$ e $4,5\text{ mg.kg}^{-1}$, respectivamente. A concentração de cobre nas amostras de óleo de girassol puro foi menor do que o limite de detecção do método.

4.2.2 Índice de Saponificação

O índice de saponificação das amostras derivadas de óleo de girassol no início do experimento, antes do aquecimento a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$, e após 14 dias de aquecimento (t_{14}) estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Índice de saponificação das amostras derivadas de óleo de girassol.

| Amostra | Índice de saponificação | |
|------------|-------------------------|----------|
| | t_0 | t_{14} |
| OG puro | 186 | 184 |
| OG + Cu(0) | 186 | 184 |
| OG + CuO | 186 | 184 |

Verificou-se que não ocorreu variação do índice de saponificação tanto na amostra de óleo de girassol puro, como nas amostras de óleo de girassol contaminadas tanto com o cobre metálico, como com o CuO.

4.2.3 Valor ácido

A variação do VA das amostras de óleo de girassol durante o experimento foi indicado como a razão (VA_{tx}/VA_{t0}), onde VA_{tx} é o valor ácido medido em um tempo específico e VA_{t0} é o valor ácido inicial, medido logo após o início do ensaio (Figura 28). Observou-se um aumento de 1,2 vezes do VA na amostra de óleo de girassol sem adição de cobre, ao final do tempo do experimento, indicando a degradação térmica dessa amostra sob as condições de temperatura estabelecidas. Esse aumento foi igual ao observado para as amostras de óleo de canola puro. Contudo, tal degradação não foi observada nas amostras contaminadas por cobre, ao contrário do que ocorreu com o óleo de canola. Verificou-se que na presença de cobre, o VA do óleo de girassol sofre um decréscimo, sendo esta diminuição mais pronunciada nas amostras contaminadas com cobre metálico.

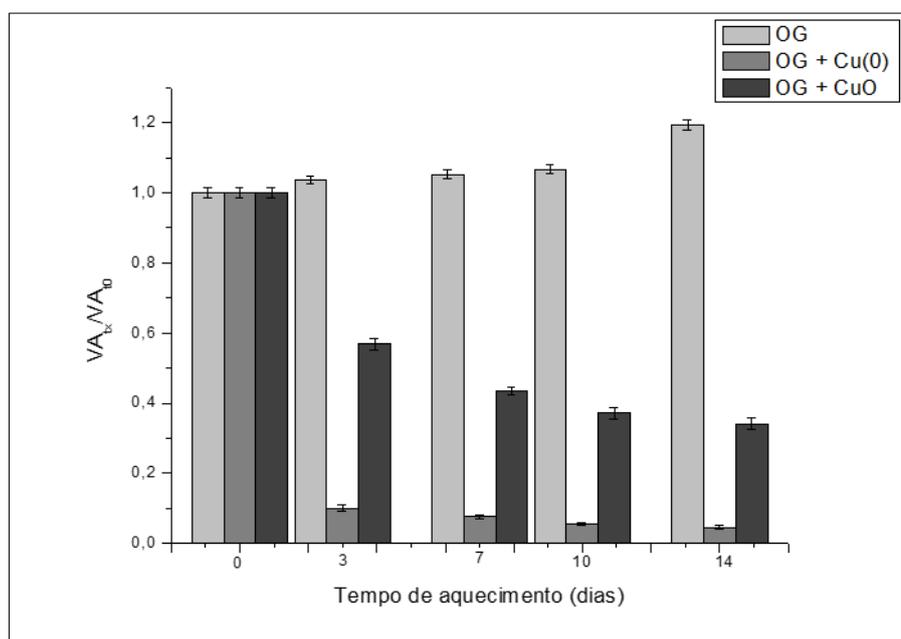


Figura 28. Valor ácido (VA_{tx}/VA_{t0}) medido para as amostras de óleo de girassol (OG) puro e para as amostras de óleo de girassol contaminadas com Cu(0) e CuO em função do tempo e na temperatura de 90 °C, sendo VA_{tx} o valor ácido medido em um tempo específico e VA_{t0} o valor ácido inicial.

Nas amostras contendo cobre metálico, observou-se diminuição mais acentuada do VA. Sabe-se que o Cu(0), um ácido de Lewis macio (segundo o conceito de Pearson) não forma complexos com os ácidos carboxílicos. Contudo, ele pode interagir com as duplas ligações presentes nas cadeias laterais dos triacilgliceróis (bases macias). Em meio ácido, Cu(0) pode reduzir as duplas ligações com as quais ele interage, oxidando-se a Cu(II), em um processo que consome prótons do meio. Isto pode levar a uma diminuição da acidez das amostras. O consumo de íons H^+ do meio devido à redução, somado à formação de complexos de coordenação do cobre com os ácidos carboxílicos levam a uma diminuição ainda maior no VA do que aquele observado para as amostras contendo CuO). Por outro lado, a contaminação do óleo com o óxido cúprico torna o cobre menos disponível para tal interação com as bases macias citadas, em função da maior estabilidade do Cu quando ligado ao oxigênio.

4.2.4 Índice de iodo

O índice de iodo de todas as amostras de óleo de girassol, incluindo as amostras contaminadas com cobre, não sofreu alteração durante todo o experimento de oxidação acelerada. O índice de iodo ficou estável em 125 g I_2 /100 g de amostra. Isto indica que o número total de insaturações não foi afetado de maneira apreciável durante os processos oxidativos.

Embora o resultado pareça estar em desacordo com o VA determinado para as amostras de óleo de girassol, a comparação entre a quantidade de duplas ligações, determinada pelo índice de iodo, e a acidez, avaliada pelo VA, elucida a questão. O índice de iodo, expresso em quantidade de matéria, das amostras de óleo de girassol foi igual a 0,49 mol de I_2 por 100 gramas de amostra, ou seja, teria 0,49 mol de duplas ligações na amostra. Por sua vez, o VA da amostra de óleo de girassol contaminado com cobre metálico antes de ser submetido ao estresse térmico foi igual a 0,99 mg de KOH por grama de amostra, o que equivale a $1,8 \times 10^{-3}$ mol H^+ por 100 g de amostra. Ao final do experimento, o VA foi de 0,04 mg de KOH por grama de amostra, o que equivale a $7,1 \times 10^{-5}$ mol H^+ por 100 g de amostra. Como a redução de 1 mol de duplas ligações consome 2 mol de H^+ , quando $1,7 \times 10^{-3}$ mol de H^+ são consumidos, apenas $8,6 \times 10^{-4}$ mol de

duplas ligações são reduzidas, não sendo este um valor significativo quando comparado ao número total de insaturações (0,49 mol). Por esse motivo, o valor do índice de iodo não reflete a diminuição no número total de insaturações, ao contrário do valor ácido.

4.2.5 Estabilidade oxidativa por Rancimat

O teste Rancimat® [42], que foi usado neste trabalho para avaliar a estabilidade à oxidação, indicou que com a evolução do processo oxidativo, o tempo de indução diminuiu tanto para as amostras contaminadas com cobre como para o óleo de girassol puro (Figura 29). Verificou-se também que as amostras contendo cobre, não importando qual espécie, sofreram uma diminuição mais pronunciada em seus tempos de indução, sugerindo que o cobre atua como catalisador do processo oxidativo.

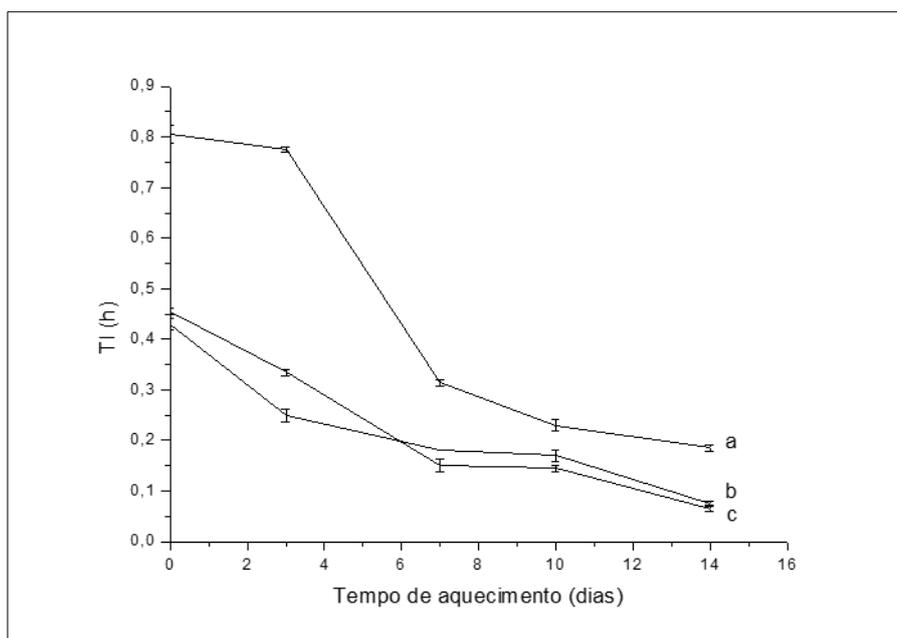


Figura 29. Tempo de indução (TI) em função do tempo de estocagem para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: a) óleo de girassol puro; b) óleo de girassol contaminado com partículas de Cu metálico e c) óleo de girassol contaminado com CuO.

As amostras de óleo de girassol contendo cobre apresentaram uma diminuição nos tempos de indução a partir do dia 3 do experimento, contudo, apenas no dia 7 se verificou uma pronunciada redução, que continuou até o último dia do experimento. As amostras de óleo de girassol puro apresentaram um comportamento diferente, somente foi observada uma redução significativa do tempo de indução no dia 7 do experimento.

Ao final do experimento, dia 14, verificou-se que as amostras de óleo de girassol puro sofreram uma redução em torno de 77% em seus tempos de indução, enquanto as amostras contaminadas com cobre metálico e CuO apresentaram uma diminuição do tempo de indução de 83 e 86%, respectivamente, um pouco mais pronunciada, mas estatisticamente diferentes da diminuição para o óleo puro.

Ao fim do teste Rancimat observou-se as amostras de óleo de girassol contendo cobre formaram goma viscosa, enquanto as amostras de óleo de canola contaminadas com o metal continuavam fluidas (Figura 30).



Figura 30. Imagem das amostras óleo de canola contaminada com CuO e de óleo de girassol contaminada com CuO ao final do teste Rancimat.

A formação de goma é um forte indício de processo de polimerização oxidativa, pois os óleos vegetais sofrem um complexo processo de secagem ou “cura” na presença de oxigênio. Esta secagem é favorecida quanto maior é o

número de insaturações presentes no óleo e, preferencialmente, se estas duplas ligações forem conjugadas. A polimerização oxidativa ocorre de modo mais eficiente na presença de catalisadores. Estes são carboxilatos de metais de transição, também conhecidos como sabões metálicos [111].

A formação de complexos de Cu(II) com ácidos carboxílicos já foi relatada na literatura [111-113]. Doyle *et al.* [111] reportaram a obtenção de complexos de cobre com ácido hexanóico que exibiam uma estrutura binuclear tipo paddle-wheel, consistindo de dois íons cobre(II) numa geometria piramidal quadrada ligada por quatro ânions carboxilato e de modo planar. Yamanaka *et al.* [112] observaram que estruturas poliméricas também podem ocorrer quando os ânions ligantes unem duas unidades. Como cada átomo de oxigênio dos grupos carboxilato possui dois pares de elétrons desemparelhados, e somente um par de elétrons está envolvido na coordenação com o metal, o segundo par de elétrons pode ser doado ao íon metálico de outro íon carboxilato, resultando numa estrutura que pode ser a base de uma estrutura polimérica.

Deste modo, durante o teste Rancimat, no qual as amostras sofrem aquecimento sob fluxo contínuo de ar, ocorre formação de complexos entre o cobre e os ácidos carboxílicos resultantes da hidrólise dos ésteres. Estes complexos, por sua vez, catalisaram a polimerização do óleo. Como o teor de ácidos graxos poli-insaturados é maior no óleo de girassol, somente foi possível observar a formação de goma nessas amostras.

4.2.6 Espectroscopia de absorção no UV

Os dados coletados no espectro de absorção no UV mostraram que as intensidades das absorvâncias a 232 nm, tanto para amostras contaminadas com cobre como para o óleo de girassol puro, aumentam moderadamente durante o processo de oxidação, que se torna mais pronunciado após o dia 10 do experimento (Figura 31), indicando a crescente produção de hidroperóxidos com a evolução do experimento.

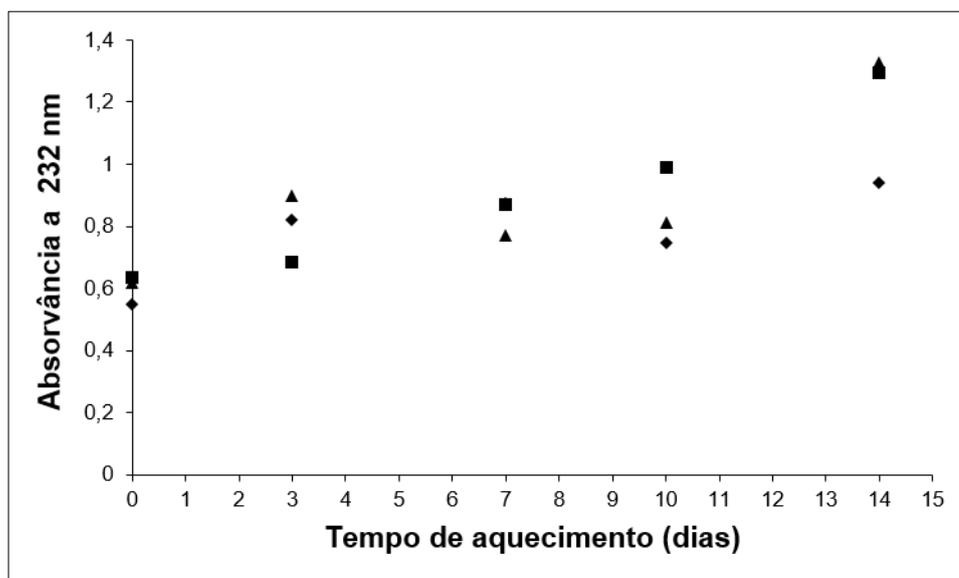


Figura 31. Absorvância no UV medida em 232 nm em função do tempo de aquecimento a 90 °C para as amostras de óleo de girassol: ◆ óleo de girassol puro; ■ óleo de girassol contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de girassol contaminado com CuO.

Na Figura 32 observa-se que a absorvância, medida em 270 nm, nas amostras contendo cobre aumentou no decorrer do experimento, enquanto as absorvâncias medidas em 270 nm da amostra de óleo de girassol puro mantiveram-se praticamente inalteradas. Isso mostra a importância do cobre para a oxidação do óleo.

Verificou-se que ao final do experimento, dia 14, o aumento na absorvância, em 270 nm, foi de 2,1 e 2,5 vezes para as amostras contaminadas com cobre metálico e para as contaminadas com CuO, respectivamente, enquanto, para as amostras de óleo de girassol puro, a análise de variância (ANOVA) mostrou que os valores das absorvâncias medidas são estatisticamente iguais.

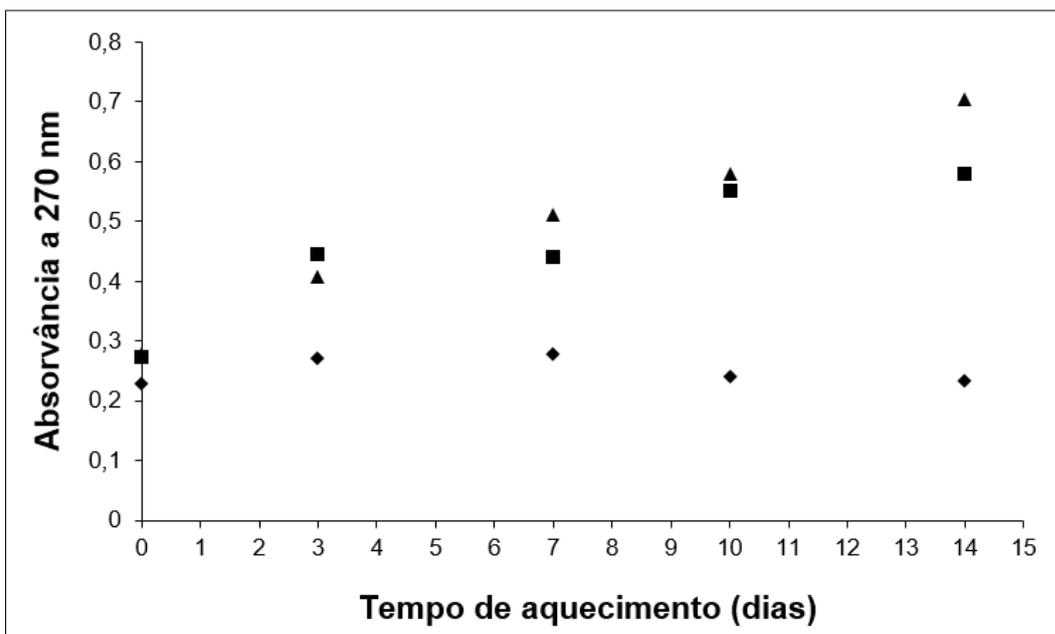


Figura 32. Absorvância no UV medida em 270 nm em função do tempo de aquecimento a 90 °C para as amostras de óleo de girassol: ♦ óleo de girassol puro; ■ óleo de girassol contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de girassol contaminado com CuO.

4.2.7 Espectroscopia de absorção no infravermelho

Na Figura 33 é mostrado o espectro do óleo de girassol puro antes de ser submetido ao aquecimento a 90 °C. As principais bandas do espectro estão devidamente assinaladas.

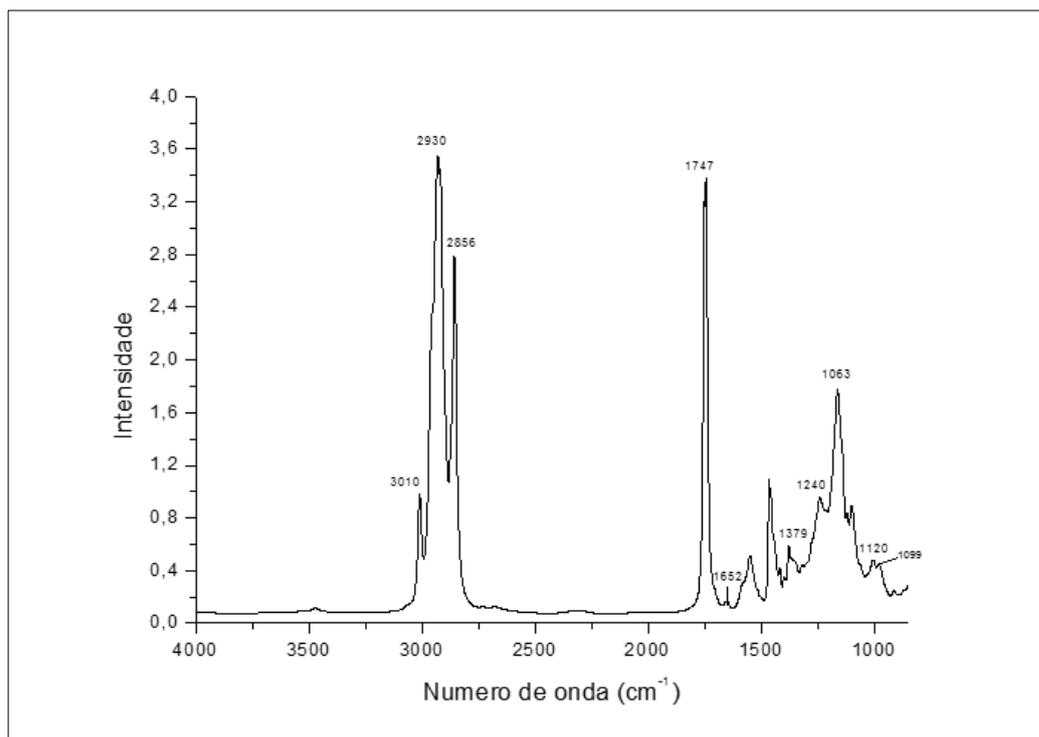


Figura 33. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) do óleo de girassol puro usado como referência.

As atribuições das bandas de infravermelho foram realizadas por comparação dos dados da literatura [105-107]. O espectro da amostra de óleo de girassol apresenta um perfil similar ao espectro do óleo de canola, sendo possível identificar as mesmas bandas espectrais. Observa-se, contudo, que no espectro de óleo de girassol, a banda atribuída à vibração de estiramento das duplas ligações *cis* absorve próximo a 3010 cm^{-1} , ou seja, num número de onda máximo levemente maior do que a observada nos espectros da amostra de óleo de canola. O deslocamento de número de onda já foi relatado na literatura [45,77]. Vlachos *et al.* [77] relacionaram o deslocamento desta banda com a adulteração de óleo de oliva extra virgem com outros óleos vegetais, sugerindo existir uma relação linear entre o aumento da frequência (ou de número de onda) máximo da banda em função do percentual de óleo vegetal adicionado. Guillén e Cabo [45], ao estudar a estabilidade oxidativa de óleos vegetais aquecidos a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, verificaram que durante o processo de oxidação a banda atribuída às duplas ligações *cis* sofria um deslocamento para frequências menores. Mais ainda, Guillén e Cabo observaram que esta mudança ocorria em diferentes períodos de tempo, dependendo do óleo, e que os óleos com alta proporção de grupos acila linoleico e linolênico

apresentaram frequências máximas de banda deslocadas para valores maiores. Tais observações estão de acordo com os dados do presente trabalho. O óleo de girassol, que possui uma proporção maior de ácidos linoleico, tem absorção máxima próxima a 3010 cm^{-1} , enquanto o óleo de canola tem a absorção máxima em uma frequência menor, próximo a 3009 cm^{-1} .

As variações nas razões $(I_{2856}/I_{3010})_{tx}/(I_{2856}/I_{3010})_{t0}$ ao longo do processo de oxidação para as amostras de óleo de girassol puro são apresentadas na Figura 34. A intensidade das bandas (alturas), tanto do estiramento simétrico de grupos metileno e quanto das vibrações de estiramento das duplas ligações *cis*, foi medida em 2856 cm^{-1} e 3009 cm^{-1} , respectivamente. Essas medições foram efetuadas em relação a linha de base entre 3040 a 2800 cm^{-1} . O desvio padrão combinado para os valores desta razão produziram um coeficiente de variação menor que $0,18\%$.

Assim como observado para o óleo de canola, as razões da absorvância a 2855 cm^{-1} devido ao estiramento simétrico da vibração dos grupos CH_2 , e a absorvância a 3010 cm^{-1} atribuída a grupos *cis*-olefínicos, aumenta significativamente, sugerindo a redução das ligações duplas *cis*.

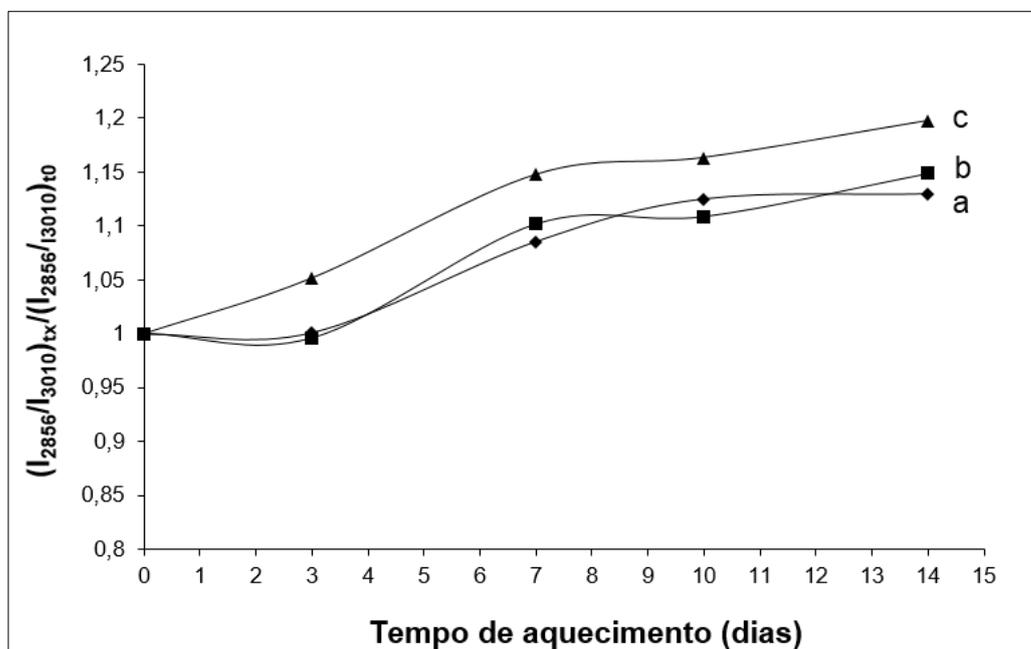


Figura 34. Variação da razão $(I_{2856}/I_{3010})_{tx}/(I_{2856}/I_{3010})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$: ♦ óleo de girassol puro; ■ óleo de girassol contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de girassol contaminado com CuO .

Como pode ser observado na Figura 28, todas as amostras de óleo de girassol parecem ter um tempo de indução com duração de cerca de quatro dias (desde o dia 3 ao dia 7). Após este período de indução, a oxidação das amostras continua até o último dia monitorado (dia 14). Neste último dia de monitoramento, o valor da razão $(I_{2856}/I_{3010})_{ix}/(I_{2856}/I_{3010})_{i0}$ é 1,15 e 1,20, para as amostras contaminadas com partículas de Cu metálico e óxido de cobre (II), respectivamente, enquanto que o valor máximo de 1,13 é alcançado para o óleo puro. Estes resultados indicam a degradação térmica dessas amostras sob as condições de temperatura estabelecidas, confirmando a importância do cobre na promoção da oxidação desses óleos de vegetais.

A intensidade da banda (altura) do estiramento simétrico de grupos metileno foi medida tomando a linha de base de 3040 a 2800 cm^{-1} centrada em 2856 cm^{-1} , e a intensidade da banda correspondente às vibrações de estiramento dos grupos éster dos triglicerídeos foi medida tomando a linha de base de 1780 a 1680 cm^{-1} , centradas em 1746 cm^{-1} . O desvio padrão combinado para os valores desta razão produziram um coeficiente de variação menor que 0,18%.

A banda espectral com máximo próximo a 1747 cm^{-1} , relacionada com carbonila de ésteres de triglicerídeos, também sofre alterações durante o processo de oxidação (Figura 35). Contudo, a variação da absorvância não apresenta a mesma tendência observada nas amostras de óleo de canola. Observou-se diminuição da razão $(I_{2856}/I_{1747})_{ix}/(I_{2856}/I_{1747})_{i0}$ nas amostras de óleo de girassol, sugerindo que outros compostos que absorvem próximo a esta banda estão contribuindo com o sinal medido. Van der Voort *et al.* [46] verificaram que ácido graxos livres absorvem perto de 1711 cm^{-1} , e que aldeídos apresentam máximos de absorvância na região entre 1730 e 1680 cm^{-1} . Muika *et al.* [48] observaram que aldeídos saturados têm absorvância com o máximo próximo a 1728 cm^{-1} enquanto que nas cetonas saturadas esse máximo é em torno de 1710 cm^{-1} . A absorção desses grupos pode se sobrepor ao estiramento (C=O) do éster dos triglicerídeos, que absorve próximo a 1746 cm^{-1} . Vale salientar que ácidos livres, cetonas e aldeídos são possíveis produtos secundários da oxidação de triglicerídeos.

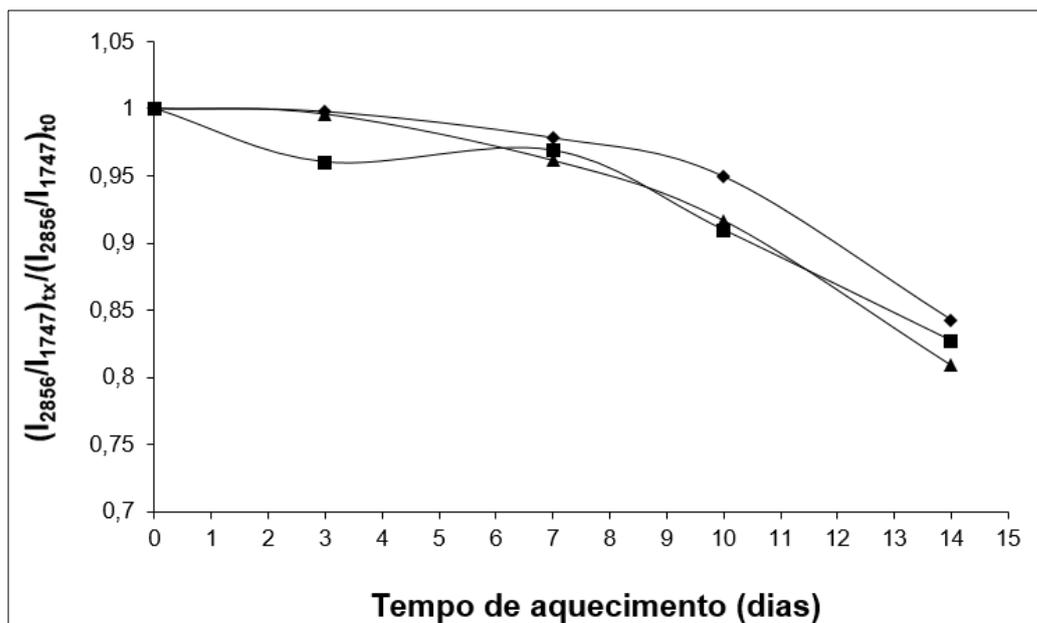


Figura 35. Variação da razão $(I_{2856}/I_{1746})_{tx}/(I_{2856}/I_{1746})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: ◆ óleo de girassol puro; ■ óleo de girassol contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de girassol contaminado com CuO.

Na Figura 36 vê-se a região entre 3600 e 3100 cm^{-1} para o óleo de girassol puro. Observa-se que a banda próxima a 3472 cm^{-1} , atribuída ao sobretom da carbonila do éster dos glicerídeos se tornando mais largo com a evolução do processo oxidativo. Este aumento pode ser atribuído à sobreposição da banda original com a absorção causada pelos hidroperóxidos gerados pela oxidação dos óleos.

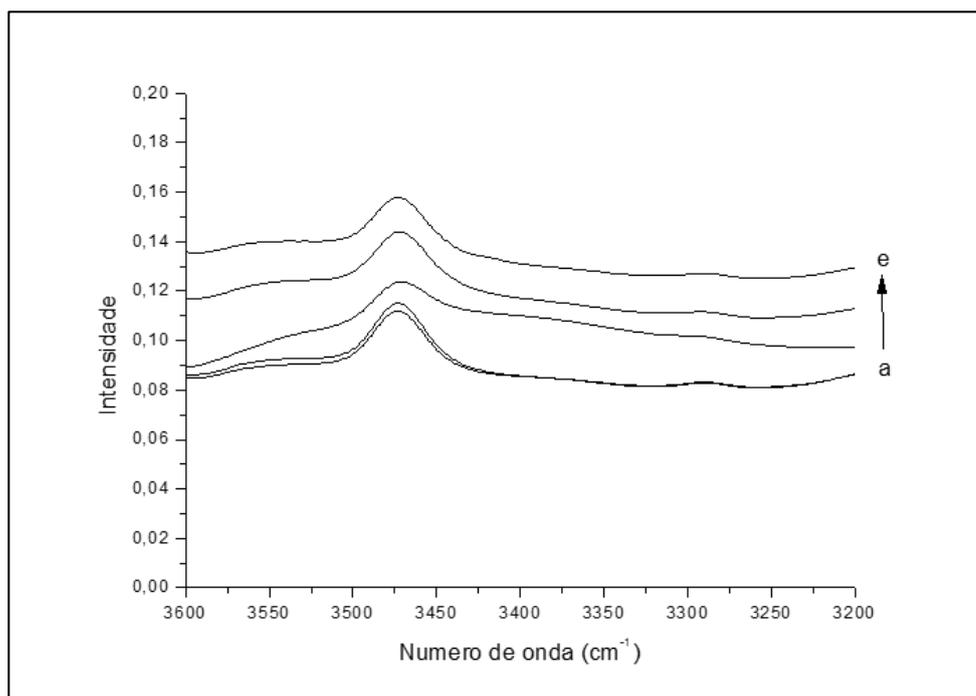


Figura 36. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de girassol puro: antes de ser submetido a aquecimento, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C.

Na Figura 37 e Figura 38 é mostrada a região do espectro entre 3200 e 3600 cm⁻¹ para as amostras de óleo de girassol contaminadas com cobre metálico e óxido de cobre (II), respectivamente. Observa-se que, assim como para a amostra de óleo de girassol puro, a absorvância da banda próxima a 3472 cm⁻¹ aumenta moderadamente no decorrer do processo oxidativo. O aumento nesta banda é mais pronunciado nas amostras de óleo de girassol contendo óxido de cobre (II), sugerindo que essas amostras apresentam maior taxa de oxidação no decorrer do experimento. Estes resultados confirmam os dados obtidos por espectroscopia no UV, que indicam um crescente aumento no teor de peróxidos, e também estão de acordo com o teste de estabilidade oxidativa Rancimat, no qual as amostras contendo cobre, não importando qual espécie, sofreram uma diminuição mais pronunciada em seus tempos de indução.

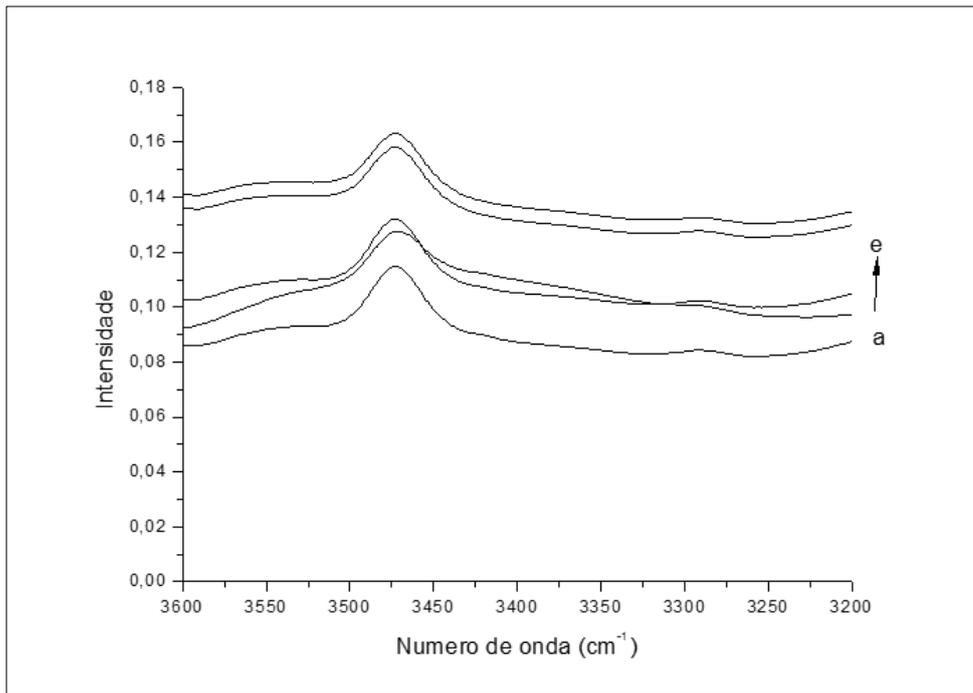


Figura 37. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) do óleo de amostras de girassol contaminadas com Cu metálico: logo após a contaminação, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C.

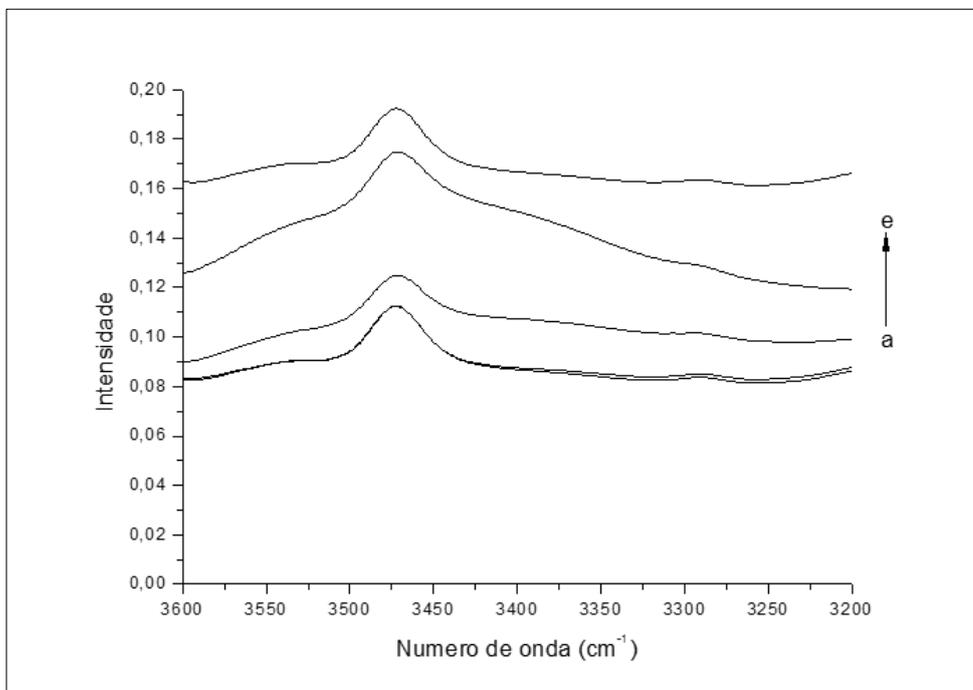


Figura 38: Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) de amostras de óleo de girassol contaminadas com CuO: logo após a contaminação, (a) e após 3 dias (b), 7 dias (c), 10 dias (d) e 14 dias (e) dias estocados a 90 °C.

4.2.8 Espectroscopia de espalhamento Raman

Os espectros de espalhamento Raman das amostras derivadas do óleo de girassol são similares aos do óleo de canola, sendo possível identificar as mesmas bandas espectrais. As atribuições das bandas aos grupos responsáveis foram realizadas por comparação com dados da literatura [48,91-93]. Na Figura 39 é mostrado o espectro de espalhamento Raman do óleo de girassol sem adição de cobre e antes de ser submetida ao tratamento térmico.

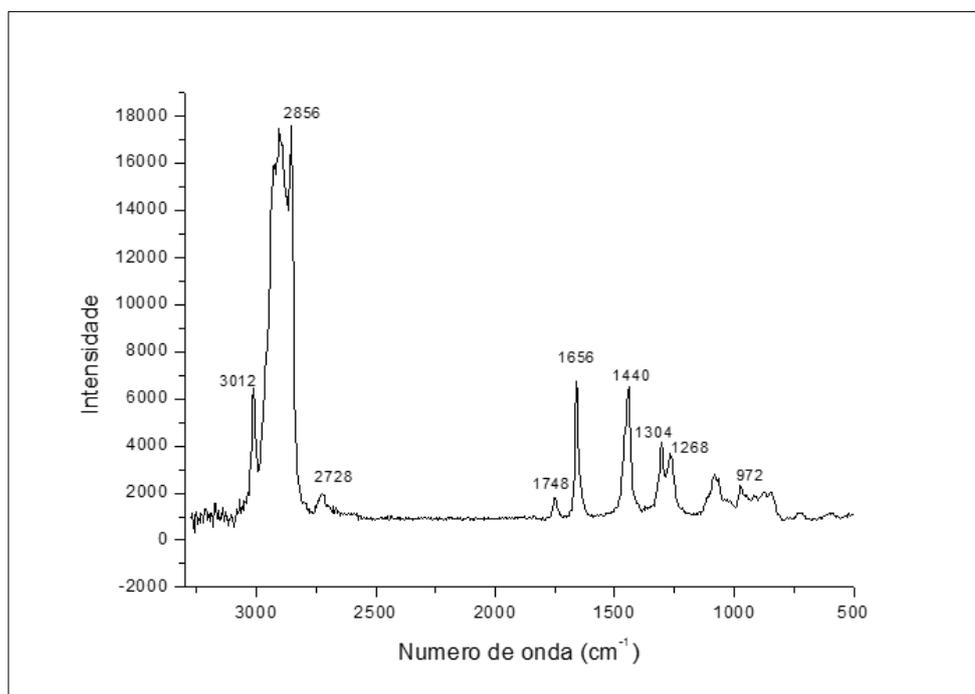


Figura 39. Espectro de espalhamento Raman do óleo de girassol puro antes de ser submetida a estresse oxidativo.

Na Figura 40 é apresentada a variação das razões $(I_{2856}/I_{3012})_{ix}/(I_{2856}/I_{3012})$ ao longo do processo de oxidação para as amostras de óleo de girassol puro e óleo de girassol contendo cobre metálico e óxido de cobre (II). A banda com máximo em 2856 cm^{-1} foi escolhida como referência para comparação em relação às variações na intensidade de outras bandas, uma vez que é a banda característica do estiramento simétrico de grupos metileno, que se espera não sofrer variações durante o processo oxidativo. A intensidade das bandas (alturas), tanto do estiramento simétrico de grupos metileno e quanto das vibrações de estiramento das duplas ligações *cis*, foi medida em 2856 cm^{-1} e 3012 cm^{-1} , respectivamente.

Essas medições foram efetuadas em relação a linha de base entre 3040 a 2800 cm^{-1} . O desvio padrão combinado para os valores desta razão produziram um coeficiente de variação menor que 0,16%.

Observou-se a diminuição na banda com máximo em 3012 cm^{-1} , correspondente estiramento da ligação C–H das duplas ligações *cis*, indicando que durante a oxidação dos triglicerídeos houve quebra das ligações olefínicas. Contudo, não foram observadas variações nos valores do índice de iodo medido para essas amostras, sugerindo que ocorreu a isomerização das duplas ligações *cis* direcionando a formação de produtos contendo ligações *trans*.

Observou-se também que o aumento na razão $(I_{2856}/I_{3012})_{\text{tx}}/(I_{2856}/I_{3012})_{\text{t0}}$ foi mais pronunciado nas amostras contendo cobre, confirmando os resultados observados na análise por FT-IR.

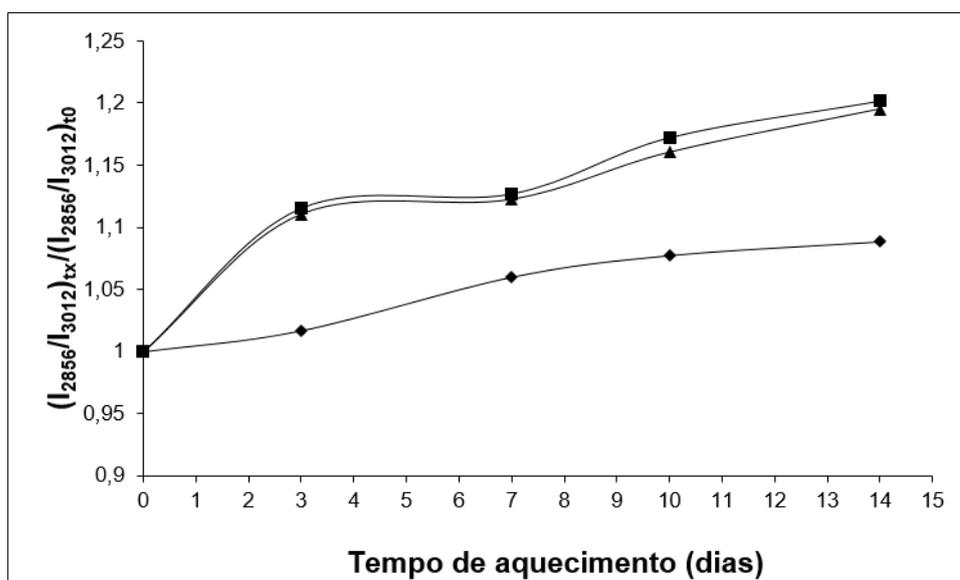


Figura 40. Variação da razão $(I_{2856}/I_{3012})_{\text{tx}}/(I_{2856}/I_{3012})_{\text{t0}}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: ♦ óleo de girassol puro; ■ óleo de girassol contaminado com partículas de cobre metálico e ▲ óleo de girassol contaminado com CuO.

4.2.9 Avaliação do conjunto de resultados

Nas condições deste estudo, o conjunto de resultados obtidos para o óleo de girassol sugere que não ocorreu quebra das ligações olefínicas, mas sim a isomerização das duplas ligações *cis*. Tanto nas amostras de óleo de girassol puro como nas contaminadas com cobre, se observou no FT-IR que as intensidades das bandas com máximos próximos a 3010 cm^{-1} , correspondentes ao estiramento das duplas ligações *cis*, aumentaram ao longo do processo de oxidação, sugerindo a diminuição das duplas ligações *cis*. Esses resultados são confirmados pela espectroscopia Raman, na qual também se observou aumento na banda com máximo em aproximadamente 3012 cm^{-1} . Contudo, não se observou variação significativa nos valores do índice de iodo. Esta observação pode, portanto, ser atribuída à isomerização das duplas ligações.

A razão $(I_{2856}/I_{3010})_{\text{tx}}/(I_{2856}/I_{3010})_{\text{t0}}$ medida por espectroscopia no FTIR e a razão $(I_{2856}/I_{3012})_{\text{tx}}/(I_{2856}/I_{3012})_{\text{t0}}$ medida por espectroscopia de espalhamento Raman podem ser consideradas um índice de oxidação, pois indicam a isomerização das duplas ligações decorrentes dos processos oxidativos.

O cobre provoca oxidação mais efetiva. O teste de estabilidade oxidativa Rancimat mostrou que as amostras contendo cobre, não importando qual espécie, sofreram maior redução em seus tempos de indução. Observou-se que a intensidade da absorvância a 270 nm das amostras contendo cobre aumentou no decorrer do experimento, enquanto, as intensidades das absorvâncias da amostra de óleo de girassol puro mantiveram-se praticamente inalteradas indicando a importância do cobre na oxidação do óleo. Os dados obtidos por espectroscopia no infravermelho e a espectroscopia Raman são consistentes com os resultados descritos para o teste Rancimat já que se observou aumento mais pronunciado na razão entre a absorvância devido ao estiramento simétrico da vibração dos grupos CH_2 e a absorvância atribuída a grupos *cis*-olefínicos para as amostras contaminadas com cobre.

Em meio ácido, o cobre metálico pode reduzir as duplas ligações com as quais ele interage, oxidando-se a Cu(II) , em um processo que consome prótons do meio. Isto pode ter ocasionado diminuição da acidez das amostras.

4.3 Estudo com o antioxidante natural curcumina

A adição de antioxidantes aos óleos vegetais tem como objetivo atenuar o processo de oxidação inibindo a iniciação e propagação dos radicais livres. Contudo, antioxidantes sintéticos são tóxicos e têm custo elevado. As substâncias presentes na curcumina conferem a possibilidade de emprego como antioxidante natural, além de não ser tóxica e ser biodegradável. Esta seria uma alternativa em consonância com os preceitos da química verde e uma grande contribuição econômica tanto do ponto de vista do produtor rural quanto do da indústria de biodiesel, já que a produção de curcumina em larga escala pode ser trazer vantagens do ponto de vista de custo, em relação aos aditivos químicos para o biodiesel.

4.3.1 Teor de cobre

Os teores de cobre nas amostras de óleo de canola e de óleo de girassol com adição de curcumina foram $5,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ e $5,5 \text{ mg.kg}^{-1}$, respectivamente.

4.3.2 Índice de Saponificação

O índice de saponificação das amostras de óleo de canola e de óleo de girassol com adição de curcumina no início do experimento, antes do aquecimento a $90 \text{ }^\circ\text{C}$, e após 14 dias de aquecimento (t_{14}) estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Índice de saponificação das amostras de óleo de canola e de óleo de girassol com adição de curcumina.

| Amostra | Índice de saponificação | |
|----------------------|-------------------------|----------|
| | t_0 | t_{14} |
| OC + CuO + curcumina | 186 | 186 |
| OG + CuO + curcumina | 186 | 186 |

Verificou-se que não ocorreu variação do índice de saponificação tanto na amostra de óleo de canola, como na amostra de óleo de girassol contendo curcumina.

4.3.3 Valor ácido

O VA das amostras de óleo de canola e de óleo de girassol com adição de curcumina é mostrado na Figura 41 como a razão (VA_{tx}/VA_{t0}), onde VA_{tx} é o valor ácido medido em um tempo específico e VA_{t0} é o valor ácido inicial, medido logo após a adição de cobre ao óleo. O aquecimento das amostras em estufa a 90 °C produziu um aumento de 1,7 vezes do VA em função do tempo na amostra contaminada com óxido de cobre (II) na presença de curcumina, devido a degradação térmica dessa amostra sob as condições de temperatura estabelecidas. Contudo, esse aumento é estatisticamente menor do que o observado para as amostras contaminadas com óxido de cobre (II) que não tiveram adição de curcumina (1,6 vezes), indicando alguma ação antioxidante da curcumina.

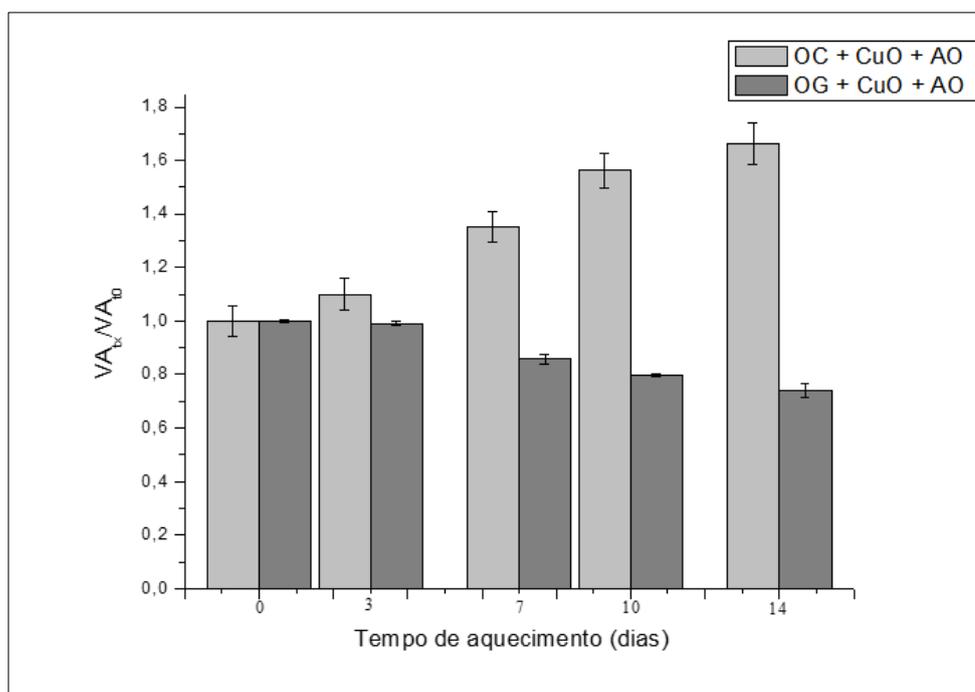


Figura 41. Valor ácido (VA_{tx}/VA_{t0}) medido para as amostras de óleo de canola contaminado com CuO e curcumina e para as amostras de óleo girassol contaminado com

CuO e curcumina em função do tempo e na temperatura de 90°C, sendo VA_{tx} o valor ácido medido em um tempo específico e VA_{t0} o valor ácido inicial.

Um resultado mais promissor foi que o decréscimo no VA observado nas amostras derivadas do óleo de girassol ser menos pronunciado nas amostras contendo curcumina. Nas amostras contaminadas óxido de cobre (II), o VA sofre um decréscimo de 66%, enquanto nas amostras contaminadas óxido de cobre (II) com adição de curcumina a redução foi de 36%.

4.3.4 Índice de Iodo

O índice de iodo da amostra de óleo de canola contaminada com o antioxidante apresentou leve variação nos valores de 112 para 107 g de $I_2/100$ g, o que representa aproximadamente 4%, enquanto as amostras de óleo de girassol contendo curcumina não sofreram alteração desse índice durante todo o experimento de oxidação acelerada, indicando que o número total de insaturações não foi afetado de maneira apreciável durante os processos oxidativos.

4.3.5 Rancimat

Os resultados mostraram que, com a evolução do processo oxidativo, o tempo de indução diminuiu para as amostras contaminadas com óxido de cobre (II) em função da adição de curcumina (Figura 42). Verificou-se que nas amostras de óleo sem o antioxidante, o tempo de indução ao final do experimento (dia 14) foi 6,2 vezes (óleo de canola) e 7,0 vezes (óleo de girassol) menor do que os valores iniciais, enquanto que nas amostras contendo curcumina, a redução do tempo de indução foi de apenas 2,8 vezes para o óleo de canola e 3,3 vezes para o óleo de girassol, indicando que a adição de curcumina inibiu a oxidação.

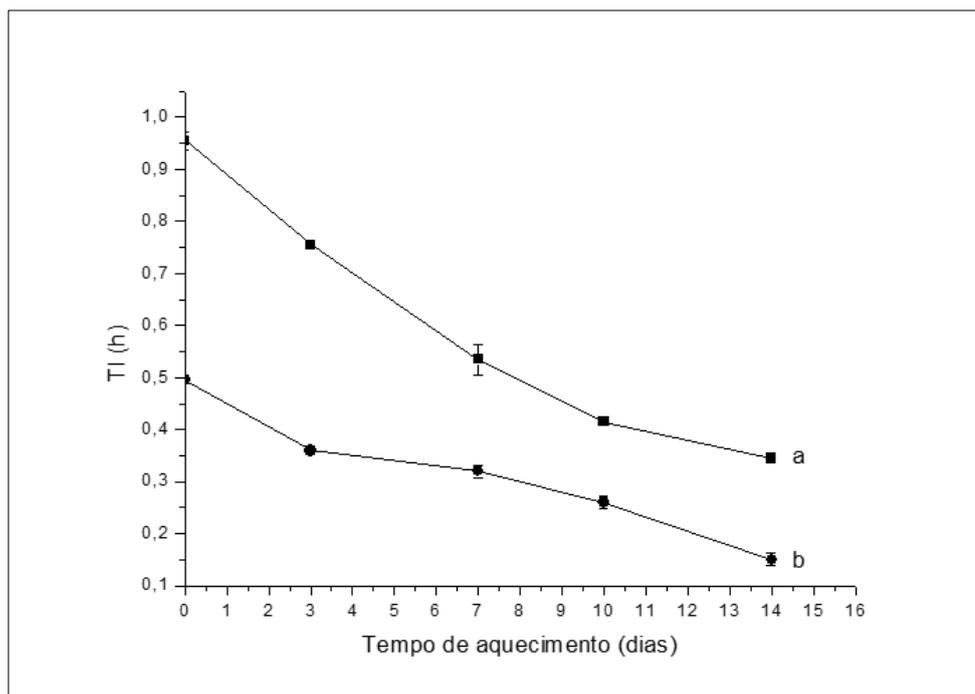


Figura 42. Tempo de indução em função do tempo de estocagem para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: a) óleo de canola contaminado com CuO e curcumina; b) óleo de girassol contaminado com CuO e curcumina.

A redução no tempo de indução após a adição de antioxidantes naturais está de acordo com dados relatados na literatura. Sousa *et al.* [98] avaliaram a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja contendo curcumina por um período de 180 dias de armazenamento na temperatura ambiente, verificando que as amostras contaminadas com o antioxidante mostraram maior resistência a oxidação. Nas amostras sem o antioxidante, o tempo de indução inicial foi de 5,0 h e após 30 dias de estocagem houve diminuição para 4,1 h (1,2 vezes menor do que o valor inicial). Na amostra contendo curcumina, o tempo de indução inicial foi de 8,0 h, e após 30 dias de estocagem, tornou-se 7,6. As variações nos dados relatados nesta Tese e os dados verificados por Sousa *et al.* se devem as diferentes temperaturas as quais as amostras foram submetidas.

4.3.6 Espectroscopia de absorção no UV

Observou-se que tanto a amostra de óleo de canola como a mostra de óleo de girassol, ambas contendo curcumina, apresentam comportamento semelhante ao das amostras que não foram contaminadas com o antioxidante. A absorvância medida em 232 nm permanece quase inalterada durante o processo de oxidação (Figura 43). Contudo, verifica-se que os valores de absorvância medida em 232 nm dos óleos contendo curcumina são menores do que seus respectivos valores sem antioxidante, indicando que a adição de curcumina inibiu a oxidação.

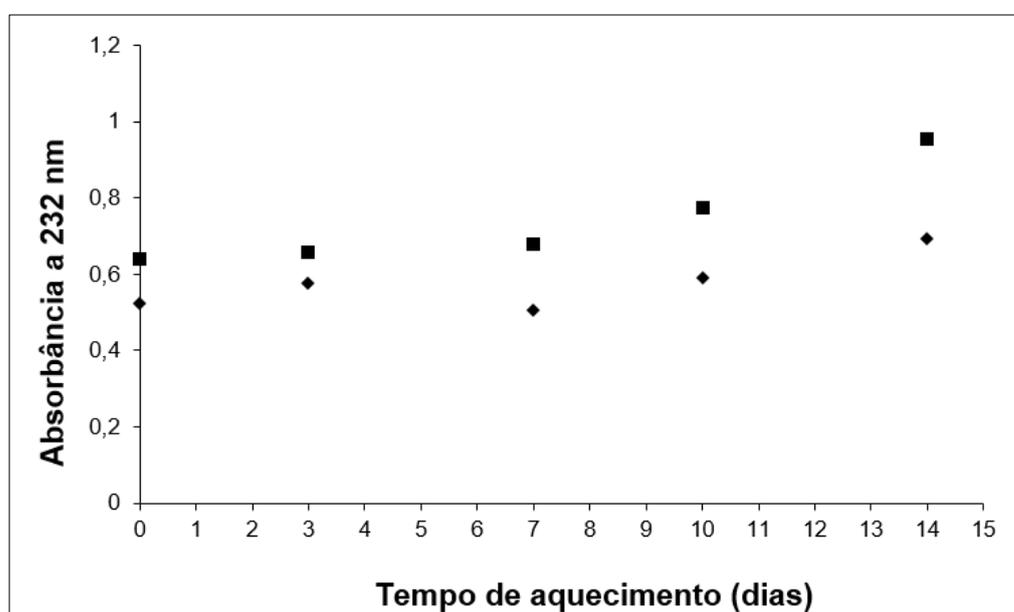


Figura 43. Absorvância no UV medida em 232 nm em função do tempo de aquecimento a 90 °C para as amostras de óleo de canola: ◆ óleo de canola contaminado com CuO e curcumina; e ■ óleo de girassol contaminado com CuO e curcumina.

Após 14 dias de experimento, verificou-se um aumento na absorvância em 270 nm de 2,9 e 1,8 vezes para as amostras de óleo de canola contaminado com óxido de cobre (II) e com adição de curcumina e para óleo de girassol contaminado com óxido de cobre (II) e com adição de curcumina, respectivamente (Figura 44). Esses valores são menores do que os calculados para as respectivas amostras sem a adição de curcumina (3,6 vezes para óleo de canola e 2,5 vezes para óleo de girassol, ambas contaminadas com óxido de cobre (II)),

indicando uma melhora na estabilidade oxidativa das amostras contendo antioxidante.

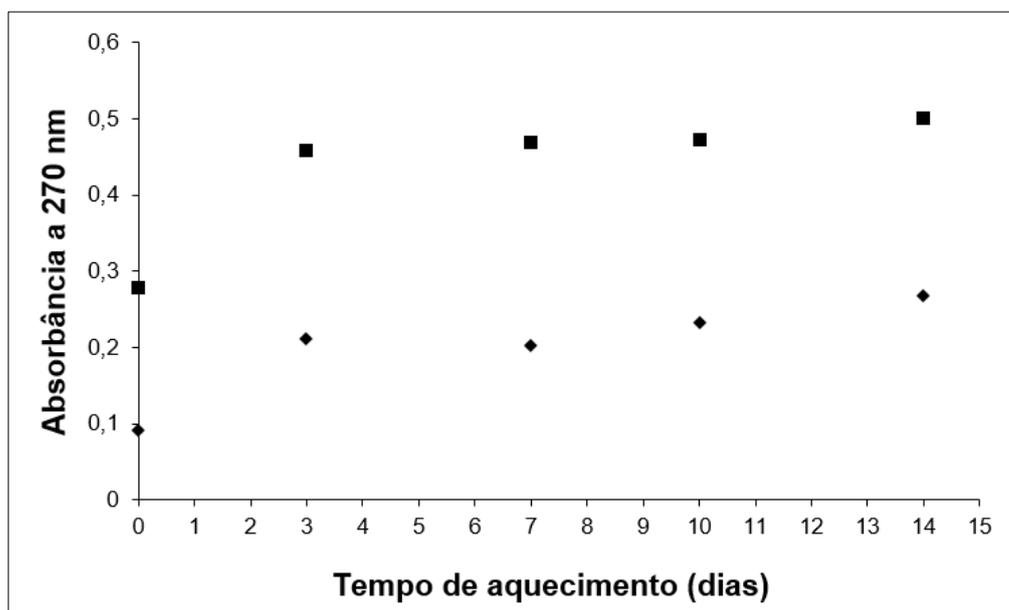


Figura 44. Absorvância no UV medida em 270 nm em função do tempo de aquecimento a 90 °C para as amostras de óleo de canola: ♦ óleo de canola contaminado com CuO e curcumina; e ■ óleo de girassol contaminado com CuO e curcumina.

Tanto as amostras de óleo de canola como as amostras de óleo de girassol contaminado com óxido de cobre (II) e com adição de curcumina mostraram uma diminuição nas absorvâncias medidas em 270 nm, em relação as respectivas amostras sem adição de curcumina, indicando que o conteúdo de produtos secundários foi menor, ou seja, o antioxidante inibiu a oxidação destes óleos.

Observou-se que com o progresso do tratamento térmico, o valor de I_{270}/I_{232} é maior nas amostras contaminadas com óxido de cobre (II), tanto nas amostras de canola como nas amostras de girassol, indicando que o cobre promove a oxidação dos óleos vegetais. Nota-se também que esses valores são maiores para as amostras de girassol, indicando que as mesmas sofreram maior oxidação, o que se pode atribuir ao maior conteúdo em ácidos graxos poli-insaturados presentes neste óleo.

Estes resultados concordam com os relatados por Ferrari e Souza [114], que observaram que a absorvância medida em 270 nm das amostras de biodiesel de girassol, armazenado por 10 dias a 65 °C, aumentou 2,9 vezes, enquanto nas amostras contendo o antioxidante BHA, este aumento foi de apenas 1,6 vezes.

4.3.7 Espectrometria de absorção no infravermelho

A Figura 45 e a Figura 46 mostram os espectros de absorção no infravermelho (FTIR) das amostras de óleo de canola e de girassol, respectivamente, contaminadas com óxido de cobre (II) contendo antioxidante, antes de serem submetidas ao aquecimento a 90 °C. As principais bandas estão assinaladas.

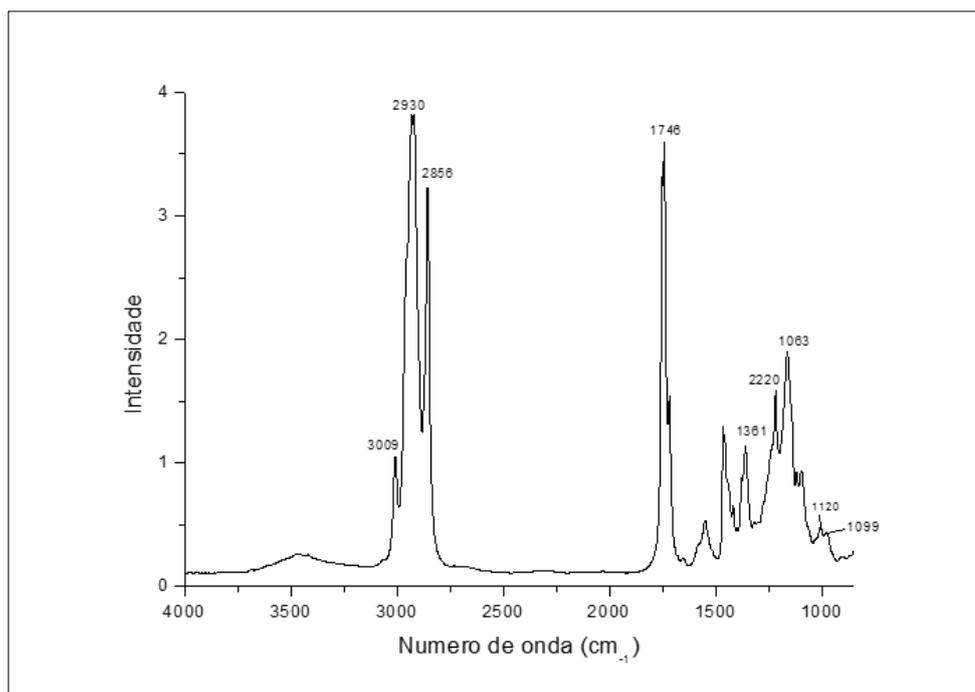


Figura 45. Espectro de absorção no infravermelho (FTIR) da amostra de óleo de canola contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina.

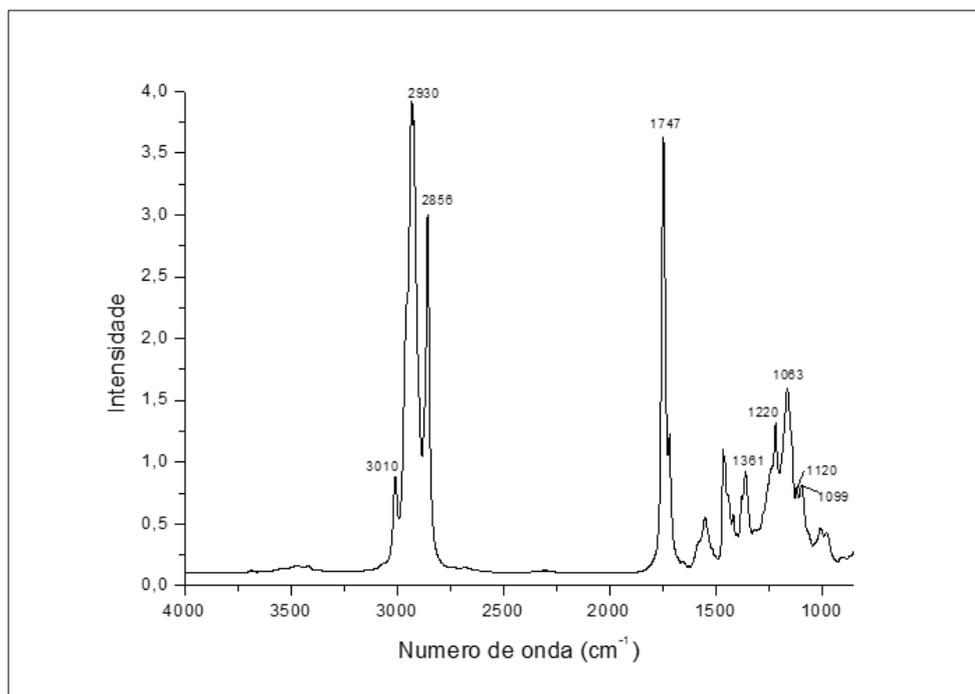


Figura 46. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) da amostra de óleo de girassol contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina

As atribuições das bandas de infravermelho foram realizadas por comparação com dados da literatura [104,115-116]. Os espectros das amostras de óleo contendo curcumina apresentam um perfil similar aos respectivos espectros dos óleos puros, sendo possível identificar as mesmas bandas espectrais. Na Figura 47, o espectro de absorção no infravermelho da curcumina é mostrado para efeito de comparação.

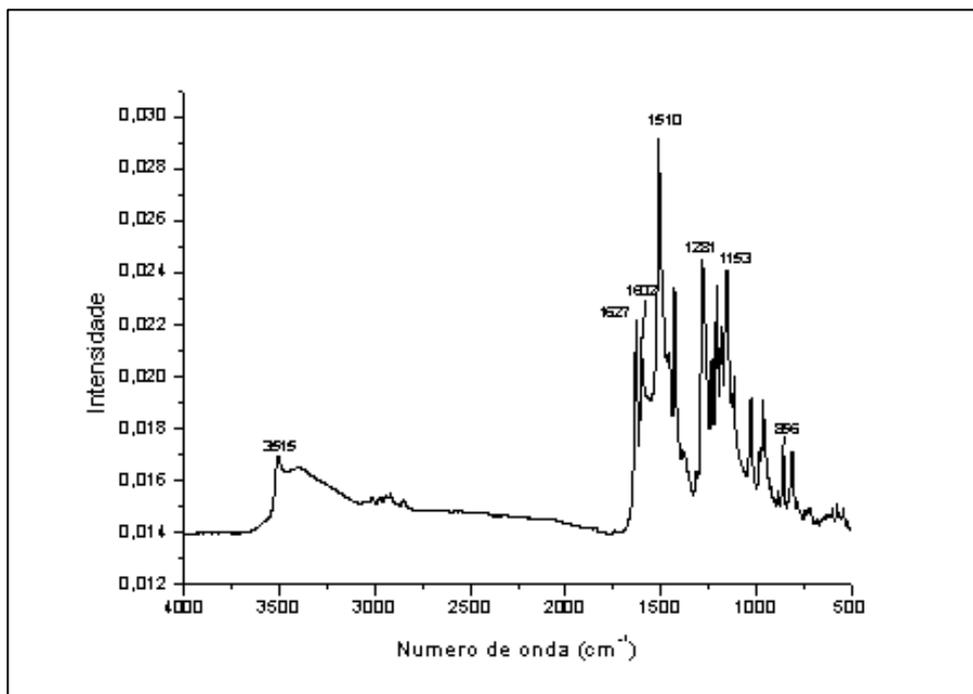


Figura 47. Espectro de absorção no infravermelho (FT-IR) da curcumina.

Uma banda fina com máximo em 3515 cm^{-1} foi observada e atribuída ao estiramento da ligação O–H das hidroxilas fenólicas. Observou-se uma banda larga de $3500\text{ a }3200\text{ cm}^{-1}$ correspondente ao estiramento dos grupos OH na forma enólica. As bandas de baixa intensidade observadas entre $3080\text{ e }3000\text{ cm}^{-1}$ podem ser atribuídas aos estiramentos de ligações C–H aromáticas, enquanto as bandas em frequências menores são correspondentes aos grupos metila alifáticos. Importantes bandas de absorção com máximos em $1627\text{ e }1602\text{ cm}^{-1}$ são observadas. Estas bandas correspondem ao acoplamento das vibrações de estiramento C=C e C=O, respectivamente. A banda mais proeminente observada no espectro FT-IR da curcumina apresenta um máximo de absorção a 1510 cm^{-1} . Esta banda corresponde a um acoplamento das vibrações alifáticas $\nu(\text{C}=\text{O})$, $\delta(\text{CCC})$ e $\delta(\text{CC}=\text{O})$ e das vibrações aromáticas $\nu(\text{CC})$ e $\nu(\text{CCH})$. Entre $1460\text{ e }1430\text{ cm}^{-1}$, são observadas bandas devidas às vibrações de deformação angular dos grupos metila. O estiramento assimétrico da ligação CCH nos anéis aromáticos causa uma banda a 1281 cm^{-1} . A banda com máximo em 1153 cm^{-1} pode ser atribuída à vibração de deformação angular $\delta(\text{CCH})$ dos anéis aromáticos

e a vibração da deformação angular da ligação C–OH, acopladas à deformação $\delta(\text{C}=\text{CH})$ da cadeia espaçadora entre os anéis.

Assim como para as amostras de óleo sem a adição de curcumina, os valores das razões $(I_{2856}/I_{3009})_{\text{tx}}/(I_{2856}/I_{3009})_{\text{t0}}$ para de óleo de canola contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina e das razões $(I_{2856}/I_{3010})_{\text{tx}}/(I_{2856}/I_{3010})_{\text{t0}}$ para as amostras de óleo de girassol contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina aumentaram significativamente ao longo do processo de oxidação, sugerindo a redução das ligações duplas *cis* (Figura 48).

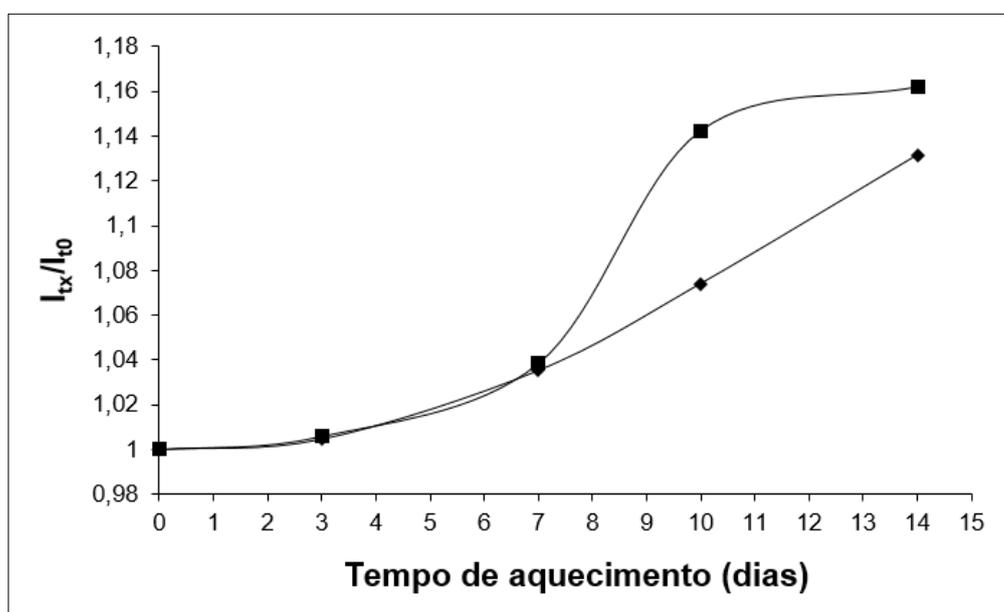


Figura 48. Variação da razão $(I_{2856}/I_{3009})_{\text{tx}}/(I_{2856}/I_{3009})_{\text{t0}}$ para as amostras: ♦ de óleo de canola contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina.; e variação da razão $(I_{2856}/I_{3010})_{\text{tx}}/(I_{2856}/I_{3010})_{\text{t0}}$ ■ de óleo de girassol contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C.

A intensidade das bandas (alturas), tanto do estiramento simétrico de grupos metileno e quanto das vibrações de estiramento das duplas ligações *cis*, foram medidos tomando a linha de base de 3040 a 2800 cm^{-1} , centradas em 2856 cm^{-1} e 3009 cm^{-1} , respectivamente. O desvio padrão combinado para os valores desta razão produziram um coeficiente de variação menor que 0,18%.

Observou-se que o aumento na razão entre a absorvância devido ao estiramento simétrico da vibração dos grupos CH₂ e a absorvância atribuída a grupos *cis*-olefínicos é menor nas amostras contendo curcumina do que as respectivas amostras sem a adição de antioxidante (Tabela 12). Esses dados corroboram com os observados nas análises de espectroscopia UV e Rancimat, indicando que a curcumina atua com eficiência como antioxidante para os óleos vegetais. Verifica-se também que os valores destas razões para as amostras derivadas de óleo de girassol são maiores do que para as respectivas amostras de óleo de canola, sugerindo que as amostras de óleo de girassol sofrem maior oxidação.

Tabela 12. Razão I_{CH₂}/I_{C=C} após 14 dias de experimento de oxidação para as amostras derivadas de óleo de canola (OC) e amostras derivadas de óleo de girassol (OG) contaminadas com óxido de cobre (II) e mantidas a 90 °C em função da presença de curcumina.

| Amostra | OC + CuO | OG + CuO | OC + CuO + curcumina | OG + CuO + curcumina |
|---|----------|----------|-------------------------|-------------------------|
| I _{CH₂} /I _{C=C} | 1.150 | 1.198 | 1,131 | 1,162 |

A intensidade da banda (altura) do estiramento simétrico de grupos metileno foi medida tomando a linha de base de 3040 a 2800 cm⁻¹ centradas em 2856 cm⁻¹, e a intensidade da banda correspondente às vibrações de estiramento dos grupos éster dos triglicerídeos foi medida tomando a linha de base de 1780 a 1680 cm⁻¹ centrada em 1746 cm⁻¹. O desvio padrão combinado para os valores desta razão produziram um coeficiente de variação menor que 0,18%.

Assim como para as amostras sem antioxidante, houve um aumento da razão $(I_{2856}/I_{1747})_{IX}/(I_{2856}/I_{1747})_{I0}$ nas amostras de óleo de canola contaminadas com óxido de cobre (II) e com adição de curcumina, sugerindo que o número de grupos éster diminuiu. O aumento desta razão é muito menos pronunciado nas amostras de óleo de canola contaminado com o óxido metálico e contendo o antioxidante, o que mostra que a curcumina inibiu a degradação térmica dessas amostras.

As amostras de óleo de girassol (contaminadas com o óxido de cobre) contendo curcumina apresentam a mesma tendência observada nas respectivas

sem antioxidante (Figura 49). Houve uma diminuição da razão $(I_{2856}/I_{1746})_{tx}/(I_{2856}/I_{1746})_{t0}$. Ácidos livres, cetonas e aldeídos são possíveis produtos secundários da oxidação de triglicerídeos que absorvem próximo a esta banda e podem estar contribuindo na absorvância medida.

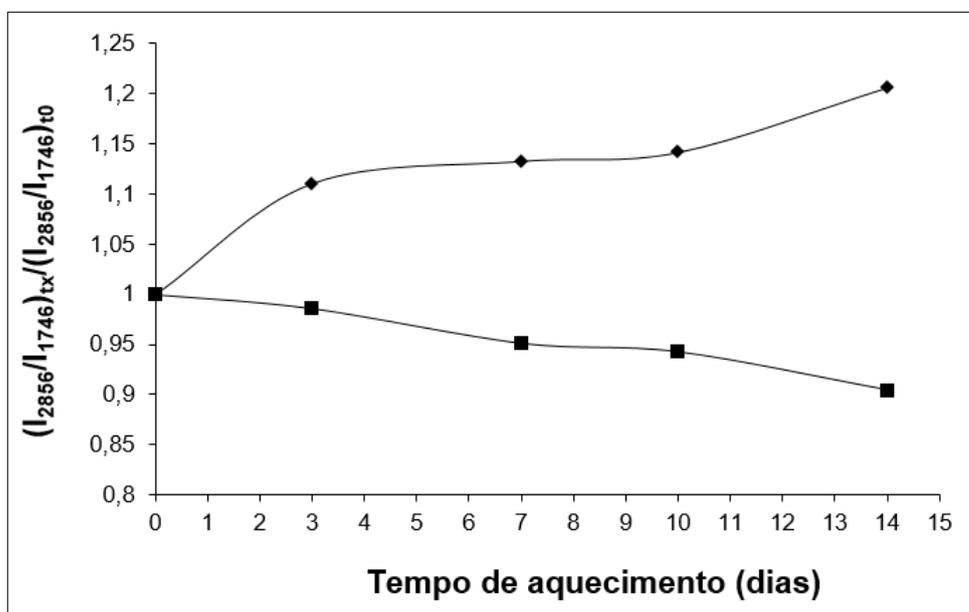


Figura 49. Variação da razão $(I_{2856}/I_{1746})_{tx}/(I_{2856}/I_{1746})_{t0}$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: \blacklozenge óleo de canola contaminado com óxido de cobre (II) e na presença de curcumina; e \blacksquare óleo de girassol contaminado com óxido de cobre(II) e na presença de curcumina.

A banda de absorção causada pelo estiramento da ligação O-H da hidroxila ligada ao anel aromático da curcumina absorve fortemente próximo a região onde são observadas banda relativa aos hidroperóxidos gerados pela oxidação dos óleos, impossibilitando a avaliação da evolução da absorção correspondente aos mesmos.

4.3.8 Espectroscopia de espalhamento Raman

Na Figura 50 e na Figura 51 são mostrados os espectros de espalhamento Raman das amostras contendo antioxidante antes de serem submetidas ao aquecimento a 90 °C, sendo as principais bandas assinaladas.

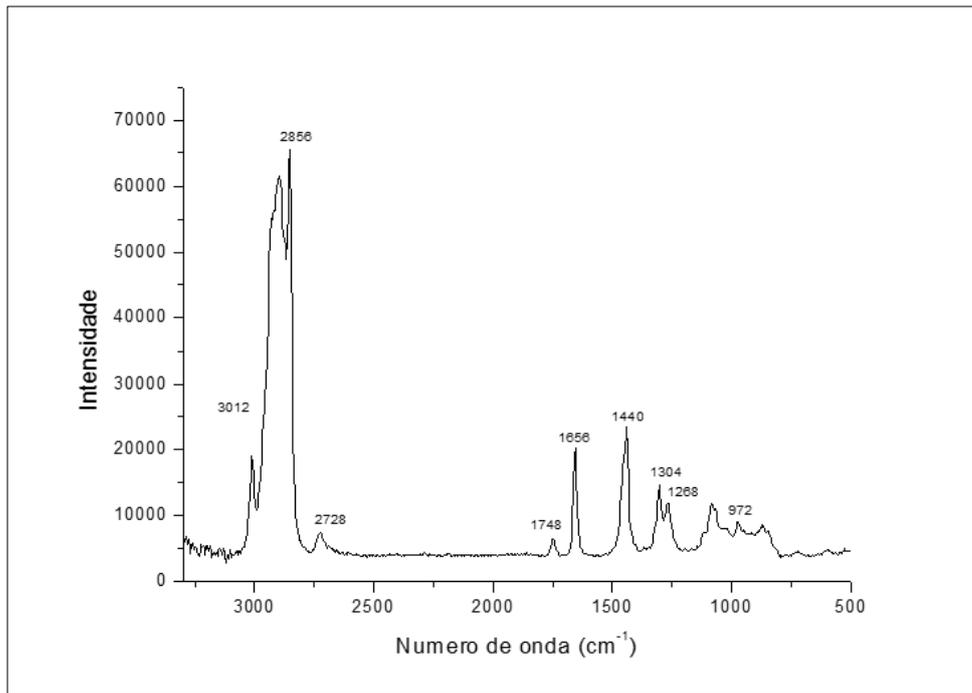


Figura 50. Espectro de espalhamento Raman de amostras de óleo de canola contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina e antes de ser submetida a estresse oxidativo.

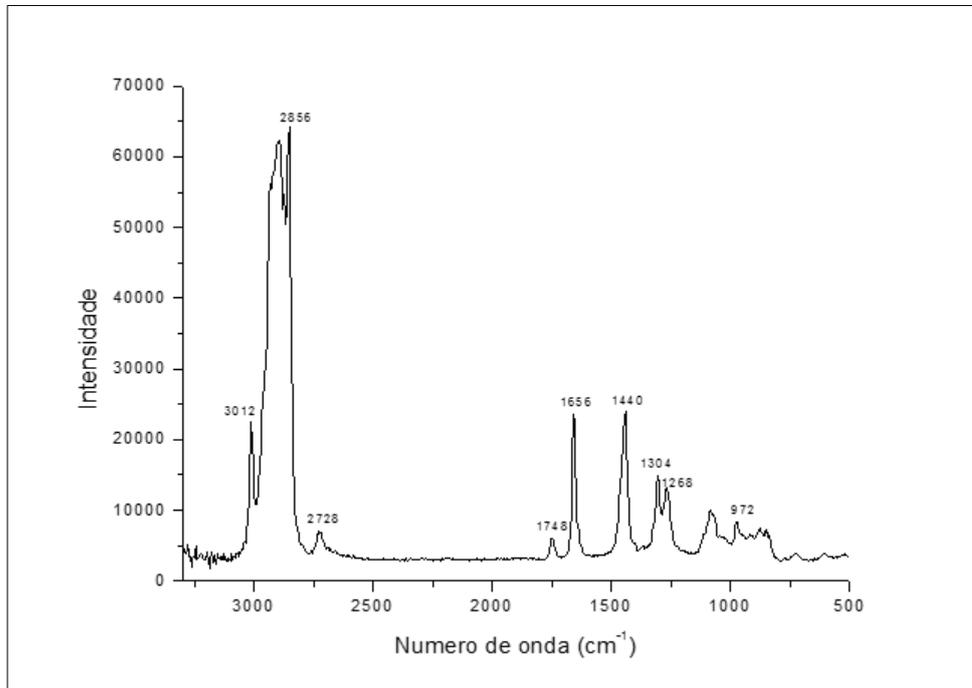


Figura 51. Espectro de espalhamento Raman de amostras de óleo de girassol contaminado com óxido de cobre (II) na presença de curcumina e antes de ser submetida a estresse oxidativo.

As atribuições das bandas de infravermelho foram realizadas por comparação dos dados da literatura [104,115]. Os espectros das amostras contendo curcumina apresentaram um perfil similar aos respectivos espectros dos óleos puros, sendo possível identificar as mesmas bandas espectrais. Na Figura 52 é mostrado o espectro de espalhamento Raman da curcumina, o antioxidante utilizado no presente estudo.

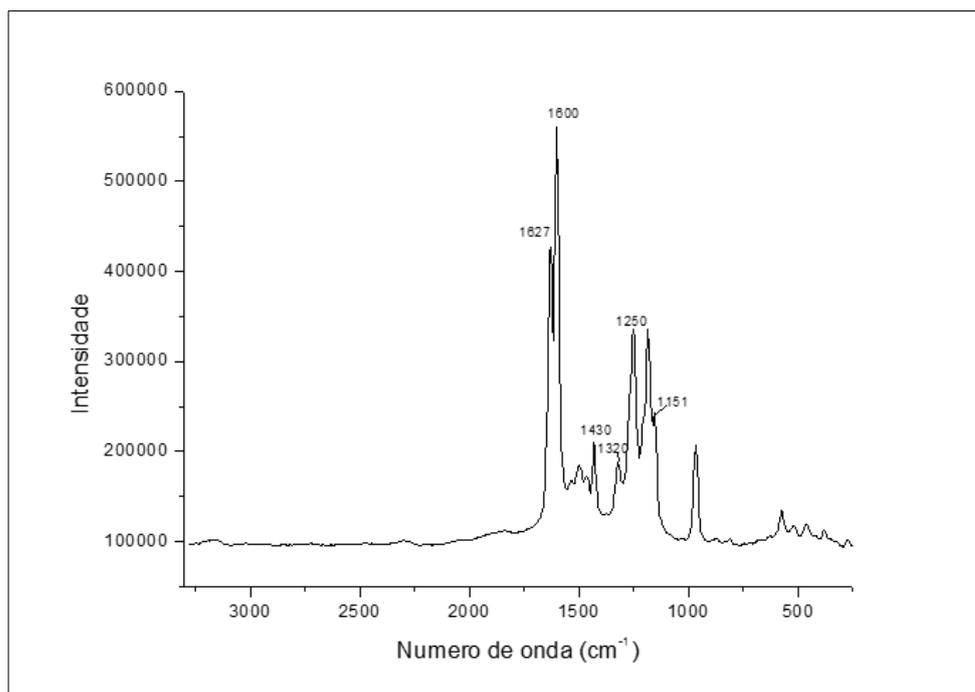


Figura 52. Espectro de espalhamento Raman da curcumina, antioxidante utilizado neste estudo.

As bandas mais proeminentes observadas no espectro de espalhamento Raman da curcumina apresentam máximos de absorção em 1627 e 1600 cm^{-1} . Estas bandas correspondem ao acoplamento das vibrações de estiramento C=C e C=O na curcumina. Em 1430 cm^{-1} é observada uma banda que corresponde a uma mistura das vibrações alifáticas $\delta(\text{CCC})$ e $\delta(\text{CCH})$ e da vibração de deformação angular dos anéis aromáticos $\delta(\text{C-OH})$. O máximo de absorção observado a 1317 cm^{-1} pode ser atribuído a deformação angular $\delta(\text{CCH})$ da cadeia entre os anéis. Em 1250 cm^{-1} observa-se uma banda que corresponde a deformação angular dos anéis aromáticos $\delta(\text{CH})$ combinado o estiramento $\nu(\text{C-O})$ dos grupos éter ligados aos anéis aromáticos.

Na Figura 53 é apresentada a variação das razões $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_0$ ao longo do processo de oxidação para as amostras de óleo de canola e óleo de girassol e contendo curcumina.

A intensidade das bandas (alturas), tanto do estiramento simétrico de grupos metileno e quanto das vibrações de estiramento das duplas ligações *cis*, foram medidos tomando a linha de base de 3040 a 2800 cm^{-1} , centradas em 2856 cm^{-1} e 3012 cm^{-1} , respectivamente. O desvio padrão combinado para os valores desta razão produziram um coeficiente de variação menor que 0,16%.

Assim como para as amostras de óleo sem a adição de antioxidante, os valores da razão $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_0$ aumentam significativamente ao longo do processo de oxidação, sugerindo a diminuição das ligações duplas *cis*. Contudo, os valores obtidos para o índice de iodo destas amostras permanecem quase inalterados, sugerindo ocorrer a isomerização das duplas ligações *cis*.

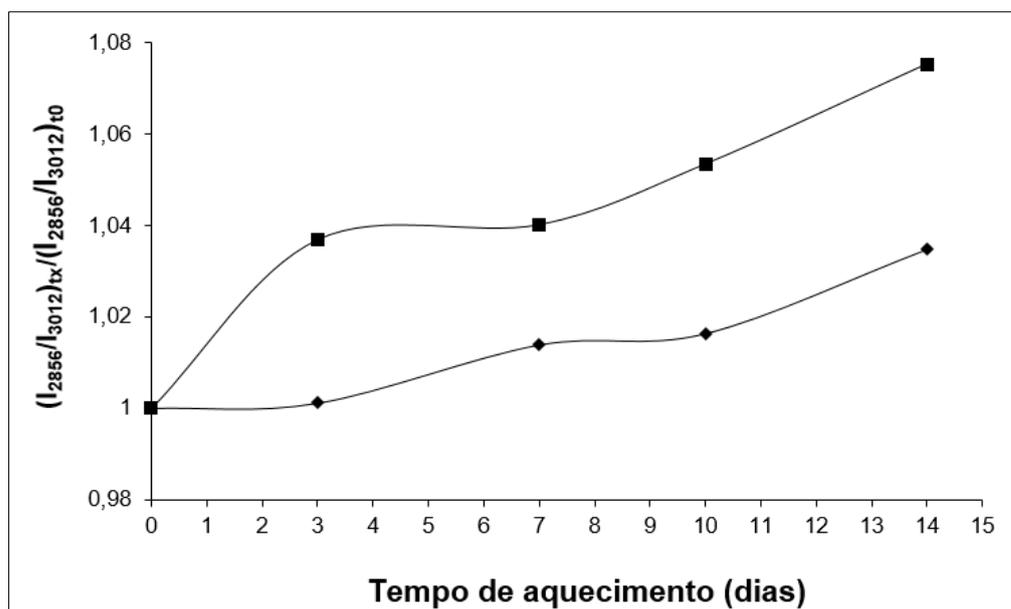


Figura 53. Variação da razão $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_0$ em função do tempo para as amostras submetidas a aquecimento a 90 °C: ◆ amostras de óleo de canola contaminado com óxido de cobre(II) contendo curcumina; ■ amostras de óleo de girassol contaminado com ó óxido de cobre (II) contendo curcumina.

O aumento na razão entre a absorvância devido ao estiramento simétrico da vibração dos grupos CH_2 e a absorvância atribuída a grupos *cis*-olefínicos foi

menor nas amostras contendo curcumina do que nas respectivas amostras sem a adição de antioxidante (Tabela 13). Esses dados corroboram com os resultados observados nas análises com espectroscopia no UV e Rancimat e espectroscopia de FT-IR, indicando que a curcumina atua com eficiência como antioxidante para os óleos vegetais. Verificou-se também que os valores da razão $(I_{2856}/I_{3012})_{1x}/(I_{2856}/I_{3012})_{t0}$ para as amostras derivadas de óleo de girassol são maiores do que para as respectivas amostras de óleo de canola, sugerindo que as amostras de óleo de girassol sofrem maior oxidação.

Tabela 13. Razão $(I_{2856}/I_{3012})_{1x}/(I_{2856}/I_{3012})_{t0}$ no último dia do experimento (dia 14) medido por espalhamento Raman para as amostras de óleo de canola contaminado com óxido de cobre(II) e amostras de óleo de girassol contaminado com óxido de cobre (II) em função.

| Amostra | OC + CuO | | OG + CuO | |
|---|----------|----------|-----------|-----------|
| | OC + CuO | OG + CuO | + | + |
| | | | curcumina | curcumina |
| $(I_{2856}/I_{3012})_{1x}/(I_{2856}/I_{3012})_{t0}$ | 1.189 | 1.202 | 1,035 | 1,075 |

4.3.9 Avaliação conjunta dos resultados

A curcumina, de um modo geral, aumentou a estabilidade oxidativa de óleos vegetais. O tempo de indução para as amostras dos óleos de canola e de girassol contendo curcumina foi menor do que para as respectivas amostras sem o antioxidante. Verificou-se também que os valores das intensidades das absorvâncias medidas por UV a 232 e 270 nm dos óleos contendo curcumina são menores do que seus respectivos valores sem antioxidante. Os resultados de FT-IR e Raman também corroboram para esta conclusão. O aumento na razão entre a absorvância devido ao estiramento simétrico da vibração dos grupos CH_2 e a absorvância atribuída a grupos *cis*-olefínicos foi menor nas amostras contaminadas com o antioxidante.

5. Conclusões

Embora as causas e consequências dos processos de degradação oxidativa e hidrolítica sejam bastante diferentes, parece que estas duas vias interagem uma com a outra, contribuindo para a redução da estabilidade do óleo.

Nas condições deste estudo, o conjunto de resultados obtidos para o óleo de canola sugere que o cobre promoveu a hidrólise de ligações éster. Observou-se um aumento expressivo no VA das amostras de óleo de canola contaminadas com cobre, que pode ser atribuído à produção de ácidos graxos livres, produtos da hidrólise dos ésteres presentes nos óleos. Esses resultados são confirmados pela espectroscopia no infravermelho, na qual se observou um aumento na razão $(I_{2856}/I_{1747})_{tx}/(I_{2856}/I_{1747})_{t0}$, ou seja, uma diminuição dos grupos éster nas amostras de óleo contaminado com cobre. No entanto, não ocorreram alterações nas bandas com máximo em 1120 e 1098 cm^{-1} , que estão associadas com ligações OC–C do grupo éster.

Os dados aqui obtidos sugerem que, durante a oxidação dos triglicerídeos, não ocorreu quebra das ligações olefínicas, e sim a isomerização das duplas ligações *cis* direcionando a formação de produtos contendo ligações *trans*. Não foi observada significativa diminuição do índice de iodo, indicando que uma grande parte da oxidação nos óleos contaminados com cobre não envolveu diretamente a perda de duplas ligações. A espectroscopia FT-IR mostrou que as razões $(I_{2856}/I_{3009})_{tx}/(I_{2856}/I_{3009})_{t0}$ para o óleo de canola e as razões $(I_{2856}/I_{3010})_{tx}/(I_{2856}/I_{3010})_{t0}$ para o óleo de girassol aumentaram ao longo do processo de oxidação, sugerindo a redução das ligações duplas *cis*. Esses resultados são confirmados pela espectroscopia Raman, na qual se observou uma diminuição na banda a 3012 cm^{-1} , correspondente ao estiramento das ligações C–H das duplas ligações *cis*. Contudo, esta observação pode ser atribuída ao fato das insaturações *trans* não serem contabilizadas nestas razões.

As razões $(I_{2856}/I_{3009})_{tx}/(I_{2856}/I_{3009})_{t0}$ e $(I_{2856}/I_{3010})_{tx}/(I_{2856}/I_{3010})_{t0}$ medidas por FT-IR e a razão $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_{t0}$ medida por espectroscopia de espalhamento Raman podem ser consideradas um índice de oxidação, pois indicam a isomerização das duplas ligações decorrentes dos processos oxidativos.

Os resultados confirmam que o cobre (não importa a espécie, isto é, tanto metálico quanto na forma de óxido cúprico) participa ativamente do processo de degradação dos óleos vegetais. O teste de estabilidade oxidativa Rancimat mostrou que as amostras dos óleos vegetais, tanto de canola quanto de girassol, contendo cobre sofreram maior redução em seus tempos de indução. Observou-se que a intensidade da absorvância a 270 nm das amostras de óleo de canola contendo cobre aumentou no decorrer do experimento, semelhante ao resultado obtido nas amostras de óleo de girassol contaminadas com o metal, enquanto as intensidades das absorvâncias da amostra dos óleos puros mantiveram-se praticamente inalteradas. Os dados obtidos por espectroscopia no infravermelho e espectroscopia Raman são consistentes com os resultados descritos para o teste Rancimat e espectroscopia no UV.

As amostras contaminadas com óxido cúprico sofreram maior oxidação. No teste Rancimat, as amostras contendo Cu(II) mostraram uma diminuição mais pronunciada no tempo de indução. Verificou-se também um aumento maior na intensidade da absorvância a 270 nm para a amostra contendo este íon, tanto para o óleo de canola como para o óleo de girassol. Os dados obtidos por espectroscopia no infravermelho e espectroscopia Raman são consistentes com esta conclusão. As razões $(I_{2856}/I_{3009})_{tx}/(I_{2856}/I_{3009})_{t0}$ e $(I_{2856}/I_{3010})_{tx}/(I_{2856}/I_{3010})_{t0}$ medidas por FT-IR e a razão $(I_{2856}/I_{3012})_{tx}/(I_{2856}/I_{3012})_{t0}$ medida por espectroscopia Raman apresentaram um aumento mais pronunciado nas amostras contendo Cu(II). Tomados em conjunto, esses resultados sugerem que esta espécie de cobre promoveu um maior grau de oxidação.

As amostras de óleo de girassol foram mais susceptíveis à oxidação do que as amostras de óleo de canola. Verificou-se que as amostras derivadas do óleo de girassol sofreram uma redução em seus tempos de indução um pouco mais pronunciada do que as respectivas amostras derivadas do óleo de canola. Embora as amostras de óleo de girassol tenham mostrado um aumento na intensidade das absorvâncias a 270 nm menor do que amostras de óleo de canola, os valores da razão entre a absorvância medida a 270 nm e a absorvância medida a 232 nm (I_{270}/I_{232}) foram maiores para as amostras de óleo de girassol, indicando maior conteúdo de produtos secundários nas amostras derivadas de óleo de girassol oxidadas. No FT-IR, observou-se que a intensidade da banda próxima a 3472 cm^{-1}

¹, que tem origem nos hidroperóxidos gerados pela oxidação dos óleos, foi maior nas amostras derivadas do óleo de girassol do que nas respectivas amostras derivadas de óleo de canola. As análises de FT-IR e Raman confirmam os resultados citados anteriormente. Foi assim mesmo verificado que as razões entre a absorvância devida ao estiramento simétrico da vibração dos grupos CH₂ e a absorvância atribuída a grupos *cis*-olefínicos medidas por espectroscopia de absorção no infravermelho foram maiores para as amostras de óleo de girassol, assim como os valores máximos da razão $(I_{2856}/I_{3012})_{\text{tx}}/(I_{2856}/I_{3012})_{\text{t0}}$ medidos por espectroscopia Raman no último dia de monitoramento. A análise deste conjunto de resultados indica que as amostras derivadas de óleo de girassol sofreram maior oxidação, o que certamente pode ser atribuído ao fato do teor de ácidos graxos poli-insaturados ser maior no óleo de girassol.

Nas amostras de óleo de girassol contendo cobre(0), observou-se diminuição acentuada do VA. Em meio ácido, o cobre metálico pode reduzir as duplas ligações com as quais ele interage, oxidando-se a Cu(II), em um processo que retira prótons do meio, ocasionando uma diminuição na acidez das amostras. Embora estes dados pareçam estar em desacordo com os resultados de índice de iodo, no qual não se observa diminuição significativa, quando se compara número total de insaturações (0,49 mol) com o consumo de íons H⁺ do meio devido à redução, verifica-se que este valor indica a redução de apenas $8,6 \times 10^{-4}$ mol de duplas ligações. Por esse motivo, o valor do índice de iodo não reflete a diminuição no número total de insaturações, ao contrário do valor ácido. Sabe-se que cobre(0), um ácido de Lewis macio (segundo o conceito de Pearson), em meio ácido, pode reduzir as duplas ligações presentes nos triglicerídeos dos óleos vegetais, com as quais ele interage, oxidando-se a Cu(II). Para a contaminação do óleo com Cu(II), foi usado o óxido cúprico, que torna o cobre menos disponível para tal interação com as bases macias citadas, em função da maior estabilidade do Cu quando ligado ao oxigênio, levando a uma diminuição menor no VA do que aquela observada para as amostras contendo Cu(0).

O teor de cobre nas amostras de óleo contaminadas com cobre metálico foi de aproximadamente 14 ppm, enquanto que nas amostras de óleo contendo Cu(II) foi de cerca de 4 ppm e, nas amostras de óleo contendo Cu(II) e curcumina, cerca de 5 ppm. Estes resultados indicam maior solubilidade do cobre metálico do que

do Cu(II) em óleos vegetais, o que pode ser atribuído, em parte, à interação do Cu(0) com as duplas ligações dos óleos vegetais. O teor de cobre nas amostras contaminadas com cobre metálico seria a soma de Cu(0) e de Cu(II) dissolvidos, sendo a quantidade de Cu(II) menor que 4 ppm, pois as amostras contaminadas com Cu(II) apresentaram maior atividade hidrolítica. Contudo, maiores subsídios experimentais são necessários para uma compreensão mais completa deste sistema.

A curcumina, de um modo geral, aumentou a estabilidade oxidativa dos óleos vegetais estudados. Os resultados mostraram que, com a evolução do processo oxidativo, o tempo de indução diminuiu para as amostras contaminadas com óxido de cobre(II) em função da adição de curcumina, indicando que a adição de curcumina inibiu o processo de oxidação. Verificou-se também que os valores das intensidades das absorvâncias a 232 e 270 nm dos óleos contendo curcumina foram menores do que seus respectivos valores sem antioxidante. As análises de espectroscopia de absorção no infravermelho e espectroscopia Raman confirmam estes resultados.

Diante de mudanças ocorridas na dinâmica da matriz energética brasileira na última década, os óleos vegetais passam a ocupar um papel de destaque, sendo estes importantes fontes de matérias primas no desenvolvimento de combustíveis renováveis. O estudo aqui apresentado, em concordância com a tendência nacional e levando em consideração a diversidade de espécies oleaginosas disponíveis no Brasil, buscou investigar mais a fundo o comportamento dos óleos de canola e girassol, a fim de agregar valor e servir de base para novos produtos e estudos.

6. Referências bibliográficas

- [1] KAMAL-ELDIN A., POKORNÝ J. Analysis of Lipid Oxidation. Champaign: AOCS Press, 2005. 280p.
- [2] MELO, J. A. S. Inovação tecnológica: o uso direto de óleos vegetais como vetor energético no Brasil. 2009. 127 f. Dissertação de Mestrado em Desenvolvimento Sustentável Universidade de Brasília, Brasília, 2009.
- [3] SCHIIMPF, E. A posição do óleo vegetal comparado a outros combustíveis de origem biológica. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/estudos/biodiesel/oleo-vegetal-combustiveis-biologico.htm>>. Acesso em 21 mar. 2015.
- [4] COLZA, (Brassica napus L. e Brassica rapa L.). Disponível em: <http://w3.ufsm.br/nppce/disciplinas/canola.pdf>. Acesso em 28 fev. 2015.
- [5] Canola, uma variação genética mundialmente apreciada. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/224.pdf>. Acesso em 28 fev. 2015.
- [6] VIANNE, R. BRAZ-FILHO, R. Ácidos graxos naturais: importância e ocorrência em alimentos. Química Nova, v.19, n.4, p.400-407, 1996.
- [7] The history of canola. Disponível em: <http://www.canolacouncil.org/oil-and-meal/what-is-canola/the-history-of-canola/>>. Acesso em 28 fev. 2015.
- [8] KAYSER, G R. Benefícios da ingestão de ômega 3 e a prevenção de doenças crônicas degenerativas – revisão sistemática. Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento, São Paulo v.4, n.21, p.137-146, Maio/Jun. 2010.
- [9] SOARES, C. M. et al. Substituição Parcial e Total da Proteína do Farelo de Soja pela Proteína do Farelo de Canola na Alimentação de Alevinos de Piavuçu (*Leporinus macrocephalus*, L.). Revista Brasileira Zootecnologia, v.29, n.1, p.15-22, 2000.

[10] CARVALHO, M. A. Canola. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_05_06_16_52_23_apresentacaocanolaabril.pdf> Acesso em 08 fev. 2014.

[11] ANTUNES, J. M. Potencialidades da canola na produção de biodiesel, Disponível em: <http://hotsites.sct.embrapa.br/diacampo/programacao/2008/potencialidades-da-canola-na-producao-de-biodiesel> Acesso em: 08 fev. 2014.

[12] DIAS, J. C. A. Canola/colza: alternativa de inverno com perspectiva de produção de óleo comestível e energético. Pelotas: Embrapa-CPATB, 1992. 46 p. (Embrapa-CPATB. Boletim de Pesquisa, 3).

[13] Girassol. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/plantas/girassol/girassol.htm>>. Acesso em: 28 fev 2015.

[14] CASTRO. C. de; CASTIGLIONI. V. B. R.; BALLA. A. A cultura do girassol: tecnologia de produção. 2a.ed. rev. aum. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1996.

[15] PELEGRINI, B. Girassol; Uma planta solar que das Américas conquistou o mundo, São Paulo, SP (Brasil). 1985. Icone Editora Ltda. 117 p.

[16] NUNES, S, P. Produção e consumo de óleos vegetais no Brasil Disponível em <http://www.deser.org.br/documentos/doc/Produ%E7%E3o%20e%20consumo%20de%20F3leos%20vegetais.pdf>>. Acesso em 28 fev /2015.

[17] MOURAD, Anna Lúcia. Principais culturas para obtenção de óleos vegetais combustíveis no Brasil. Encontro de Energia no meio rural, 2006, Campinas. Disponível em: <http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=MSC000000022006000200029&lng=en&nrm=abn>. Acesso em 21 mar. 2015.

[18] TOMM, G. O. Levantamento da área semeada com canola no Brasil, 2015. Disponível em <http://abrascanola.com.br/?menu=noticias&id=67>. Acesso em 28 fev 2015.

[19] Perspectivas do cultivo de girassol no Brasil, César de Castro, Fórum Capixaba de Pinhão Manso. Guarapari, ES Julho – 2012.

[20] Schuchardt, U.; Ribeiro, M L ; Gonçalves A R. Química Nova, v.24, p.247, 2001.

[21] Biocombustíveis. Disponível em: http://www.mma.gov.br/clima/energia/energias_renovaveis/biocombustiveis. Acesso em 21 mar.2015.

[22] SOCCOL, C. R. et al. Brazilian biofuel program: an overview. Journal of Scientific and Industrial Research, v.64, p.897-904, 2005.

[23] GUERRA, E. P.; FUCHS W. Biocombustível renovável: uso de óleo vegetal em motores. Rev. Acad., Ciências Agrárias Ambiental, Curitiba, v.8, n.1, p.103-112, jan./mar. 2010.

[24] SUAREZ, P. A. Z.; MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R.; WOLF C. R. Transformação de triglicerídeos em combustíveis, materiais poliméricos e insumos químicos: algumas aplicações da catálise na oleoquímica, Química Nova, v. 30, n. 3, p.667-676, 2007.

[25] NOGUEIRA, L. A. H. Biocombustíveis no Brasil, Seminário Internacional: Perspectivas del BIODIESEL em El Perú. Universidad La Molina, Lima, set. 2006.

[26] FRANKEL, E. N. Lipid Oxidation. Pray. Lipid Research, v.19, p. 1-22, 1980

[27] DOYLE, A. Estudo da Interação do Dodecanotiol e do Ácido Hexanóico com o Cobre e sua Influência na Degradação do Óleo Diesel. 2001. Tese de Doutorado em Química Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

[28] VINHOZA, M. M. Estudo do Comportamento dos metais Chumbo e Mercúrio na Presença do 1-Dodecanotiol e Ácido Hexanóico em Matriz de Hidrocarbonetos. 2005 Tese de Doutorado em Química Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

[29] SILVA, F. A. M.; BORGES M. F. M.; FERREIRA M. A. Métodos para avaliação do grau de Oxidação Lipídica da Capacidade Antioxidante. Química Nova, v.22, n.1, p.94-103, 1999.

[30] FRANKEL, E. N.; In search of better methods to evaluate antioxidants and oxidative stability in food lipids. Trends Food Sci. & Technology, v.4, p. 229, 1993.

[31] ASTM D664:2011, Standard Test Method for Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration. ASTM International, West Conshohocken, PA, 2006.

[32] BOULFI, N. EL; BOUAID, A.; MARTINEZ, M.; ARACIL, J. Process Optimization for Biodiesel Production from Corn Oil and Its Oxidative Stability. International Journal of Chemical Engineering, v. 2010, p 1-9, 2010.

[33] BASTOS, L.C.S.; PEREIRA, P. A. Influence of heating time and metal ions on the amount of free fatty acids and formation rates of selected carbonyl compounds during the thermal oxidation of canola oil. Journal of Agricultural Food Chemicals., v.58, p.12777-12783, 2010.

[34] COSCIONE, A. R.; ARTZ W. E. Vegetable oil stability at elevated temperatures in the presence of ferric stearate and ferrous octanoate. Journal of Agricultural Food Chemicals, v.53, n.6, p. 2088-2094, mar. 2005.

[35] EN 14111, 2003, Derivados de aceites y grasas. Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME). Determinación del índice de yodo. Madrid, Espanha, 2003.

[36] KNOTHE, G. How relevant is the iodine value. Journal of American Oil Chemical Society., v.79, p.847-854, 202.

[37] GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. F.; PADLEY, F. B. *The Lipid Handbook*, 2a ed., Londres: Chapman & Hall, 1994.

[38] AOCS TI 1a-64. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, Conjugated Dienoic Acid in Castor Oil and Acids*. Champaign, Illinois (1999).

[39] JORGE, N.; JANIERI, C. Avaliação do óleo de soja submetido ao processo de fritura de alimentos diversos. *Ciências Agrotecnicas, Lavras*, v.29, n.5, p. 1001-1007, set./out. 2005.

[40] GERDE, J. A. et al. Rapid Determination of Degradation in Frying with Near-Infrared Spectroscopy. *Journal of American Oil Chemical Society*, v.84, p.519-522, 2007.

[41] AOCS Cd 12b-92. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, Oil Stability Index (OSI)*. Champaign, Illinois (1999).

[42] EN 14112, 2003 *Fat and oil derivatives - Fatty Acid Methyl Esters (FAME) - Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test)*. Londres, Inglaterra. 2003.

[43] Le Dréau, Y. et al. Infrared study of aging of edible oils by oxidative spectroscopic index and MCR-ALS chemometric method. *Talanta*, v.77, p.1748–1756, 2009.

[44] GUILLÉN, M. D.; CABO, N. Usefulness of the frequency data of the Fourier transform infrared spectra to evaluate the degree of oxidation of edible oils. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.47, p.709–719, 1999.

[45] GUILLÉN, M. D.; CABO, N. Some of the most significant changes in the Fourier transform infrared spectra of edible oils under oxidative conditions. *Journal of Science of Food Agriculture*, v.80, p.2028–2036, 2000.

[46] VAN DE VOORT, F. R. et al. Monitoring the oxidation of edible oils by FTIR spectroscopy. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.71, p.243–253, 1994.

[47] GHESTI, G. F. et al. Application of Raman Spectroscopy to Monitor and Quantify Ethyl Esters in Soybean Oil Transesterification. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.83, n.7, p 597-601., 2006.

[48] BARBARA MUIKA, B. et al. Two-dimensional correlation spectroscopy and multivariate curve resolution for the study of lipid oxidation in edible oils monitored by FTIR and FT-Raman spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, v.593 p.54–67, 2007.

[49] HILL, S.E. A comparison of modern instruments for the analysis of the oxidation stability of fats, oils and foods. *Inform*, v.5, n.1, p.104-109, 1994.

[50] AOCS Cd 12-57. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, Active Oxygen Method (AOM). Champaign, Illinois (1999).

[51] AOCS Cd 8-53. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, Peroxide Value Using Chloroform. Champaign, Illinois (1999).

[52] ANTONIASSI, R. Métodos de Avaliação da Estabilidade Oxidativa de Óleos e Gorduras. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 353-380, jul./dez. 2001.

[53] HADORN, H.; ZURCHER, K. Zur bestimmung der oxydations stabilitat von olen und fetten. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, v.70, n.2, p.57-65, 1974.

[54] RAUEN-MIGUEL, A. M. O.; ESTEVES, W.; BARRERA-ARELLANO, D. Determination del período de inducción de aceite de soja: correlación entre El Rancimat y otros índices. *Grasas Y Aceites*, v.43, n.3, p.119-122, 1992b.

[55] WARNER, K.; FRANKEL, E.N.; MOUNTS, T.L. Flavor and oxidative stability of soybean, sunflower and low erucic acid rapeseed oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.66, n.4, p.558-564, 1989.

[56] GUTIÉRREZ ROSALES, F. Determinación de la estabilidad oxidativa de aceite de oliva vírgenes: comparación entre el método deloxígenoactivo (A.O.M.) y el método Rancimat. *Grasas Y Aceites*, v.40, n.1, p.1-5, 1989.

[57] PARK, J. et al. Blending effects of biodiesels on oxidation stability and low temperature flow properties. *Bioresource Technology*, v.99 p.1196-1203, 2008.

[58] BARBOSA, L. C. A. Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. Viçosa: ed. UFV, 2007.

[59] O. D. SHREVE, O. D. et al. Infrared absorption spectra: Some long-chain fatty acids, esters, and alcohols. *Analytical Chemistry*, v.22, p.1498–1501, 1950.

[60] SINCLAIR, R. G.; MCKAY, A. F.; JONES, R. N. The infrared absorption spectra of saturated fatty acids and esters. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.74, p.2570–2575, 1952.

[61] SINCLAIR, R. G. et al. The infrared absorption spectra of unsaturated fatty acids and esters. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.74, p.2578–2585, 1952.

[62] JONES, R. N.; MCKAY, A. F.; SINCLAIR, R. G. Band progressions in the infrared spectra of fatty acids and related compounds. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.74, p.2575–2578, 1952.

[63] Lanser, A. C.; et al. FTIR estimation of free fatty acid content in crude oils extracted from damaged soybeans. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.68, p.448–449, 1991.

[64] ARNOLD, R. G.; HARTUNG, T. E. Infrared Spectroscopy Determination of Degree of Unsaturation of Fats and Oils. *Journal of Food Science*, v.36, p.166–168, 1971.

[65] AFRAN, A.; NEWBERRY, J.E. Analysis of the Degree of Unsaturation in Edible Oils by Fourier Transform Infrared/Attenuated Total Reflectance Spectroscopy. *Spectroscopy* v.6, p.31–34, 1991.

[66] MUNIATEGUI, S.; PASEIRO P.; SIMAL, J. Medida del grado de insaturacion de aceites y grasas comestibles por espectroscopia infrarroja y su relacion com el indice de iodo. *Grasas y Aceites* v.43, n1., p.1-5, 1992.

[67] Y. B. CHE MAN, G. SETIOWATY, F. R. VAN DE VOORT, Determination of iodine value of palm oil by Fourier transform infrared spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76 (1999) 693–699.

[68] IUPAC International Union of Pure and Applied Chemistry, Standard Methods for the Analysis of Oil, Fats and Derivatives. Blackwell Scientific, Oxford, 1987.

[69] AOCS Cd14b-95. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, trans Fatty Acids (isolated) by FTIR. Champaign, Illinois (1999).

[70] AOAC, Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Arlington, VA (1990).

[71] DE GREYT, W. et al. Determination of low trans levels in refined oils by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.75, p.115–118, 1998.

[72] SEDMAN, J.; VAN DE VOORT, F. R.; ISMAIL, A. A. Upgrading the AOCS infrared trans method for analysis of neat fats and oils by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.74, p.907–913, 1997.

[73] LI, H. et al. Discrimination of edible oil products and quantitative determination of their iodine value by FTNIR spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.77, p.29–36, 2000.

[74] COX, R. et al. Determination of iodine value with a Fourier transform-near infrared based global calibration using disposable vials: An international collaborative study. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.77, p.1229–1234, 2000.

[75] LI, H. et al. Trans determination of edible oils by Fourier transform near-infrared spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.77, p.1061–1067, 2000.

[76] LI, H. et al. Rapid Determination of cis and trans Content, Iodine Value and Saponification Number of Edible oils Fourier transform near infrared spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.76, p.491–497, 1999.

[77] VLACHOS, N. et al. Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils. *Analytica Chimica Acta*, v.573–574, p.459–465, 2006.

[78] LAI, Y. W.; KEMSLEY, E. K.; WILSON, R. H. Potential of Fourier transform infrared spectroscopy for the authentication of vegetable oils. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, v.42, p.1154–1159, 1994.

[79] GUILLÉN, M. D.; CABO, N. Characterization of edible oils and lard by Fourier transform infrared spectroscopy. Relationships between composition and frequency of concrete bands of the fingerprint region. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.74, p.1281–1286, 1997.

[80] YILDIZ, G.; WEHLING, R. L.; CUPPETT, S. L. Monitoring PV in Corn and Soybean Oils by NIR Spectroscopy, *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.78, n.5, p.595-502, 2001

[81] LANSER, A. C. et al. FTIR estimation of free fatty acid content in crude oils extracted from damaged soybeans. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.68, p.448-449, 1991.

[82] ISMAIL, A. A. et al. Rapid quantitative determination of free fatty acids in fats and oils by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.70, p.335-341, 1993.

[83] BERTRAN, E. et al. Determination of olive oil free fatty acid by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.76, p.611-616, 1999.

[84] CHE MAN, Y. B.; MOH, M. H.; VAN DE VOORT, F. R. Determination of free fatty acids in crude palm oil and refined bleached- deodorized palm olein using Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.76, p.485-490, 1999.

[85] VERLEYEN, T.R. et al. Influence of triacylglycerol characteristics on the determination of free fatty acids in vegetable oils by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.78, p.981-984, 2001.

[86] AL-ALAWI, A.; VAN DE VOORT F. R.; SEDMAN, J. New FTIR method for the determination of FFA in oils. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.81, p.441-446, 2004.

[87] AL-ALAWI, A.; VAN DE VOORT F. R.; SEDMAN, J. Automation of FTIR analysis: automated quantification of moisture or FFA in edible oils. *Journal of Laboratory Automation*, v.11, n.2, p.:23-29, 2006.

[88] DUBOIS, J. et al. Quantitative FTIR analysis of anisidine value and aldehydes in thermally stressed oils. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.73, p.788-794, 1996.

[89] CHE MAN, Y. B.; SETIOWATY, G. Determination of anisidine value in thermally oxidized palm olein by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.76, p.243-247, 1999.

[90] MOYA MORENO, M. C. M. et al. Determination of unsaturation grade and trans isomers generated during thermal oxidation of edible oils and fats by FTIR. *Journal of Molecular Structure* v.482-483, p.551-556, 1999.

[91] Sala, O. Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho. 2a. ed. São Paulo: Editora UNESP, 2008.

[92] BARTHUS, R. C.; POPPI, E R. Determination of total unsaturation in vegetable oils by Fourier transform Raman spectroscopy and multivariate calibration. *Vibrational Spectroscopy*, v.26 p.99-105, 2001.

[93] YANG, H.; IRUDAYARAJ, J. Comparison of Near Infrared, Fourier Transform-Infrared, and Fourier Transform-Raman Methods for Determining Olive Pomace Oil Adulteration in Extra Virgin Olive Oil. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.78, n.9, p.889-895, 2001.

[94] KNOTHE, G.; DUNN, R.O. Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.80, p.1021-1026, 2003.

[95] SARIN, A. et al. Influence of metal contaminants on oxidation stability of Jathopha biodiesel. *Energy*, v.34, p.1271-1275, 2009.

[96] SILVA, S. F.; DIAS, C. C.; VALLE, M. L. M. Influência de Metais e de Antioxidantes na Estabilidade do Biodiesel de Soja, *Revista de Química Industrial*, v.1, p. 23-28, 2010.

[97] DAS, L. M. et al. Long Term Storage Stability of biodiesel produced from Kajanga oil. *Fuel*, v.88:, p.2315-2318, 2009.

[98] SOUZA, L. S.; MOURA, C. V. R.; OLIVEIRA, J. E. Use of natural antioxidants in soybean biodiesel, *Fuel*; v.134, p.420-428, 2014.

[99] BERNARDES, A. et al. Cúrcuma: Planta Medicinal, Condimentare de Outros Usos Potenciais. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.30, n.1, p.171-175, 2000.

[100] AOCS Ca 6b-53 12-57. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. Unsaponifiable Matter. in *Fats and Oils, Including Marine Oils*. Champaign, Illinois (1999).

[101] RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. Química de Alimentos, São Paulo: Edgard Blücher, 2004.

[102] MORETTO, E.; FETT, R. Definição de óleos e Gorduras tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos. São Paulo. Varela, 1998. 144 p.

[103] JAIN, S.; SHARMA, M. P. Long term storage stability of Jatropha curcas biodiesel, Energy, v.36, p.5409-5415, 2011.

[104] DANTAS, M. B. et al. Evaluation of oxidative stability of corn biodiesel. Fuel, v.90, p.773-778, 2011.

[105] SILVERSTEIN, R. M.; BLASER, G. C.; MORRIL, T. C. Spectrometric Identification of Organic Compounds, 3rd edn., John Wiley & Sons, New York, 1974, pp. 73–119.

[106] SAFAR, M. et al. Characterization of Edible Oils, Butters and Margarine by Fourier Transform Infrared Spectroscopy with Attenuated Total Reflectance. Journal of American Oil Chemistry Society, v.71, p.371–377, 1994.

[107] Muika, B. et al. Direct monitoring of lipid oxidation in edible oils by Fourier transform Raman spectroscopy. Chemistry and Physics of Lipids v.134, p.173–182, 2005.

[108] LE DRÉAU, Y. et al. Study of jojoba oil aging by oxidative FTIR. Analytica Chimica Acta, v.642, p.163-170, 2009.

[109] AQUINO I. P. et al. Influence of light, temperature and metallic ions on biodiesel degradation and corrosiveness to copper and brass. Fuel, v.102, p.795–807. 2012.

[110] HAMED, S. F.; Allam, M. A. Application of FTIR Spectroscopy in the Determination of Antioxidant Efficiency in Sunflower Oil. Journal of Applied Sciences Research, v.2, n.1, p.27-33, 2006.

[111] DOYLE, A. et al. Anhydrous copper(II) hexanoate from cuprous and cupric oxides. The crystal and molecular structure of $\text{Cu}_2(\text{O}_2\text{CC}_5\text{H}_{11})_4$. *Polyhedron* v.19, p.2621-2627, 2000.

[112] YAMANAKA, M. et al. Correlation of electron density and spin-exchange interaction in dimeric copper (II) formates, acetates and silanecarboxylates. *Acta Crystallograph Sect. B*, v.47 p.344, 1991.

[113] SUAREZ, P. A. Z. et al. Transformação de Triglicerídeos Combustíveis, Materiais Poliméricos e Insumos Químicos: Algumas Aplicações da Catálise na Oleoquímica. *Química Nova*, vl. 30, n.3, p.667-676, 2007.

[114] FERRARI, R. A.; SOUZA, W. L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. *Química Nova*, v.32, n.1, p.106-111, 2009.

[115] MANGOLIM, C. S. et al. Curcumin– β -cyclodextrin inclusion complex: Stability, solubility, characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-ray diffraction and photoacoustic spectroscopy, and food application *Food Chemistry*, v.153, p.361–370, 2014.

[116] SUBHAN, M. A. et al. Synthesis and Characterization of Metal Complexes Containing Curcumin and Study of their Anti-microbial Activities and DNA Binding Properties. *Journal of Science. Resource*, v.6, n.1, p.97-109, 2014.