

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE

MAXIMIZAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DE  
ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM GARRAFAS  
PLÁSTICAS

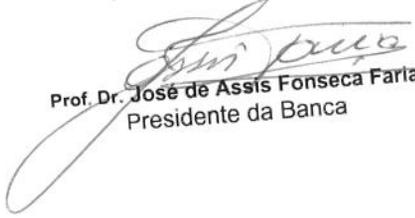
PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Henriette Monteiro Cordeiro de Azevedo**, aprovada pela Comissão Julgadora em 22 de maio de 2001.

Campinas, 22 de maio de 2001

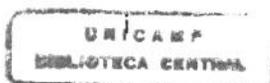
**Henriette Monteiro Cordeiro de Azevedo**  
Engenheira de Alimentos

**Prof. Dr. José de Assis Fonseca Faria**  
Orientador

  
Prof. Dr. José de Assis Fonseca Faria  
Presidente da Banca

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração Tecnologia de Alimentos.

CAMPINAS, SP  
2001



200116935

UNIDADE OC  
N.º CHAMADA:  
T/ UNICAMP  
Az 24m  
V. 8 Ex.  
TOMBO BC/ 45907  
PROC. 16-392/01  
C  D   
PREC. R\$ 11,00  
DATA 10-08-01  
N.º CPD

CM00158802-6

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

Az24m Azeredo, Henriette Monteiro Cordeiro de  
Maximização da estabilidade oxidativa de óleo de soja  
acondicionado em garrafas plásticas / Henriette Monteiro  
Cordeiro de Azeredo. – Campinas, SP: [s.n.], 2001.

Orientador: José de Assis Fonseca Faria  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de  
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

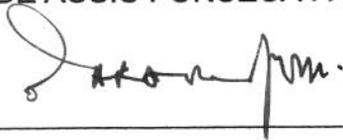
1. Óleo de soja. 2. Oxidação. 3. Superfície de resposta –  
Metodologia. I. Faria, José de Assis Fonseca Faria.  
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de  
Engenharia de Alimentos. III. Título.

**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. JOSÉ DE ASSIS FONSECA FARIA



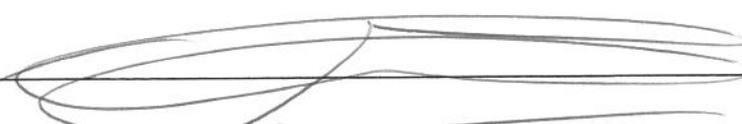
---

Prof. Dr. CARLOS ALBERTO RODRIGUES ANJOS



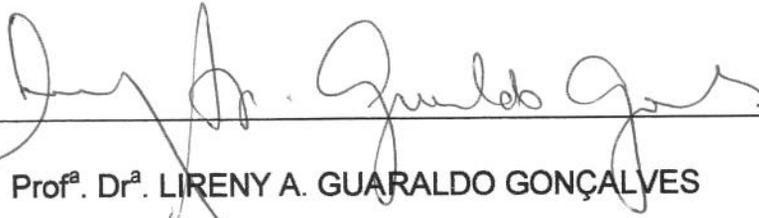
---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MARIA APARECIDA AZEVEDO P. DA SILVA



---

Prof. Dr. JOSÉ GILBERTO JARDINE



---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. LIRENY A. GUARALDO GONÇALVES

---

Dr. JOSÉ ANÍBAL TRUJILLO-QUIJANO

---

Prof. Dr. MARCELO CRISTIANINI

“... Every hour of every day I'm learning more  
The more I learn, the less I know about before  
The less I know, the more I want to look around  
Digging deep for clues on higher ground...”

(UB40)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por Sua presença constante, pela vida, pela saúde, pelos inúmeros motivos de alegria.

Ao professor Assis, pela orientação, apoio e compreensão.

Ao professor Carlos Anjos, pelo apoio, conselhos e dicas profissionais.

À professora Cida, pela ajuda em análise sensorial e na tese de forma geral.

A todos os membros da banca examinadora, pelas críticas e sugestões, tão importantes para o enriquecimento deste trabalho e do meu conhecimento.

Ao Ric, por ser a pessoa mais maravilhosa que apareceu na minha vida.

A minha mãe, Raquel, e meus irmãos, Line e Beto, pelo amor e apoio incondicionais. Ao Gino, por ter sido um pai quando precisei de um.

À Flávia, grande amiga, pela alegria e otimismo tão contagiantes.

À Aninha, mesmo à distância, sempre muito presente, muito amiga.

Aos amigos que fiz na FEA/UNICAMP, especialmente: Abel, Amanda, Cris, Luciana, Maria Paula, Nély, Paulo, Toya, Carla, Randolpho, Laura, Rodrigo, Gabi, Glória, Henelyta, todos muito queridos.

Aos técnicos e funcionários do DTA, especialmente Alice, Adauto, Ana Lourdes, Ana Maria e Nelson, pela assistência e boa-vontade.

Aos funcionários da Biblioteca da FEA, especialmente: Geraldo, Creusa e Cláudia, pela prontidão em ajudar.

À *Petropar* e à *ADM*, especialmente ao Alfredo e à Carmem, pela produção das garrafas de PET, pelo interesse e empenho em ver este trabalho concretizado.

À *Rionil*, pela produção das garrafas de PVC.

À *Cargill*, pelo fornecimento do óleo de soja utilizado no trabalho.

À FAPESP, pelo auxílio financeiro, indispensável à realização deste trabalho.

A todos os que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

## ÍNDICE GERAL

<b>1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>4</b>
<b>2.1. ÓLEOS VEGETAIS</b>	<b>4</b>
<b>2.2. AUTOXIDAÇÃO</b>	<b>6</b>
2.2.1. INICIAÇÃO	6
2.2.2. PROPAGAÇÃO	7
2.2.3. TERMINAÇÃO	10
<b>2.3. FOTOXIDAÇÃO</b>	<b>11</b>
2.3.1. OXIGÊNIO SINGLETE	11
2.3.2. O MECANISMO DA FOTOXIDAÇÃO	12
<b>2.4. DECOMPOSIÇÃO DE HIDROPERÓXIDOS</b>	<b>14</b>
<b>2.5. FATORES QUE AFETAM A ESTABILIDADE DE LIPÍDIOS</b>	<b>15</b>
2.5.1. CARACTERÍSTICAS DO SUBSTRATO	15
2.5.2. METAIS	16
2.5.3. NÍVEIS DE O <sub>2</sub>	17
2.5.4. RADIAÇÕES LUMINOSAS	18
2.5.5. TEMPERATURA	19
2.5.6. ANTIOXIDANTES	20
2.5.6.1. Antioxidantes primários	20
2.5.6.2. Antioxidantes secundários (preventivos)	22
2.5.6.2.1. Quelantes de metais	22
2.5.6.2.2. Inativadores ( <i>quenchers</i> ) de O <sub>2</sub> singlete	22
2.5.7. PROCESSAMENTO	25
2.5.8. UMIDADE	27
<b>2.6. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DO GRAU DE OXIDAÇÃO DE LIPÍDIOS</b>	<b>27</b>
2.6.1. PRINCIPAIS MÉTODOS OBJETIVOS	28
2.6.1.1. Índice de peróxido (IP)	28
2.6.1.2. Índice de Anisidina (IA)	29
2.6.1.3. Teste do Ácido Tiobarbitúrico (TBA)	29

2.6.1.4. Espectrofotometria UV (extinção específica).....	29
2.6.1.5. Cromatografia a gás (CG).....	30
2.6.2. AVALIAÇÃO SENSORIAL.....	31
2.6.3. TESTES ACELERADOS DE AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE .....	31
2.6.3.1. Teste de estufa ( <i>Schaal Oven Test</i> ).....	32
2.6.3.2. Método do oxigênio ativo (AOM - <i>Active Oxygen Method</i> ).....	32
2.6.3.3. Taxa de absorção de oxigênio.....	32
2.6.3.4. Índice de Estabilidade de Óleos ( <i>Oil Stability Index – OSI</i> ) .....	32
2.6.4. CORRELAÇÕES ENTRE MÉTODOS.....	33
<b>2.7. EMBALAGENS PARA ÓLEOS.....</b>	<b>34</b>
2.7.1. PRINCIPAIS REQUISITOS DE EMBALAGENS PARA ÓLEOS.....	34
2.7.1.1. Barreira às radiações luminosas .....	36
2.7.1.2. Barreira ao O <sub>2</sub> .....	38
2.7.1.3. Barreira ao vapor de água .....	41
2.7.2. PRINCIPAIS MATERIAIS DE EMBALAGEM PLÁSTICA PARA ÓLEOS.....	41
2.7.2.1. Policloreto de vinila (PVC).....	41
2.7.2.2. Polietileno tereftalato (PET).....	43
2.7.3. ESTUDOS DE ESTABILIDADE.....	45
2.7.3.1. Cinética de reações para estimativa de vida-de-prateleira de alimentos.....	45
2.7.4. METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (RSM).....	46
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>49</b>
<b>3.1. MATERIAL.....</b>	<b>49</b>
<b>3.2. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE SOJA REFINADO.....</b>	<b>49</b>
<b>3.3. CARACTERIZAÇÃO DAS EMBALAGENS .....</b>	<b>50</b>
3.3.1. PESO, GRAMATURA E CAPACIDADE VOLUMÉTRICA .....	50
3.3.2. CARACTERIZAÇÃO DIMENSIONAL .....	51
3.3.3. CARACTERÍSTICAS DE BARREIRA.....	51
<b>3.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>52</b>
<b>3.5. ACONDICIONAMENTO E ESTOCAGEM DO ÓLEO.....</b>	<b>55</b>
<b>3.6. ANÁLISES QUÍMICAS E FÍSICAS.....</b>	<b>56</b>
<b>3.7. ANÁLISE SENSORIAL.....</b>	<b>57</b>
3.7.1. DIFERENÇA DO CONTROLE.....	57

3.7.2. TESTE DE ACEITAÇÃO DE COR.....	59
<b>3.8. ANÁLISE DOS RESULTADOS DE AVALIAÇÃO DE ESTABILIDADE.....</b>	<b>60</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>62</b>
<b>4.1. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE SOJA.....</b>	<b>62</b>
<b>4.2. CARACTERIZAÇÃO DAS EMBALAGENS.....</b>	<b>63</b>
<b>4.3. MAXIMIZAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DE ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM GARRAFAS DE PVC.....</b>	<b>70</b>
4.3.1. RESPOSTAS EXPERIMENTAIS.....	70
4.3.2. AVALIAÇÃO DOS MODELOS.....	72
4.3.3. CORRELAÇÕES ENTRE AS RESPOSTAS.....	77
4.3.4. EFEITOS PRINCIPAIS E DE INTERAÇÕES.....	78
4.3.5. TESTE DE ACEITAÇÃO DE COR.....	80
4.3.6. CURVAS DE CONTORNO.....	80
4.3.7. DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE MÁXIMA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO ACONDICIONADO EM PVC.....	85
<b>4.4. MAXIMIZAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DE ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM GARRAFAS DE PET.....</b>	<b>86</b>
4.4.1. RESULTADOS EXPERIMENTAIS.....	86
4.4.2. AVALIAÇÃO DOS MODELOS.....	88
4.4.3. CORRELAÇÕES ENTRE AS RESPOSTAS.....	93
4.4.4. ESTIMATIVA DOS EFEITOS PRINCIPAIS E DE INTERAÇÕES.....	94
4.4.5. CURVAS DE CONTORNO.....	95
4.4.6. DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE MÁXIMA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM PET.....	101
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>103</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>105</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>119</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2.1.</b> Etapas básicas da autoxidação de lipídios.....	6
<b>Figura 2.2.</b> Estruturas dos ácidos graxos insaturados mais abundantes em óleo de soja. ..	8
<b>Figura 2.3.</b> Mecanismo de autoxidação do ácido oleico.....	9
<b>Figura 2.4.</b> Mecanismo de autoxidação do ácido linoleico.....	9
<b>Figura 2.5.</b> Estruturas 1,4 – pentadieno do ácido linolênico .....	10
<b>Figura 2.6.</b> Configurações eletrônicas dos últimos orbitais dos estados do O <sub>2</sub> .....	11
<b>Figura 2.7.</b> Geração de O <sub>2</sub> singlete por ação de sensibilizadores. ....	12
<b>Figura 2.8.</b> Reação “ene” do O <sub>2</sub> singlete. ....	13
<b>Figura 2.9.</b> Mecanismo básico da decomposição de hidroperóxidos.....	14
<b>Figura 2.10.</b> Estruturas dos principais antioxidantes primários.....	21
<b>Figura 2.11.</b> Mecanismos de rearranjo das moléculas dos absorvedores de UV.....	37
<b>Figura 2.12.</b> Estruturas químicas do Tinuvin 234 (a) e do Tinuvin P (b). ....	38
<b>Figura 2.13.</b> Processo de extrusão-sopro. (A) extrusão; (B) formação da pré-forma; (C) sopro; (D) retirada do molde.....	42
<b>Figura 2.14.</b> Estrutura química do PET. ....	43
<b>Figura 2.15.</b> Processo de injeção-sopro. (a) injeção da pré-forma; (b) desmoldagem da pré-forma; (c) substituição dos moldes; (d) sopro; (e) desmoldagem da garrafa. ....	44
<b>Figura 2.16.</b> Esquema de um delineamento composto central com k = 2 variáveis.....	47
<b>Figura 3.1.</b> Ficha utilizada para análise sensorial de Diferença do Controle.....	58
<b>Figura 3.2.</b> Ficha utilizada para o teste de aceitação de cor.....	60
<b>Figura 4.1.</b> Caracterização dimensional das garrafas utilizadas. (A) PVC; (B) PET.....	64
<b>Figura 4.2.</b> Espectro de transmissão de luz das garrafas de PVC com as diferentes concentrações de Tinuvin P. ....	67
<b>Figura 4.3.</b> Espectro de transmissão de luz das garrafas de PET com as diferentes concentrações de Tinuvin 234.....	67
<b>Figura 4.4.</b> Evolução das médias do índice de peróxido em função do tempo de estocagem do óleo de soja acondicionado em PVC.....	72
<b>Figura 4.5.</b> Comportamento do coeficiente de extinção específica médio a 232 nm em função do tempo de estocagem do óleo de soja em PVC.....	74

<b>Figura 4.6.</b> Efeito da concentração de $\beta$ -caroteno sobre a aceitação do óleo de soja, em escala estruturada de 1 a 9 .....	80
<b>Figura 4.7.</b> Curvas de contorno referentes aos índices de peróxido do óleo de soja após seis meses de estocagem em garrafas de PVC, a 1720 lux e 25°C. ....	81
<b>Figura 4.8.</b> Curvas de contorno referentes à Diferença do Controle do óleo de soja após seis meses de estocagem em garrafas de PVC, a 1720 lux e 25°C. ....	83
<b>Figura 4.9.</b> Evolução do índice de peróxido (média global) em função do tempo de estocagem do óleo de soja acondicionado em PET. ....	88
<b>Figura 4.10.</b> Variação das médias da extinção específica (232 nm) em função do tempo de estocagem do óleo de soja acondicionado em PET. ....	90
<b>Figura 4.11.</b> Curvas de contorno referentes aos índices de peróxido do óleo de soja após seis meses de estocagem em garrafas de PET, a 1720 lux e 25°C.....	97
<b>Figura 4.12.</b> Curvas de contorno referentes à Diferença do Controle do óleo de soja após seis meses de estocagem em garrafas de PET, a 1720 lux e 25°C.....	99

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 3.1.</b> Condições experimentais de cada ensaio (valores codificados) .....	54
<b>Tabela 3.2.</b> Níveis decodificados das variáveis, para o experimento com PVC. ....	55
<b>Tabela 3.3.</b> Níveis decodificados das variáveis, para o experimento com PET.....	55
<b>Tabela 4.1.</b> Caracterização do óleo de soja utilizado nos experimentos.....	62
<b>Tabela 4.2.</b> Composição de ácidos graxos do óleo de soja utilizado no trabalho.....	63
<b>Tabela 4.3.</b> Peso, gramatura e capacidade volumétrica das garrafas.....	63
<b>Tabela 4.4.</b> Taxas de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e ao O <sub>2</sub> (TPO <sub>2</sub> ) das garrafas .....	65
<b>Tabela 4.5.</b> Respostas experimentais para o grau de oxidação do óleo de soja acondicionado em PVC a 1720 lux, 25°C. ....	71
<b>Tabela 4.6.</b> Coeficientes de regressão dos modelos para índices de peróxido (IP) de óleo de soja acondicionado em PVC.....	73
<b>Tabela 4.7.</b> Coeficientes de regressão dos modelos para extinção específica a 232 nm (K), para o experimento com PVC. ....	75
<b>Tabela 4.8.</b> Coeficientes de regressão do modelo referente à diferença do controle, aos 6 meses de estocagem, do óleo de soja acondicionado em PVC.....	76
<b>Tabela 4.9.</b> Efeitos principais e de interações das variáveis sobre as respostas após seis meses de estocagem do óleo de soja acondicionado em PVC.....	79
<b>Tabela 4.10.</b> Respostas experimentais para o grau de oxidação do óleo de soja acondicionado em PET, a 1720 lux, 25°C.. ....	87
<b>Tabela 4.11.</b> Coeficientes de regressão dos modelos para o índice de peróxido (IP) do óleo de soja acondicionado em PET.....	89
<b>Tabela 4.12.</b> Coeficientes de regressão dos modelos referentes à extinção específica a 232 nm do óleo de soja acondicionado em PET.....	91
<b>Tabela 4.13.</b> Coeficientes de regressão do modelo referente à diferença do controle a 6 meses de estocagem do óleo de soja acondicionado em PET.....	92
<b>Tabela 4.14.</b> Efeitos principais e de interações das variáveis sobre as seguintes respostas do óleo de soja acondicionado em PET: IP <sub>6</sub> = índice de peróxido após 6 meses de estocagem; DC = diferença do controle após 6 meses de estocagem.....	95

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO 1.</b> Tabelas de ANOVA dos modelos referentes ao índice de peróxido do óleo de soja acondicionado em PVC. ....	119
<b>ANEXO 2.</b> Tabelas de ANOVA dos modelos de extinção específica a 232 nm do óleo de soja acondicionado em PVC. ....	121
<b>ANEXO 3.</b> Tabela de ANOVA do modelo referente à diferença do controle, após seis meses de estocagem do óleo de soja acondicionado em garrafas de PVC. ....	123
<b>ANEXO 4.</b> Correlações entre as respostas referentes ao experimento com PVC.....	124
<b>ANEXO 5.</b> Tabelas de ANOVA dos modelos referentes ao índice de peróxido do óleo de soja acondicionado em PET. ....	125
<b>ANEXO 6.</b> Tabelas de ANOVA dos modelos de extinção específica a 232 nm do óleo de soja acondicionado em PET.....	127
<b>ANEXO 7.</b> Tabela de ANOVA do modelo referente à diferença do controle, após seis meses de estocagem do óleo de soja acondicionado em PET .....	130
<b>ANEXO 8.</b> Correlações entre as respostas referentes ao experimento com PET .....	131

## RESUMO

Os óleos vegetais são altamente susceptíveis a degradação por oxidação, resultando no desenvolvimento de rancidez, que comumente leva à rejeição do produto. O uso de embalagens plásticas para óleos tende a aumentar as taxas de oxidação, já que permite a exposição do produto à luz, um dos principais catalisadores da reação. Este trabalho teve por objetivo maximizar a estabilidade oxidativa de óleo de soja acondicionado em garrafas plásticas. Foi dividido em dois experimentos, nos quais se acondicionou óleo de soja em garrafas de policloreto de vinila (PVC) e polietileno tereftalato (PET). Para cada experimento, realizou-se um delineamento composto central, baseado na Metodologia de Superfície de Resposta, em que foram combinados três diferentes antioxidantes (TBHQ,  $\beta$ -caroteno e ácido cítrico) e um absorvedor de radiação ultravioleta (UV) adicionado à embalagem (Tinuvin P para PVC e Tinuvin 234 para PET). As amostras foram expostas à luminosidade de 1720 lux, em ambiente com temperatura controlada a 25°C, durante um período de estocagem de seis meses. A resposta medida foi o grau de oxidação, avaliado com base em análises objetivas (índice de peróxido e extinção específica a 232 nm) e sensoriais (diferença do controle). Os testes objetivos foram realizados mensalmente, enquanto a medida sensorial foi avaliada apenas ao final do período de estocagem. O índice de peróxido apresentou boa correlação com a resposta sensorial, ao contrário da extinção específica a 232 nm. O TBHQ foi a variável de maior efeito sobre as taxas de oxidação, seguido pelo absorvedor de UV. As condições de máxima estabilidade do óleo de soja acondicionado em garrafas de PVC, sob as condições estudadas, foram: 150-200 ppm de TBHQ; 8,5-11,0 ppm de  $\beta$ -caroteno; 20-40 ppm de ácido cítrico; 0,25-0,43% de Tinuvin P. As condições que proporcionaram máxima estabilidade do óleo acondicionado em garrafas de PET foram: 150-200 ppm de TBHQ; 8,50-9,75 ppm de  $\beta$ -caroteno; 30-45 ppm de ácido cítrico; 0,1-0,2% de Tinuvin 234.

**Palavras-chave:** óleo de soja; oxidação; estabilidade; antioxidantes.

## SUMMARY

Edible oils are highly susceptible to oxidative degradation, resulting in rancidity, which may lead the product to be rejected. The use of plastic bottles for oils increases oxidation rates, since the bottles allow light exposition of the product, speeding up the reaction. The goal of this work was to maximize oxidative stability of soy oil packaged in plastic bottles. It was divided into two experiments, depending on the plastic material of the bottles: polyvinylchloride (PVC) or polyethylene tereftalate (PET). For both the experiments, central composite designs were carried out, based on Response Surface Methodology, in which the following variables were combined: three antioxidants (TBHQ,  $\beta$ -carotene and citric acid) and an UV absorber added to the package (Tinuvin P, for PVC, and Tinuvin 234, for PET). The samples were exposed to an illuminance of 1720 lux, in a 25°C controlled-temperature room, during six-month storage time. The response measured was the oxidation degree, based on objective (peroxide value and specific extinction at 232 nm) and sensory analyses. The objective tests were performed monthly, while sensory analysis was carried out only at the end of storage time. The sensory analysis presented good correlation with peroxide value, but not with specific extinction at 232 nm. TBHQ concentration was the variable that affected most the oxidation rates, followed by the UV absorber concentration. Maximum stability of the oil packaged in PVC bottles was achieved under the following conditions: 150-200 ppm TBHQ; 8,5-11,0 ppm  $\beta$ -carotene; 20-40 ppm citric acid; 0,25-0,43% Tinuvin P. The conditions under which the oxidative stability of the oil packaged in PET bottles was maximized were the following: 150-200 ppm TBHQ; 8,50-9,75 ppm  $\beta$ -carotene; 30-45 ppm citric acid; 0,1-0,2% Tinuvin 234.

**Key-words:** soy oil; oxidation; shelf-life; antioxidants.

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A importância dos óleos e gorduras na alimentação humana é bem conhecido. Eles representam uma fonte concentrada de energia, fornecendo cerca de 9 kcal/g, aproximadamente o dobro da fornecida por proteínas ou carboidratos. Além disso, são fontes de ácidos graxos essenciais, atuam como veículos de vitaminas lipossolúveis, carotenóides e esteróis, e desempenham um papel importante na qualidade sensorial dos alimentos (LILLARD, 1983; SALUNKHE *et al.*, 1992).

O Brasil é responsável por cerca de 20% da produção mundial de soja, sendo o segundo maior exportador de grãos, farelo e óleo de soja. O complexo soja é o principal item do Balanço Comercial Brasileiro, com exportações de US\$ 3,8 bilhões em 1999, dos quais US\$ 671 milhões corresponderam às exportações de óleo. Estima-se que a produção de soja cresça 39% até o ano 2005. A produção de óleo de soja no período de fevereiro de 1999 a janeiro de 2000 foi de 4,14 milhões de toneladas, sendo que 1,47 milhões foram exportadas. O consumo aparente do óleo de soja no Brasil foi de 2,82 milhões de toneladas em 1999, cerca de 31% a mais que em 1992 (ABIOVE, 2000).

A oxidação é a alteração mais importante em óleos (LABUZA, 1982), sendo uma das principais causas de deterioração de alimentos (WONG, 1989). É uma série complexa de reações, em que há participação de oxigênio e radiações luminosas, entre outros fatores. Afeta profundamente a qualidade de óleos, levando ao surgimento de uma alteração sensorial conhecida como rancidez oxidativa, que freqüentemente resulta em rejeição do produto.

A susceptibilidade à oxidação varia em função do grau de insaturação do substrato que, por sua vez, varia em função do tipo de óleo. O óleo de soja é um dos óleos comestíveis mais susceptíveis a oxidação, o que se explica

principalmente pela sua composição química, contendo alto teor de ácidos graxos insaturados (QUINTEIRO & VIANNI, 1995).

No Brasil, o mercado de embalagens para óleos comestíveis foi totalmente dominado pelas latas durante muito tempo, enquanto já surgiam inovações nos países desenvolvidos, relacionadas a novos materiais e equipamentos. Importantes tendências começaram a ser observadas, como a substituição das folhas-de-flandres pelas folhas cromadas e pelas não-revestidas, e posteriormente a redução da espessura das folhas; tais mudanças geraram redução de custos, sem prejuízo à qualidade do produto (EVOLUÇÃO..., 1998).

Entretanto, apesar de mais de 80% do mercado de embalagens para óleos ainda ser dominado pelas latas (COMPLEXO AGRÍCOLA..., 1999), as garrafas plásticas, especialmente PET e PVC, têm conquistado seu espaço no setor. O PET em especial constitui uma ameaça às latas, pois chegou a responder por 10% do mercado de embalagens para óleos em 1998 e deve ampliar sua participação neste mercado para 20% ou mesmo 30% até 2005, segundo o diretor do Instituto Datamark, Graham Wallis (EMBALAGENS..., 2000). Uma das principais razões para isso está associada à transparência das embalagens plásticas, que permite ao consumidor uma apreciação visual do produto. Vale ressaltar que a compra por impulso, em que o consumidor recebe um estímulo de intensidade suficiente para ser induzido a comprar o produto no momento em que o visualiza, responde por 70% do movimento de supermercados em geral (O USO..., 1994). Para que isso ocorra, é necessário que a embalagem seja suficientemente atrativa para chamar a atenção do consumidor, sendo a transparência um dos fatores mais importantes nesse aspecto.

Por outro lado, a mesma transparência tem como consequência maior exposição do produto à luz. Com isso, torna-se mais preocupante a estabilidade oxidativa do óleo acondicionado em tal tipo de embalagem.

A importância da realização de estudos relativos à estabilidade oxidativa de óleos reside na complexidade das reações oxidativas, além do fato de que muitos dos produtos da oxidação, especialmente os de baixo peso molecular, têm valores muito baixos de limiar (*threshold*) de percepção, o que significa que eles podem ter seu odor percebido pelo consumidor a níveis muito baixos. Daí a importância da cinética da fase de indução da reação, já que a oxidação de uma pequena fração do óleo pode levar à formação de odores indesejáveis (LABUZA, 1971).

Existem diferentes alternativas para reduzir as taxas de oxidação de óleos acondicionados em embalagens plásticas. Entretanto, apesar da oxidação de óleos ser um assunto importante e bastante explorado, e embora a estabilidade oxidativa seja bastante comprometida pelo uso crescente de embalagens plásticas, não existe na literatura um trabalho de pesquisa que combine várias alternativas para maximizar a estabilidade de óleos.

O objetivo deste trabalho foi combinar diferentes alternativas – a saber, o uso de TBHQ, um antioxidante primário; o  $\beta$ -caroteno e o ácido cítrico, antioxidantes secundários com diferentes mecanismos de ação; e absorvedores de UV adicionados às garrafas – com o objetivo de estudar os efeitos dessas variáveis sobre a estabilidade de óleo de soja, assim como maximizar a estabilidade do produto durante um período de estocagem de seis meses à temperatura de 25°C, sob exposição à luz emitida por lâmpadas fluorescentes, numa tentativa de simular as condições de exposição a que o produto estaria sujeito nas prateleiras de supermercados.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. ÓLEOS VEGETAIS

Os constituintes principais dos óleos vegetais são os triacilgliceróis ou triglicerídios, que são triésteres de ácidos graxos com glicerol, respondendo por mais de 98% de sua composição (GUNSTONE, 1997).

A soja (*Glycine max* L.) é uma importante oleaginosa, produzida há 4-5 milênios. O teor de lipídios no grão de soja varia de 18 a 22%. Uma das principais aplicações da soja é a produção de óleos comestíveis (GUNSTONE, 1997). O Brasil é o segundo produtor mundial de soja, tendo respondido pela produção de 31 milhões de toneladas da oleaginosa na safra de 1999. Foram exportados 21 milhões de toneladas em grãos, farelo e óleo (GENTE & NEGÓCIOS, 2000).

Apesar do aumento do consumo de outros óleos, o óleo de soja ainda lidera o mercado, respondendo por 29% da produção mundial de óleos vegetais (GIRASSOL..., 2000).

Devido ao alto teor de ácidos graxos insaturados em sua composição química, o óleo de soja é um dos mais susceptíveis às reações de oxidação (QUINTEIRO & VIANNI, 1995). A oxidação é a causa mais importante de deterioração em óleos, tendo como principal consequência o desenvolvimento de rancidez, uma alteração sensorial que leva geralmente à rejeição do produto.

Todos os óleos são susceptíveis a deterioração por rancidez (LABUZA, 1982), que, segundo HAMILTON (1983), pode ser definida como um termo sensorial subjetivo referente a *off-flavors* provenientes de alterações resultantes de reação oxidativa (rancidez oxidativa) ou reações hidrolíticas catalisadas por lipases (rancidez hidrolítica). LABUZA (1971) define rancidez como desenvolvimento de

*off-flavors* que tornam o produto inaceitável ao mercado consumidor. Entretanto, há exceções, em que um grau limitado de rancidez é desejável, como no caso da produção de alguns queijos (NAWAR, 1985).

A rancidez hidrolítica resulta da hidrólise da molécula de triglicerídeo, com formação de glicerol e ácidos graxos livres, promovida por umidade e catalisada por lipases (LABUZA, 1982); os ácidos graxos de cadeia curta respondem pelo desenvolvimento de rancidez, já que têm limiares de percepção sensorial relativamente baixos, em comparação aos de cadeia mais longa.

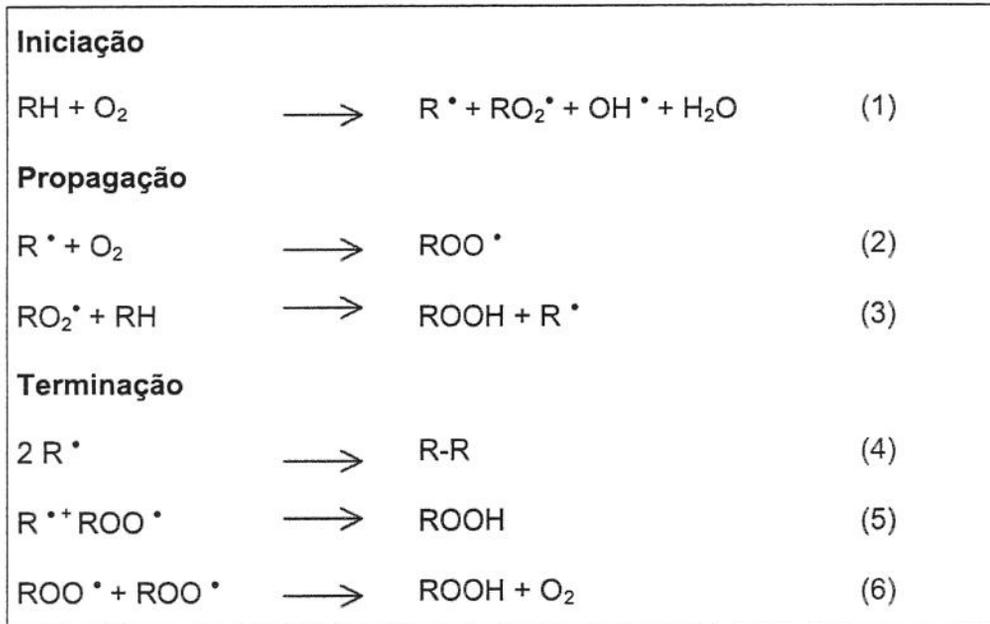
As reações oxidativas envolvem o ataque de O<sub>2</sub> à porção insaturada dos ácidos graxos, e são aceleradas por calor, luz e traços de certos íons metálicos (particularmente ferro e cobre). Alterações oxidativas geralmente respondem pelo desenvolvimento de sabores pungentes ou acres. A susceptibilidade de um alimento à rancidez oxidativa depende do tipo de óleo, particularmente do grau de insaturação dos ácidos graxos - quanto maior o grau de insaturação, maior a susceptibilidade à oxidação. O controle da oxidação requer a proteção do óleo contra os fatores mencionados, ou a adição de antioxidantes (LABUZA, 1982).

Os óleos com altos teores de ácido linolênico, como o de soja, apresentam uma forma particular de degradação oxidativa, conhecida como "reversão" (SHERWIN, 1976). A reversão se caracteriza por sabor verde ou de grama, que muda posteriormente para sabor de melão, de peixe ou de tinta. Embora se acredite que os compostos responsáveis por esses sabores sejam produtos de oxidação do óleo, muitas vezes eles são observados quando o nível de oxidação é ainda difícil de detectar por métodos objetivos (SMOUSE, 1995).

Os dois mecanismos mais importantes de oxidação de lipídios são a autooxidação, ou rota clássica, e a fotoxidação.

## 2.2. AUTOXIDAÇÃO

A autoxidação envolve um mecanismo autocatalítico de radicais livres em cadeia (MISTRY & MIN, 1992), através de três etapas básicas, a saber, iniciação (ou indução), propagação e terminação, esquematizadas na Figura 2.1.



**Figura 2.1.** Etapas básicas da autoxidação de lipídios, sendo:  $R^\bullet$  = radical do ácido graxo;  $ROOH$  = hidroperóxido;  $ROO^\bullet$  = radical peróxido.

(Fonte: HAMILTON *et al.*, 1997)

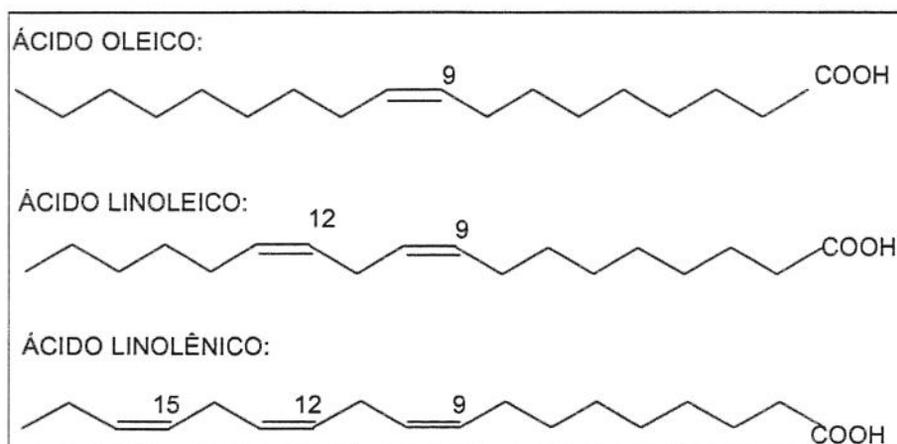
### 2.2.1. INICIAÇÃO

A iniciação, ou indução, consiste na formação dos primeiros radicais livres, que são compostos muito instáveis e reativos, contendo um elétron desemparelhado. Ocorre em presença de iniciadores, como calor, pró-oxidantes (geralmente metais), lipoxigenases e luz (FRANKEL, 1985; MISTRY & MIN, 1992).

### 2.2.2. PROPAGAÇÃO

Na etapa de propagação, ocorrem reações entre radicais livres e  $O_2$ , com formação de radicais peróxido, que removem átomos de hidrogênio de grupamentos alílicos de outras moléculas, produzindo hidroperóxidos (ROOH) e novos radicais  $R^*$ , que por sua vez reagem com  $O_2$ , e assim estabelece-se uma seqüência de reações em cadeia (NAWAR, 1985). A reação (3) é a mais lenta, portanto determinante da taxa de reação. Nesta, ocorre remoção de um dos átomos de hidrogênio mais fracamente ligados à molécula, que são os átomos de hidrogênio ligados a um carbono alílico (vizinho a uma dupla ligação). Isso explica o aumento das taxas de oxidação decorrentes do aumento do grau de insaturação do substrato (MISTRY & MIN, 1992).

Os ácidos graxos insaturados mais abundantes são: o oleico, o linoleico e o linolênico, cujas estruturas são apresentadas na Figura 2.2. O ácido linoleico é 10 a 40 vezes mais reativo que o oleico, devido à alta reatividade do carbono 11, duplamente alílico. Enquanto a força de ligação do grupo metileno alílico do ácido oleico é de 77 kcal/mol, a força de ligação do metileno duplamente alílico do ácido linoleico é de 52 kcal/mol. Já o ácido linolênico tem dois grupos metileno duplamente alílicos, mas não ativados um pelo outro; a taxa de reação é cerca de 2 vezes a do ácido linoleico (FRANKEL, 1985). A tendência ao esgotamento de hidroperóxidos também depende do número de duplas; os hidroperóxidos formados a partir do ácido linolênico são muito mais instáveis (susceptíveis a decomposição) do que os formados a partir dos ácidos oleico e linoleico (FRANKEL, 1985).



**Figura 2.2.** Estruturas dos ácidos graxos insaturados mais abundantes em óleo de soja.

É interessante que se esquematize a formação de hidroperóxidos dos principais ácidos graxos. No caso do ácido oleico (Figura 2.3), são retirados hidrogênios dos carbonos 8 e 11, com formação de dois radicais intermediários. O ataque de  $O_2$  aos diferentes radicais produz uma mistura isomérica de 8-, 9-, 10- e 11-hidroperóxidos. Os hidroperóxidos 8 e 11 são formados em quantidades ligeiramente maiores que os demais, indicando maior reatividade dos carbonos alílicos ao  $O_2$  (NAWAR, 1985).

As etapas principais da oxidação do ácido linoleico estão esquematizadas na Figura 2.4. A estrutura 1,4-pentadieno do ácido linoleico torna-o bem mais susceptível à oxidação do que o sistema propeno do ácido oleico. O carbono 11, duplamente alílico, é duplamente ativado pelas duas ligações duplas adjacentes. A retirada de hidrogênio nesta posição produz um radical pentadienil que, reagindo com  $O_2$ , produz uma mistura de 9- e 13- hidroperóxidos conjugados, em iguais proporções (NAWAR, 1985).

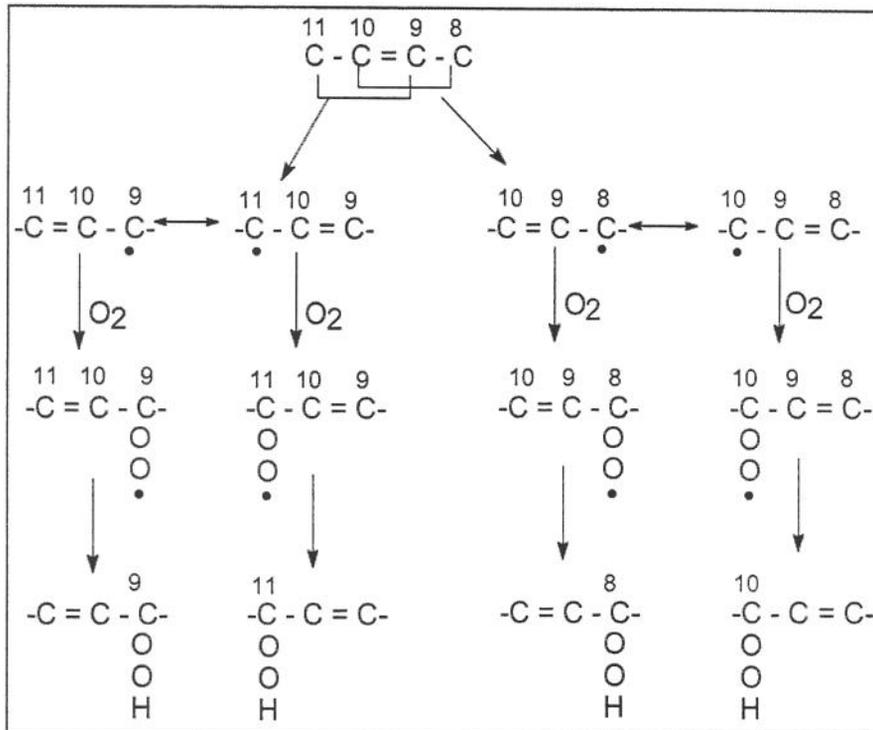


Figura 2.3. Mecanismo de autoxidação do ácido oleico (NAWAR, 1985).

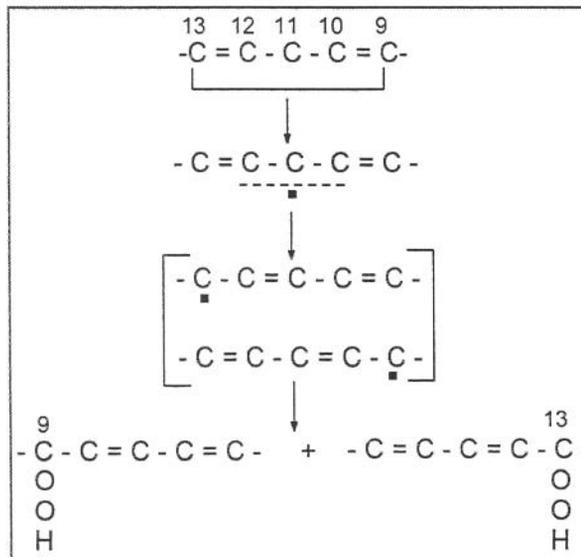
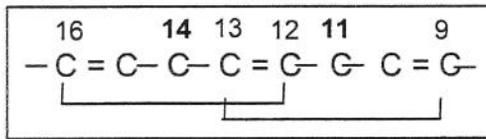


Figura 2.4. Mecanismo de autoxidação do ácido linoleico (NAWAR, 1985).

O ácido linolênico tem duas estruturas 1,4-pentadieno (Figura 2.5). A retirada de hidrogênio dos dois carbonos duplamente alílicos (11 e 14) produz dois radicais pentadienil. O ataque de O<sub>2</sub> aos diferentes radicais resulta na produção de uma mistura dos hidroperóxidos 9, 12, 13 e 16, sendo que o 9- e o 16- são formados em maiores quantidades, o que pode ser atribuído à reação preferencial do O<sub>2</sub> com os carbonos 9 e 16 ou à decomposição mais rápida dos hidroperóxidos 12 e 13 (NAWAR, 1985).



**Figura 2.5.** Estruturas 1,4 – pentadieno do ácido linolênico  
(Fonte: NAWAR, 1985).

### 2.2.3. TERMINAÇÃO

A terminação consiste em interações entre radicais livres, formando compostos estáveis não radicais, interrompendo assim a cadeia de reações. Nesta etapa, há grande liberação de produtos secundários - produtos voláteis responsáveis pela rancidez (FRANKEL, 1985).

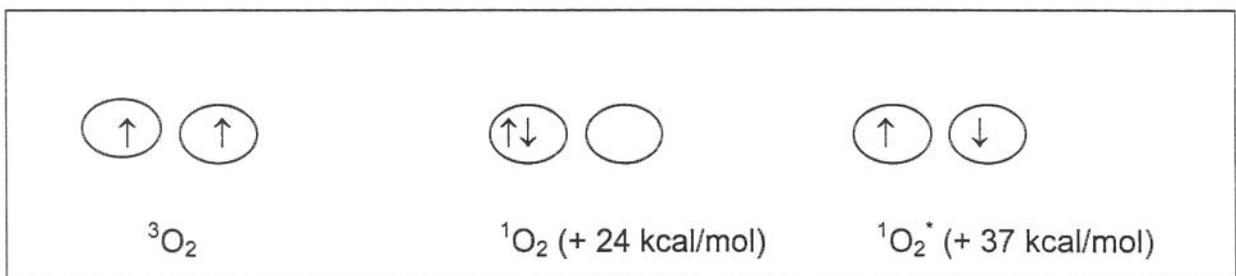
ÖZILGEN & ÖZILGEN (1990) dividiram a oxidação de lipídios em três fases. Na primeira, as reações de iniciação e propagação predominam, sendo a ocorrência de terminação pouco provável, já que a concentração de radicais livres é baixa. Na segunda fase, devido ao aumento da concentração de radicais livres, a probabilidade da ocorrência de reações de terminação torna-se importante. Na fase final do processo, a probabilidade de ocorrência de reações de iniciação e propagação torna-se baixa, devido à exaustão de substratos.

## 2.3. FOTOXIDAÇÃO

A fotoxidação é um mecanismo que envolve a adição direta de oxigênio, em seu estado singlete, altamente reativo, à molécula lipídica. Não envolve a participação de radicais livres.

### 2.3.1. OXIGÊNIO SINGLETE

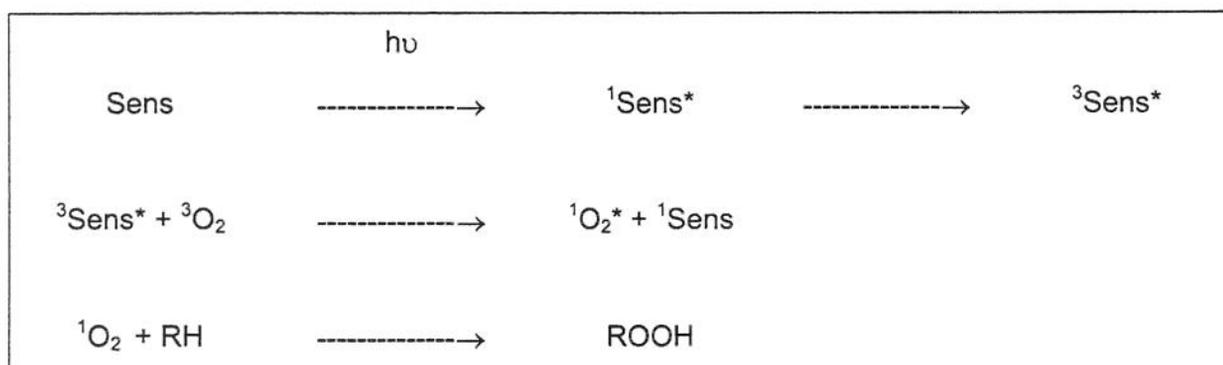
O átomo de oxigênio tem a seguinte configuração eletrônica:  $1s^2 2s^2 2p_x^2 2p_y^1 2p_z^1$ . A molécula de  $O_2$  tem oito elétrons  $2p$ , dois dos quais desemparelhados com *spins* paralelos. O estado em que existem dois elétrons desemparelhados é o triplete, assim denominado por ter uma multiplicidade de 3. A multiplicidade é definida por:  $S = 2s + 1$ , sendo  $s$  o spin total, considerando-se que um elétron tem um valor absoluto de spin =  $1/2$  (WONG, 1989; BRADLEY & MIN, 1992). Assim, o estado fundamental do  $O_2$  é triplete (representado por  $^3O_2$ ). Os dois estados excitados do  $O_2$  são singletes ( $^1O_2$ ), com energias de 24 e 37 kcal/mol acima do estado fundamental (WONG, 1989). As configurações eletrônicas dos últimos orbitais moleculares dos estados do  $O_2$  estão exibidos na Figura 2.6.



**Figura 2.6.** Configurações eletrônicas dos últimos orbitais dos estados do  $O_2$  (Fonte: WONG, 1989).

O mecanismo mais importante de geração de  $^1O_2$  (Figura 2.7) ocorre pela transferência de energia luminosa por fotossensibilizadores (*sensitizers*), que são substâncias cromóforas, como clorofila e compostos heme, que absorvem luz na região do visível ou UV próximo, transferindo energia para o  $^3O_2$ , convertendo-o a

$^1\text{O}_2$ , 1500 vezes mais reativo (HAMILTON, 1983; NAWAR, 1985; WONG, 1989). Um sensibilizador absorve energia e passa do estado singlete fundamental para o singlete excitado; através de interações entre sistemas, forma-se o estado triplete, que transfere energia para o  $^3\text{O}_2$ , que passa ao estado singlete (WONG, 1989).



**Figura 2.7.** Geração de  $\text{O}_2$  singlete por ação de sensibilizadores.

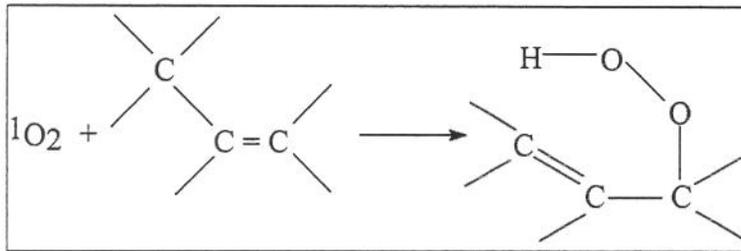
Sens = sensibilizador;  $^1\text{Sens}^*$  = sensibilizador excitado singlete;  $^3\text{Sens}^*$  = sensibilizador excitado triplete;  $^3\text{O}_2$  =  $\text{O}_2$  triplete;  $^1\text{O}_2$  =  $\text{O}_2$  singlete; RH = lipídio insaturado; ROOH = hidroperóxido.

(Fonte: FRANKEL, 1985).

### 2.3.2. O MECANISMO DA FOTOXIDAÇÃO

O estado  $^1\text{O}_2^*$  é altamente instável, convertendo-se rapidamente a  $^1\text{O}_2$ ; este, por ter um orbital desocupado, é muito eletrofílico, reagindo rapidamente (cerca de 1500 vezes mais rápido que o  $^3\text{O}_2$ ) com regiões de alta densidade eletrônica, como ligações C=C (WONG, 1989). De fato, o  $^1\text{O}_2$  é sabidamente capaz de se adicionar diretamente aos lipídios para formar hidroperóxidos (CHAN, 1987).

Na presença de um fotossensibilizador adequado, o processo de oxidação ocorre a partir de uma “reação ene” (Figura 2.8), que consiste em adição direta de  $^1\text{O}_2$  a um carbono participante de dupla ligação, com alteração na posição da dupla e produção de um hidroperóxido na configuração *trans* (WONG, 1989).



**Figura 2.8.** Reação “ene” do  $O_2$  singlete.

(Fonte: CARLSSON *et al.*, 1976)

A fotoxidação pode ser minimizada pela presença de inativadores (*quencher*s) de  $^1O_2$  (como  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol), que dissipam o excesso de energia do  $^1O_2$ , convertendo-o novamente a  $^3O_2$  (CARLSSON *et al.*, 1976).

A fotoxidação distingue-se da autoxidação por: (1) não envolver radicais livres; (2) não mostrar um período de indução mensurável; (3) ser inibida por inativadores de  $^1O_2$ , mas não ser afetada por antioxidantes primários; (4) gerar hidroperóxidos conjugados e não conjugados, enquanto a autoxidação produz apenas hidroperóxidos conjugados (WONG, 1989; MISTRY e MIN, 1992).

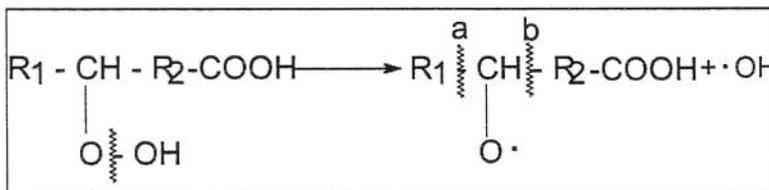
Quanto aos efeitos da luz sobre a oxidação de lipídios, é importante enfatizar a diferença entre autoxidação fotolítica e oxidação fotossensibilizada (fotoxidação). Na primeira, há produção de radicais livres a partir de lipídios, durante exposição à luz; a interação direta entre a luz e os lipídios é mínima. Já a fotoxidação ocorre em presença de fotossensibilizadores e luz, com absorção de energia luminosa pelos fotossensibilizadores (BRADLEY & MIN, 1992).

Em óleos acondicionados em embalagem transparente e expostos à luz, a fotoxidação é o mecanismo predominante de deterioração (FARIA, 1991).

## 2.4. DECOMPOSIÇÃO DE HIDROPERÓXIDOS

Os hidroperóxidos, produtos primários da oxidação, não conferem sabor e odor; porém, são muito instáveis, decompondo-se a partir do momento de sua formação; os produtos de sua decomposição (produtos secundários) são os responsáveis pela rancidez (HAMILTON, 1983; ROSSELL, 1983; NAWAR, 1985). Muitos desses produtos, especialmente os de cadeia curta, têm limiares de percepção muito baixos, tornando o produto inaceitável mesmo em baixíssimas concentrações. Por exemplo, o hexanal é perceptível em óleos a um nível de apenas 150 ppb (LABUZA, 1971).

A decomposição de hidroperóxidos por quebra de ligações C-C, com formação de voláteis, constitui a base molecular da rancidez oxidativa (CHAN *et al.*, 1982). O processo básico de decomposição de hidroperóxidos (Figura 2.9) foi descrito por NAWAR (1985). A primeira etapa é uma cisão da ligação O-O, originando um radical alcóxi e um hidroxila. A segunda etapa envolve a quebra de ligações C-C, em cada lado do grupo alcóxi. Geralmente, uma quebra no ponto indicado na Figura 2.9 pela letra *a* produz um aldeído e um ácido (ou éster). Uma quebra no ponto *b* resulta na formação de um radical alquil, que pode se combinar a um radical hidroxila para formar um álcool, perder um hidrogênio para formar um alceno, ou se oxidar para produzir um hidroperóxido (NAWAR, 1985).



**Figura 2.9.** Mecanismo básico da decomposição de hidroperóxidos (Fonte: NAWAR, 1985).

Os aldeídos constituem a classe predominante de compostos típicos da oxidação de lipídios. Aldeídos saturados se oxidam facilmente, produzindo os ácidos correspondentes, ou podem participar de reações de dimerização e condensação, formando muitas vezes compostos também voláteis. Aldeídos insaturados podem ser oxidados por ataque de O<sub>2</sub> ao grupo α-metileno, produzindo compostos de cadeia curta, como hidrocarbonetos (NAWAR, 1985).

## 2.5. FATORES QUE AFETAM A ESTABILIDADE DE LIPÍDIOS

Vários fatores afetam a estabilidade oxidativa de lipídios, a saber: características do substrato, metais, níveis de O<sub>2</sub>, radiações luminosas, temperatura, presença de antioxidantes, processamento, umidade.

### 2.5.1. CARACTERÍSTICAS DO SUBSTRATO

O grau de insaturação é o fator mais importante relativo ao ácido graxo. As taxas relativas de oxidação dos ácidos oleico, linoleico e linolênico (com 1, 2 e 3 insaturações, respectivamente) são da ordem de 1: 10: 20-30 (LABUZA, 1971).

Quanto à posição relativa de duplas ligações, as duplas conjugadas são mais reativas que as não conjugadas; quanto à geometria, os isômeros *cis* são mais susceptíveis a oxidação que os *trans* correspondentes (NAWAR, 1985).

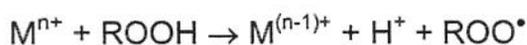
Os ácidos graxos livres têm maior taxa de oxidação que os esterificados. A presença de altos teores de ácidos graxos livres pode aumentar a incorporação de metais provenientes do equipamento, acelerando a oxidação (NAWAR, 1985).

## 2.5.2. METAIS

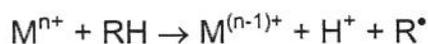
Traços de metais estão presentes na maioria dos óleos, provenientes, por exemplo, do solo, de equipamentos e de decomposição de certas enzimas (POKORNÝ, 1987; NAWAR, 1985). Durante o refino, há considerável remoção de metais, principalmente durante as etapas de degomagem e neutralização. No entanto, pode haver contaminação por metais provenientes de corrosão do equipamento usado na desodorização (se este não for constituído de aço inoxidável de boa qualidade) e durante a estocagem do óleo em tanques metálicos. Óleos hidrogenados são geralmente contaminados por traços de níquel, catalisador da hidrogenação. Enfim, mesmo os óleos cuidadosamente purificados contêm traços de metais, na faixa de 0,02 a 0,2 ppm (POKORNÝ, 1987).

Os metais de transição com dois ou mais números de oxidação reduzem o período de indução, podendo ter ação pró-oxidante mesmo a concentrações da ordem de 0,1 ppm (POKORNÝ, 1987; MISTRY e MIN, 1992). O efeito primário dos metais é o de aumentar a taxa de geração de radicais livres (POKORNÝ, 1987). Os metais são mais efetivos quando em seu maior número de oxidação; a partir daí, a transferência de elétrons ocorre mais facilmente (LOVE, 1985). Segundo NAWAR (1985), os mecanismos sugeridos para catálise por metais incluem:

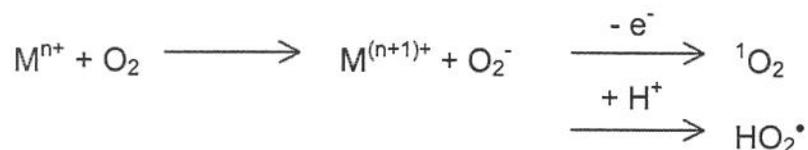
a) Aceleração da decomposição de hidroperóxidos



b) Reação direta com o substrato não oxidado



c) Ativação de O<sub>2</sub> para produzir O<sub>2</sub> singlete e radicais peroxil



Os metais podem ainda promover oxidação de produtos secundários da reação, como, por exemplo, oxidação de álcoois primários a aldeídos, de álcoois secundários a cetonas, de aldeídos a ácidos. Podem também oxidar antioxidantes fenólicos a quinonas, inativando-os (POKORNÝ, 1987).

O efeito pró-oxidante de metais depende de algumas características do substrato: grau de ramificação da cadeia, presença e posição de duplas ligações e efeito dos vários grupos funcionais polares ou quelantes (POKORNÝ, 1987).

Vários compostos, como o ácido cítrico e o ácido etilenodiamina tetracético (EDTA), atuam como quelantes de metais, retardando a autooxidação (LOVE, 1985).

### 2.5.3. NÍVEIS DE O<sub>2</sub>

Segundo LEO (1983), o O<sub>2</sub> presente no óleo pode ter diferentes origens: O<sub>2</sub> dissolvido no óleo, disponível no espaço livre ou difundido através da embalagem. O teor de O<sub>2</sub> dentro da embalagem afeta a velocidade de oxidação. Se o óleo estiver acondicionado em uma embalagem hermeticamente fechada, de um material impermeável ao O<sub>2</sub>, seu teor residual (ou seja, o O<sub>2</sub> do espaço livre mais o dissolvido) será o fator limitante da reação; ou seja, a quantidade de O<sub>2</sub> disponível para reagir é finita e, independentemente da taxa de oxidação, a reação não continuará após a completa exaustão do O<sub>2</sub> (KAREL, 1974). Entretanto, deve-se destacar que mesmo um nível de 1 a 2% de oxidação da fração lipídica já é suficiente para promover rancidez (SATTAR & de MAN, 1975).

Dois fatores relativos ao O<sub>2</sub> afetam a taxa de oxidação: sua disponibilidade e sua difusão no produto. Se sua disponibilidade for baixa, a difusão se torna um fator controlador, e a reação será de primeira ordem; por outro lado, se a concentração de O<sub>2</sub> for alta, a reação será de ordem zero (FARIA, 1991, 1994).

A concentração de O<sub>2</sub> necessária para alterar as características dos óleos é relativamente baixa (menos de 100 ppm), o que indica a importância da busca de técnicas que retardem a autooxidação em sua fase indutiva (LABUZA, 1971).

#### 2.5.4. RADIAÇÕES LUMINOSAS

A luz tem propriedades de partículas e de ondas. A relação entre energia cinética (propriedade de partículas) e frequência (propriedade de ondas) indica que a energia varia inversamente com o comprimento de onda. Assim, quanto menor o comprimento de onda, maior a energia luminosa, e maior o seu efeito sobre as reações químicas (SATTAR & deMAN, 1975). A relação entre energia luminosa e comprimento de onda apresenta-se na Equação 2.1 (SIGNORE, 1968).

$$\varepsilon = hc / \lambda = h\nu \quad (2.1)$$

$\varepsilon$  = energia radiante;  $h$  = constante de Planck ( $6,63 \times 10^{-27}$  erg x s);  $c$  = velocidade da luz no vácuo ( $3 \times 10^8$  m/s);  $\lambda$  = comprimento de onda da radiação (m);  $\nu$  = frequência da radiação ( $s^{-1}$ ).

A radiação UV, situando-se em uma faixa de comprimento de onda (cerca de 200 a 380 nm) menor que a visível (380 a 750 nm), tem portanto maior energia, e maior efeito sobre as reações de oxidação (FARIA, 1991). SATTAR *et al.* (1976a) observaram aumento das taxas de oxidação de óleos com a redução do comprimento de onda a que foram expostos. ESPINOZA-ATENCIA (1995) relacionou o aumento da oxidação com a redução dos comprimentos de onda, obtendo uma regressão linear com alto coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,94$ ).

A sensibilidade de um alimento à luz depende de fatores como tempo de exposição, intensidade de luz (relacionada à distância e ângulo entre o alimento e a fonte luminosa), comprimento de onda, composição química do alimento, espectro de transmissão da embalagem, níveis de fotossensibilizadores (GRAVANI, 1986).

A faixa de comprimento de onda de máxima absorção por uma embalagem é função de sua estrutura química (GRAVANI, 1986). Por outro lado, a transmitância em cada comprimento de onda é função da espessura do material, segundo a Equação 2.2, ou Equação de Lambert (SIGNORE, 1968). Assim, para um mesmo material, a transmissão se reduz logaritmicamente com o aumento da espessura.

$$\log \frac{I}{I_0} = -ke \quad (2.2)$$

Sendo:  $I/I_0$  = percentagem de transmitância (energia emergente / energia incidente),  $k$  = constante referente ao material,  $e$  = espessura.

### 2.5.5. TEMPERATURA

Um aumento de 10°C na temperatura duplica a velocidade de oxidação, ou seja, o  $Q_{10}$  da oxidação é aproximadamente 2 (BUCK, 1991). Além disso, a temperatura influencia o efeito da pressão parcial de  $O_2$  sobre a taxa de oxidação - à medida em que a temperatura aumenta, o aumento na taxa de oxidação decorrente do aumento da concentração de  $O_2$  torna-se menos importante, já que o  $O_2$  se torna menos solúvel (NAWAR, 1985).

## 2.5.6. ANTIOXIDANTES

Antioxidantes são compostos que reduzem a taxa de reação de materiais autoxidáveis (NAWAR, 1985). Entretanto, não impedem a reação, o que só seria possível por exclusão total de O<sub>2</sub> e outros oxidantes do sistema (POKORNÝ, 1987).

Os antioxidantes dividem-se em primários e secundários.

### 2.5.6.1. Antioxidantes primários

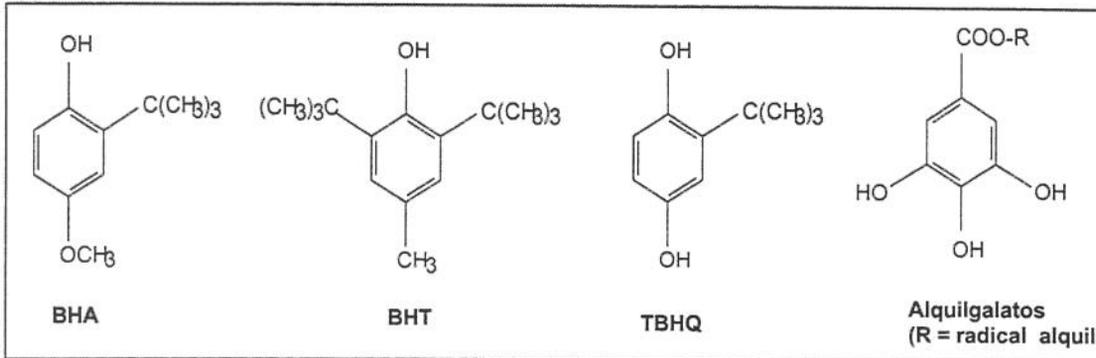
Segundo POKORNÝ (1987), o mecanismo de ação desses compostos baseia-se em competição com o substrato:



Sendo: RO<sup>•</sup>, ROO<sup>•</sup> = radicais livres; AH = antioxidante; A<sup>•</sup> = radical livre de antioxidante.

A eficiência de um antioxidante aumenta com a redução da força de ligação A-H. Por outro lado, o radical livre do antioxidante (A<sup>•</sup>) não deve iniciar novos radicais; nesse sentido, os antioxidantes fenólicos têm uma situação favorável, por serem excelentes doadores de elétrons ou prótons e pela relativa estabilidade de seus radicais, devido à ressonância e à falta de posições adequadas ao ataque de O<sub>2</sub> (NAWAR, 1985). Os radicais livres de antioxidantes geralmente são inativados por combinação entre si ou com outros radicais (POKORNÝ, 1987).

Entre os antioxidantes primários, os mais utilizados são: butil-hidroxitolueno (BHT), butil-hidroxianisol (BHA), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e os alquilgalatos, cujas estruturas estão apresentadas na Figura 2.10.



**Figura 2.10.** Estruturas dos principais antioxidantes primários.

(Fonte: ADEGOKE *et al.*, 1998).

Devido à existência de grupamentos terc-butil em posição orto- em relação ao único grupamento fenólico do BHA e do BHT, estes são chamados de fenóis impedidos. Este impedimento estérico é considerado a causa da relativa ineficiência destes antioxidantes, já que o grupo terc-butil compromete a atividade antioxidante da estrutura fenólica (SHERWIN, 1976).

O TBHQ é o antioxidante mais efetivo para óleos vegetais (SHERWIN, 1985; BUCK, 1991), sendo particularmente efetivo para alguns óleos, como o de soja, em que outros antioxidantes fenólicos têm pouco ou nenhum efeito (SHERWIN & THOMPSON, 1967). Segundo SHERWIN (1985), a maior efetividade do TBHQ, quando comparado a compostos monofenólicos (BHA e BHT), deve-se à falta de impedimento estérico e à presença de dois grupos hidroxila; este último fator, por outro lado, aumenta sua polaridade, reduzindo sua solubilidade em óleos. O autor, porém, ressalta que sua solubilidade em óleos e gorduras é moderada. AKOH (1994) registrou um aumento de 222% na estabilidade de óleo de soja com adição de 0,02% de TBHQ, em relação ao óleo sem antioxidante.

A cinética da oxidação inibida depende da atividade e estrutura do antioxidante, sua concentração e da taxa de iniciação da reação. Só há uma inibição satisfatória quando a concentração do antioxidante supera a concentração

mínima necessária para interromper todas as cadeias de reação formadas durante a iniciação (POKORNÝ, 1987). Além da potência química do antioxidante, sua efetividade é também afetada por sua solubilidade no óleo e sua volatilidade. Sua solubilidade afeta a acessibilidade aos radicais, e sua volatilidade afeta sua permanência no óleo durante a estocagem ou tratamento térmico (NAWAR, 1985).

### **2.5.6.2. Antioxidantes secundários (preventivos)**

#### 2.5.6.2.1. Quelantes de metais.

São compostos capazes de se ligar a traços de metais que não tenham sido removidos durante o processamento. Exemplos são o ácido cítrico (o mais usado), EDTA, ácido fosfórico, fosfolipídios e fosfatos (SMOUSE, 1995).

#### 2.5.6.2.2. Inativadores (*quenchers*) de $O_2$ singlete.

São compostos que, por seu mecanismo de ação, reduzem as taxas de fotoxidação, mas não afetam a autoxidação. Entre os inativadores de  $O_2$  singlete, destacam-se certos carotenóides e tocoferóis.

WARNER e FRANKEL (1987) estudaram o efeito de  $\beta$ -caroteno sobre a estabilidade de óleo de soja. Observaram que, em amostras tratadas com ácido cítrico e expostas à luz, a presença de 5-10 ppm de  $\beta$ -caroteno já se mostraram efetivos para conferir uma boa estabilidade, sem comprometer muito a aceitação da cor; entretanto, em amostras sem adição de ácido cítrico, foram necessários 20 ppm de  $\beta$ -caroteno para promover uma proteção efetiva, embora a esse nível já tenha havido certa rejeição à cor. Como o efeito protetor não foi observado no escuro,  $\beta$ -caroteno foi considerado um efetivo inativador de  $O_2$  singlete. De forma semelhante, LEE & MIN (1988) observaram efeito antioxidante do  $\beta$ -caroteno em óleos contendo clorofila expostos à luz, enquanto não houve efeito sobre a oxidação de óleo não exposto à luz.

Segundo FAKOURELIS *et al.* (1987), o efeito inibidor do  $\beta$ -caroteno sobre a oxidação de óleo exposto à luz deve-se parcialmente à filtração de luz UV, já que o  $\beta$ -caroteno absorve luz entre 400 e 500 nm, reduzindo a energia disponível para oxidação. MIN & LEE (1989), estudando os efeitos e mecanismos de carotenóides sobre a fotoxidação de óleo de soja, concluíram que os carotenóides reduzem a fotoxidação por uma combinação entre os efeitos de filtração de luz e e inativação do  $O_2$  singlete. Entretanto, os resultados obtidos por TERAO *et al.* (1980) indicam que o efeito do  $\beta$ -caroteno como filtro de luz durante a fotoxidação não existe.

HAILA e HEINONEN (1994), usando óleo purificado de colza, observaram que, em ausência de  $\gamma$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno atuou como pró-oxidante, o que os autores atribuíram aos produtos de oxidação de  $\beta$ -caroteno; já o  $\gamma$ -tocoferol mostrou-se um efetivo inibidor da oxidação. Por outro lado, o efeito conjunto de  $\beta$ -caroteno (20 ppm) e  $\gamma$ -tocoferol (20-50 ppm) mostrou-se mais efetivo do que o efeito isolado de cada um deles. Esses resultados sustentam a conclusão de WARNER & FRANKEL (1987), de que a inibição da fotoxidação por  $\beta$ -caroteno apenas é efetiva quando sua própria oxidação é prevenida por tocoferóis. Já os resultados obtidos por TERAO *et al.* (1980) indicam que o  $\beta$ -caroteno inibe a fotoxidação, mesmo em ausência de tocoferóis, embora sua ação seja mais efetiva quando em presença de tocoferóis.

O uso de combinações de antioxidantes podem trazer vantagens provenientes de efeitos sinérgicos entre eles. Distinguem-se duas categorias de sinergismo: a que envolve a combinação de antioxidantes primários, e a que envolve a combinação entre um antioxidante primário e um secundário (NAWAR, 1985). O sinergismo é mais eficiente quando se combinam antioxidantes de ação primária e secundária, retardando a iniciação e a propagação (FRANKEL, 1980).

Certos metais, principalmente ferro e cobre, além de catalisar reações de oxidação, podem complexar ou reagir com antioxidantes, prejudicando seu efeito.

Pode-se usar quelantes de metais em combinação com antioxidantes primários, com o objetivo de minimizar o efeito pró-oxidante dos metais, e para evitar interação destes com antioxidantes (SHERWIN, 1985).

Os tocoferóis, antioxidantes naturais amplamente presentes em óleos vegetais, podem atuar como antioxidantes secundários (inativação de  $^1\text{O}_2$ , por reação irreversível entre o tocoferol e o  $^1\text{O}_2$ , ou conversão de  $^1\text{O}_2$  a  $^3\text{O}_2$ ) ou primários (HOULIHAN e HO, 1985). Um teor relativamente alto de tocoferóis permanece no óleo mesmo após o processamento, muitas vezes em teores suficientes para exercer ação antioxidante efetiva; a efetividade antioxidante dos tocoferóis é máxima a baixos níveis (aproximadamente os presentes em óleos), podendo atuar como pró-oxidantes a altas concentrações (NAWAR, 1985).

Algumas observações devem ser destacadas sobre os antioxidantes. Estes compostos não aumentam a estabilidade de óleos já oxidados, ou seja, não revertem a oxidação. Atuam apenas como coadjuvantes para aumentar a estabilidade do sistema, não devendo ser utilizados como alternativa a outros recursos; assim, são pouco eficientes, por exemplo, em sistemas de embalagens inadequados. Além disso, sua eficiência será tanto maior quanto melhor for a qualidade inicial do óleo (FARIA, 1994). De fato, TOLEDO *et al.* (1985) observaram que o grau de oxidação do óleo de soja após o processamento exerceu grande efeito sobre sua estabilidade posterior; os autores destacaram que, se o óleo não for adequadamente protegido contra oxidação durante o processamento, a utilização de antioxidantes não se justifica.

As características requeridas de um antioxidante são: (1) não desenvolver sabores e cores nas concentrações utilizadas; (2) ser solúvel no óleo, a fim de ter seu efeito assegurado; (3) não ser tóxico nas concentrações utilizadas; (4) ter boa estabilidade térmica, em situações em que isso for importante; (5) ter boa relação custo: benefício (HOULIHAN e HO, 1985).

### 2.5.7. PROCESSAMENTO

Alguns óleos, como o de amendoim, coco e oliva, são comercializados na forma bruta, cuja única etapa de obtenção é a extração (e, às vezes, filtração); assim, qualquer material não lipídico naturalmente presente permanece no produto. Esses óleos têm sabores peculiares, geralmente desejáveis, contribuindo para a aceitabilidade dos alimentos com eles preparados (MOUNTS, 1985).

Entretanto, a maioria dos óleos não são adequados para consumo imediatamente após extração, apresentando sabores e odores geralmente fortes e mesmo desagradáveis, necessitando de processamento de refino antes do consumo (ALLEN, 1997). Processos tecnológicos têm sido desenvolvidos para produzir óleos incolores e que contribuam pouco ou nada para o sabor dos alimentos com eles preparados. As técnicas de refino consistem basicamente nas seguintes etapas: degomagem, neutralização, clarificação e desodorização; em alguns casos, pode ser realizada uma etapa posterior de hidrogenação. O refinamento visa remover total ou parcialmente componentes menores, como gomas, fosfolipídios, metais pró-oxidantes, pigmentos, tocoferóis e ácidos graxos livres, sem afetar os triglicerídios (MOUNTS, 1985).

As principais etapas do processamento da soja para produção de óleo são:

- Extração. É feita geralmente por meio do uso de solventes, como hexano, obtendo-se o óleo bruto. O solvente é então separado do material extraído (WILLIAMS, 1997).
- Degomagem. Tem o objetivo de remover gomas e fosfolipídios, por meio da adição de água. Entretanto, como muitos fosfolipídios não são hidratáveis, o uso de soluções de ácido cítrico ou fosfórico pode ser mais eficiente para remover tais compostos (ALLEN, 1997).

- Neutralização. Tem por principal objetivo a remoção de ácidos graxos livres. Uma solução de álcali (geralmente hidróxido de sódio) reage com os ácidos graxos, produzindo sabões e água, insolúveis no óleo e facilmente separáveis (ALLEN, 1997). A neutralização remove ainda alguns pigmentos, metais e fosfolipídios (SALUNKHE *et al.*, 1992).
- Clarificação. Feita por meio de adsorção; é realizada com o principal propósito de remover pigmentos, tornando o produto mais claro e atraente ao consumidor (SMOUSE, 1995). Remove também outras impurezas, como sabões e traços de metais, além de produtos da oxidação (ALLEN, 1997). É uma etapa de grande impacto sobre a estabilidade de óleos. Por um lado, remove pigmentos pró-oxidantes, como a clorofila. Por outro, remove também inativadores de  $^1O_2$ , como carotenóides (FRANKEL, 1980).
- Desodorização. É basicamente um processo de destilação, realizado a altas temperaturas (200-260°C) sob alto vácuo. Visa remover produtos voláteis da oxidação, cuja presença conferiria odor e sabor ao óleo. Reduz ainda os teores de outros componentes menores, como ácidos graxos livres e alguns pigmentos, especialmente carotenóides, por degradação térmica (SALUNKHE *et al.*, 1992; ALLEN, 1997).

A hidrogenação, quando realizada, visa aumentar a estabilidade através de redução do grau de insaturação (MOUNTS, 1985).

MISTRY e MIN (1992) relataram redução de estabilidade dos óleos em função do processamento, e atribuem isso à perda de tocoferóis (antioxidantes) e de fosfolipídios (que podem seqüestrar metais), além da conversão de metais inativos às suas formas pró-oxidantes, por efeito da neutralização.

Segundo FRANKEL (1996), por outro lado, a perda de tocoferóis resultante do processamento não reduz a estabilidade de óleo de soja, já que o teor de tocoferóis do produto final situa-se entre 700 e 1000  $\mu\text{g/g}$ , ainda superior à faixa ótima (400-600  $\mu\text{g/g}$ ) para atividade antioxidante.

### **2.5.8. UMIDADE**

A presença de água pode promover a hidrólise de triglicerídios, formando ácidos graxos livres, mais susceptíveis à oxidação que os triglicerídios; entretanto, a reação de hidrólise é relativamente pouco importante no que se refere a estabilidade de óleos sujeitos à oxidação, já que sua velocidade é lenta sob condições normais de estocagem (FARIA, 1990).

## **2.6. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DO GRAU DE OXIDAÇÃO DE LIPÍDIOS**

O grau de oxidação de um óleo pode ser avaliado a partir de vários métodos. Como a principal consequência da oxidação – a rancidez - é uma alteração sensorial, a medida mais importante da oxidação é a avaliação sensorial (JACKSON, 1981; ROSSELL, 1983; WARNER, 1985). Entretanto, como os testes sensoriais são demorados e caros, além de terem baixa reprodutibilidade, muitos métodos objetivos têm sido utilizados (SATTAR *et al.*, 1976b; GRAY, 1985). Estes, apesar de não predizerem a qualidade sensorial de óleos, podem ser úteis se correlacionados à avaliação sensorial; ou seja, o critério decisivo para a avaliação da adequabilidade de um método é sua correlação com a percepção sensorial de sabores e odores relacionados à rancidez (MIN, 1981; GRAY, 1985).

## 2.6.1. PRINCIPAIS MÉTODOS OBJETIVOS

### 2.6.1.1. Índice de peróxido (IP)

Os hidroperóxidos são os principais produtos primários da oxidação, e podem ser quantificados por métodos baseados em duas de suas propriedades: a de liberar iodo a partir de iodeto de potássio, ou a de oxidar íons  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  (AOCS, 1993). O método iodométrico, o mais utilizado, baseia-se na medida do iodo ( $\text{I}_2$ ) produzido por oxidação do iodeto de potássio (KI) pelos hidroperóxidos presentes no óleo (HAHM & MIN, 1995). O índice de peróxido é geralmente expresso em termos de miliequivalentes de  $\text{O}_2$  por kilograma de óleo (AOCS, 1993). As principais fontes de erro do método são: a absorção de  $\text{I}_2$  pelas ligações duplas e a liberação de  $\text{I}_2$  do KI pelo  $\text{O}_2$  atmosférico (MEHLENBACHER, 1960).

O índice de peróxido é o método mais comum para determinar o estado oxidativo de um óleo; entretanto, seu uso se limita aos estágios iniciais da oxidação, já que quantifica produtos primários da reação (HAHM & MIN, 1995). Suas principais limitações residem na instabilidade dos produtos medidos, além da sensibilidade do método a variações de temperatura (GRAY, 1985). Entretanto, segundo ROSSELL (1983), é uma boa medida de avaliação da qualidade de óleos. É um método sensível a alterações oxidativas, e de alta correlação com a estabilidade sensorial do produto, como mostram os resultados obtidos por SATTAR *et al.* (1976b), ODUMOSU *et al.* (1979), WARNER e NELSEN (1996).

Vale ressaltar, para fins de correlação com testes sensoriais, que o teor de peróxidos necessário para a produção de rancidez é variável segundo a composição do óleo, a presença de antioxidantes e pró-oxidantes, entre outros fatores (NAWAR, 1985).

### **2.6.1.2. Índice de Anisidina (IA)**

Em presença de ácido acético, a anisidina (p-metoxianilina) reage com aldeídos, derivados da decomposição de hidroperóxidos, produzindo um composto medido a 350 nm. A absorvância aumenta se o aldeído tiver uma ligação dupla conjugada à dupla do grupo carbonila; assim, o índice de anisidina é principalmente uma medida de 2-alcenais (PAQUOT e HAUTFENNE, 1987). O índice de anisidina é frequentemente usado em conjunto com o índice de peróxido para calcular o chamado valor total de oxidação ou Totox, obtido pela equação:  $Totox = 2 IP + IA$  (JACKSON, 1985).

### **2.6.1.3. Teste do Ácido Tiobarbitúrico (TBA)**

Baseia-se na formação de um pigmento a partir de condensação de duas moléculas de TBA com uma molécula de malonaldeído. Entretanto, nem sempre há formação desse aldeído. Muitos alcanais, alcenais e 2,4- dienais, em reação com TBA, produzem um pigmento amarelo (lido a 450 nm), mas apenas dienais produzem um pigmento vermelho (medido a 530 nm). Portanto, a medição nos dois comprimentos de onda pode ser desejável (NAWAR, 1985).

### **2.6.1.4. Espectrofotometria UV (extinção específica)**

A oxidação de lipídios contendo ácidos graxos insaturados é acompanhada por alterações na posição de duplas ligações, com formação de compostos conjugados, aumentando a absorção na região UV. Dienos conjugados exibem uma absorção intensa a 234 nm; trienos conjugados, a 268 nm (GRAY, 1985).

O grau de mudança na absorvância só tem boa correlação com o grau de oxidação nos primeiros estágios (NAWAR, 1985). Segundo WHITE (1995), como o método mede produtos primários da oxidação, seu valor se correlaciona bem com o índice de peróxido. Entretanto, os resultados obtidos por HILST (1999) indicam

baixa correlação linear entre o índice de peróxido e a extinção específica ( $r = 0,31 - 0,50$ ), além de baixos coeficientes de correlação entre a medida de extinção específica e a avaliação sensorial ( $r = 0,53 - 0,78$ ).

A medida de extinção específica tem algumas vantagens sobre IP: é mais rápido, operacionalmente mais simples, e não depende de reação química ou desenvolvimento de cor. Os valores não devem ser comparados para diferentes tipos de óleo, porque dependem da composição de ácidos graxos (WHITE, 1995).

#### **2.6.1.5. Cromatografia a gás (CG)**

Vários métodos cromatográficos têm sido usados para determinar oxidação de óleos, baseados em separação e posterior quantificação de certas frações, como voláteis, ou de compostos individuais produzidos tipicamente durante a oxidação, como pentano ou hexanal (NAWAR, 1985).

Na análise de voláteis por CG direta, os voláteis são coletados da amostra e transferidos para a coluna do cromatógrafo, o que permite boa recuperação e quantificação (PRZYBYLSKI & ESKIN, 1995).

Segundo MIN e KIM (1985), a CG é mais reprodutível e menos demorada que uma avaliação sensorial, além de ter a vantagem adicional de fornecer informações sobre as possíveis causas de variações de qualidade.

FARIA & MUKAI (1983) desenvolveram uma metodologia para quantificação contínua e simultânea de consumo de  $O_2$  e formação de voláteis a partir de lipídios, por meio de CG. O teste pode ser usado para avaliar o efeito pró-oxidante de diferentes fontes de luz, o efeito de fotossensibilizadores, assim como para avaliar a eficiência de antioxidantes.

### **2.6.2. AVALIAÇÃO SENSORIAL**

A análise sensorial é o método mais importante para estudos de qualidade e estabilidade de óleos, porque nenhum teste instrumental ou químico pode substituir nossos receptores sensoriais. Os métodos objetivos medem algum fator indicativo da oxidação, como produtos de decomposição, mas apenas a avaliação sensorial quantifica a percepção total de intensidade de sabor ou de qualidade. A principal limitação dos testes sensoriais é sua baixa reprodutibilidade em comparação com métodos objetivos, limitação esta que pode ser reduzida por meio de treinamento dos avaliadores e controle das condições dos testes (WARNER, 1995).

A análise sensorial de óleos, usada como medida analítica, deve ser feita sobre uma equipe selecionada, demonstrando capacidade em detectar e quantificar diferenças entre amostras (JACKSON, 1981). A AOCS (1993) sugeriu dois métodos de avaliação de sabor - segundo uma escala de intensidade ou uma escala de qualidade. A escala de intensidade foi desenvolvida para avaliar a intensidade geral de sabor de óleos que sejam processados para ter o mínimo sabor possível, como o de soja, enquanto a de qualidade é indicada para óleos que tenham sabores distintos e desejáveis, como o de oliva ou amendoim (WARNER e NELSEN, 1996).

Quando se pretende quantificar o grau de diferença entre uma amostra-teste e um controle, como por exemplo em estudos de vida-de-prateleira, pode-se usar o teste de Diferença do Controle, que determina se existe diferença entre a amostra-teste e o controle, e estima a magnitude da diferença (MEILGAARD *et al.*, 1987).

### **2.6.3. TESTES ACELERADOS DE AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE**

Existem testes acelerados para avaliação de estabilidade de óleos, que envolvem estocagem da amostra sob condições abusivas. Os mais utilizados são descritos a seguir.

#### **2.6.3.1. Teste de estufa (*Schaal Oven Test*).**

Consiste em manter a amostra estocada a 65°C e avaliá-la periodicamente por meio de análise sensorial ou um método objetivo de correlação conhecida com a medida sensorial, até que a rancidez seja detectável (NAWAR, 1985).

#### **2.6.3.2. Método do oxigênio ativo (*AOM - Active Oxygen Method*)**

A amostra é mantida a 97,8°C, enquanto há um constante fluxo de ar através dela; determina-se o tempo necessário para que o óleo atinja o índice de peróxido de 100 meq/kg (WAN, 1995).

#### **2.6.3.3. Taxa de absorção de oxigênio**

É determinada pelo tempo necessário para que haja uma queda predeterminada na pressão em uma câmara fechada, ou o tempo necessário para a absorção de uma quantidade preestabelecida de O<sub>2</sub> (NAWAR, 1985).

#### **2.6.3.4. Índice de Estabilidade de Óleos (*Oil Stability Index – OSI*)**

É uma determinação que pode ser feita automaticamente a partir de equipamentos disponíveis comercialmente (*Rancimat* ou *Omnion Instrument*). O método monitora os compostos voláteis produzidos a partir de uma amostra de óleo aquecida sob aeração constante. Os voláteis são retidos em água, e sua taxa de formação é monitorada com base em alterações na condutividade elétrica da solução (AKOH, 1994; WAN, 1995).

#### 2.6.4. CORRELAÇÕES ENTRE MÉTODOS

O coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) entre duas variáveis  $x$  e  $y$  é calculado por meio da Equação 2.5. Sendo o denominador sempre positivo, o numerador determina o sinal de  $r$ , que pode variar de  $-1$  a  $1$ . Uma correlação positiva significa que um aumento no valor de uma das variáveis é acompanhada por aumento no valor da outra; ao contrário, uma correlação negativa indica que, com o aumento no valor de uma variável, o valor da outra diminui (ZAR, 1996).

$$r = \frac{\sum xy}{\sqrt{\sum x^2 \sum y^2}} \quad (2.5)$$

FIORITI *et al.* (1974) correlacionaram as medidas de vários métodos objetivos com uma avaliação sensorial de intensidade de sabor, para vários óleos estocados a altas temperaturas, tendo obtido bons resultados para o índice de peróxido e a taxa de absorção de  $O_2$ .

ST. ANGELO *et al.* (1975) compararam o TBA, o índice de peróxido e a espectrofotometria UV para determinação de oxidação em produtos processados de amendoim, concluindo que a espectrofotometria UV poderia ser utilizada como índice de deterioração juntamente ao índice de peróxido, ou ao invés deste.

SATTAR *et al.* (1976b) correlacionaram o índice de peróxido e o índice de anisidina com uma avaliação sensorial em diferentes óleos; o índice de peróxido mostrou boa correlação com a avaliação sensorial ( $r = 0,96-0,99$ ), mas os resultados para o índice de anisidina não foram satisfatórios ( $r = 0,08-0,69$ ).

Uma regressão linear feita sobre os dados obtidos por WARNER e NELSEN (1996) indicou um alto coeficiente de correlação ( $r = 0,99$ ) entre o índice de peróxido e medidas sensoriais de intensidade de sabor, para óleo de soja.

MIN (1981) observou os seguintes coeficientes de correlação entre análise sensorial de qualidade e análise por CG, respectivamente, para óleos de soja, de milho e óleo hidrogenado de soja: 0,98, 0,90 e 0,96.

HAHM & MIN (1995) correlacionaram o índice de peróxido com a extinção específica a 233 nm (dienos conjugados), obtendo um valor de correlação de 0,99. Foram realizados testes de correlação entre índice de peróxido e avaliação sensorial, para diferentes produtos, tendo-se obtido valores de r de até 0,99

## **2.7. EMBALAGENS PARA ÓLEOS**

### **2.7.1. PRINCIPAIS REQUISITOS DE EMBALAGENS PARA ÓLEOS**

Os principais fatores ambientais que afetam a qualidade de óleos são: O<sub>2</sub>, luz e umidade. A função da embalagem é proteger o produto contra a ação deteriorativa de tais fatores (LEO, 1983). Esse autor destaca que uma seleção inadequada da embalagem de um óleo pode comprometer sua qualidade, mesmo que as condições do processamento tenham sido cuidadosamente monitoradas. Ressalta, ainda, que vários fatores devem ser considerados para a seleção da embalagem, a fim de se obter a melhor relação custo/benefício: tempo de residência do óleo na embalagem, custo da embalagem, tipo e concentração de antioxidantes utilizados e a atmosfera em contato com o produto.

A embalagem deve ser considerada como parte de um sistema que engloba o produto, a embalagem e o ambiente. Quanto maior a adequação e eficiência do sistema, maior o período de indução da oxidação e, conseqüentemente, maior a estabilidade do óleo. A fase de indução depende muito da qualidade inicial do óleo, dos teores de reagentes, pró- e antioxidantes, entre outros fatores. Em relação ao sistema de embalagem, são pontos importantes: baixa permeabilidade ao O<sub>2</sub>; bom *design* (baixa relação área: volume, resistência a carga vertical e colapsagem); boa

vedação; degasagem adequada (para obter baixo teor residual de O<sub>2</sub>); barreira a luz (FARIA, 1991; FARIA, 1994).

Do ponto de vista da estabilidade, os materiais opacos, como as tradicionais latas, são ideais, por sua alta barreira a luz e ao O<sub>2</sub>. Entretanto, por razões econômicas e mercadológicas, os materiais plásticos (especialmente PET e PVC) têm conquistado seu espaço no setor, apesar das latas ainda predominarem no mercado. Se, por um lado, a lata oferece maior proteção mecânica e contra radiações luminosas, as embalagens plásticas conferem maior atratividade ao produto, devido principalmente à transparência (PREVENDO PASSOS, 1997).

LEO (1983) comparou a estabilidade relativa de óleos acondicionados em lata, vidro âmbar, vidro transparente, PVC (policloreto de vinila) e PEAD (polietileno de alta densidade). A estabilidade dos óleos variou na seguinte ordem: lata > vidro âmbar > vidro transparente > PVC > PEAD.

HILST (1999) comparou a estabilidade de óleo de soja acondicionado em latas inertizadas sob atmosfera de nitrogênio, latas sem inertização e no sistema Tetra Brik. Os resultados indicaram maior estabilidade do produto acondicionado em latas inertizadas, sendo que não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os resultados obtidos para latas sem inertização e o sistema Tetra Brik.

Entre os materiais plásticos, existem consideráveis diferenças quanto às propriedades de barreira, a depender de vários fatores. A permeabilidade de um material de embalagem a uma determinada substância (permeante) é função da solubilidade e da difusibilidade do permeante no material. A solubilidade depende da diferença de polaridade entre ambos; por exemplo, polímeros com grupos polares representam boas barreiras a gases, mas, por outro lado, alta permeabilidade a vapor de água. A difusibilidade do permeante depende do grau de compactação do material de embalagem, que varia em função da densidade, do grau de cristalinidade e do grau de orientação do polímero (GRUENWALD, 1993).

O PVC é mais permeável ao oxigênio e ao vapor de água que o PET orientado (GRUENWALD, 1993). Segundo os resultados obtidos por ESPINOZA-ATENCIA (1995), as garrafas de PET ofereceram proteção oxidativa aos óleos de soja e milho de 8 a 9% maior em relação às de PVC. Entretanto, é importante ressaltar que os valores relativos de permeabilidade dependem de variáveis associadas ao processo de fabricação da embalagem.

As características mais importantes requeridas de um sistema de embalagem para óleos, do ponto de vista da estabilidade, são: barreira às radiações luminosas, ao oxigênio e ao vapor de água.

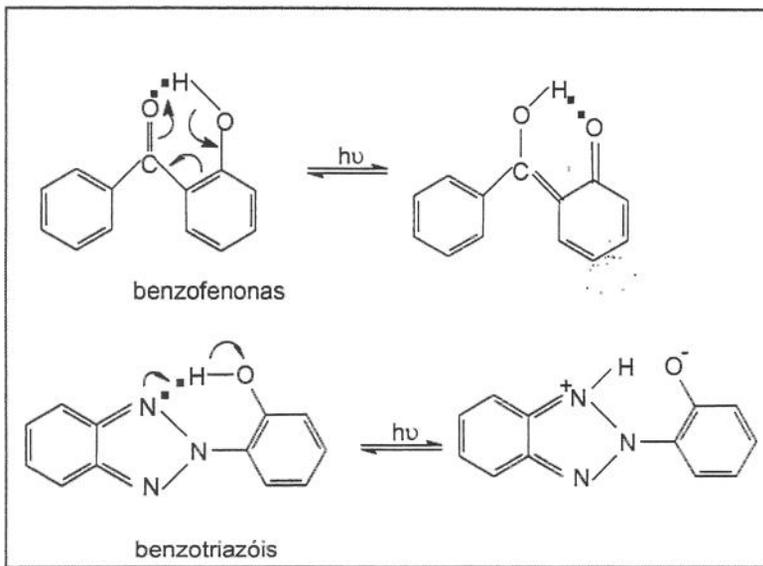
#### **2.7.1.1. Barreira às radiações luminosas**

O grau de proteção promovido pela embalagem depende de suas propriedades de transmissão de luz, que, por sua vez, depende da estrutura química do material. Os materiais de embalagem dividem-se em três tipos básicos, segundo as propriedades de transmissão de luz: os transparentes, como vidro e filmes plásticos; os opacos, como as latas e folhas de alumínio; e os translúcidos, como papel, cartão, garrafas plásticas (SATTAR & deMAN, 1975).

Os materiais plásticos diferem grandemente entre si quanto à transmissão de luz. Polietileno (PE), polipropileno (PP) e policloreto de vinila (PVC) apresentam transmissão intensa de luz UV, enquanto o polietileno tereftalato (PET) absorve raios UV situados abaixo de 300 nm (ESPINOZA-ATENCIA & FARIA, 1994).

Dentro deste contexto, um recurso existente para se reduzir a transmissão de luz através de materiais plásticos seria a utilização de absorvedores de luz UV, substâncias incolores (ou quase), que podem ser adicionadas ao material de embalagem (PASCALL *et al.*, 1995). Seu mecanismo de ação baseia-se em absorção de radiação UV e dissipação da energia de uma forma que não resulte em fotossensibilização (GUGUMUS, 1987).

Os absorvedores de UV mais utilizados pertencem às classes químicas das benzofenonas e dos benzotriazóis. Estes compostos dissipam a energia absorvida por meio de um mecanismo que envolve um rearranjo reversível (tautomeria ceto-enólica) de um anel que possui pontes de hidrogênio intramoleculares (Figura 2.11). Assim, a molécula mantém-se inalterada, apta a participar de um grande número de ciclos ativação – desativação (SCULLY & GHIGGINO, 1995).



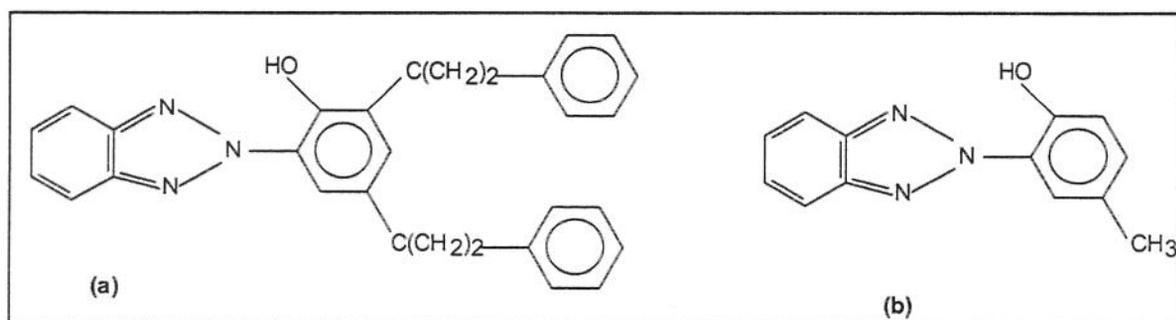
**Figura 2.11.** Mecanismos de rearranjo das moléculas dos absorvedores de UV. (Fonte: SCULLY & GHIGGINO, 1995).

PASCALL *et al.* (1995) avaliaram a estabilidade e efetividade de Tinuvin 326, um benzotriazol absorvedor de UV, adicionado a 0,3% a PP, para acondicionar óleo de soja. Não se detectaram perdas do composto para o ambiente, e registrou-se baixa migração para o óleo; os níveis de Tinuvin no material de embalagem praticamente não se alteraram. Os índices de peróxido do óleo acondicionado em embalagens contendo Tinuvin 326 mostraram-se significativamente menores ( $p \leq 0,01$ ) que os do óleo acondicionado em embalagens sem o composto.

ESPINOZA-ATENCIA *et al.* (1993) avaliaram o efeito de Tinuvin 326, adicionado a garrafas de PET, sobre a estabilidade oxidativa de óleo de milho

exposto a luz fluorescente. Observaram que a adição de 0,6% do composto aumentou em 12% a estabilidade do produto, em relação ao óleo acondicionado em garrafa sem absorvedor.

Entretanto, a Resolução 105, de Maio de 1999 (BRASIL, 1999a) estabelece que o Tinuvin 326 não deve ser utilizado para alimentos gordurosos. Outros podem ser utilizados, como o Tinuvin 234 e o Tinuvin P (Figura 2.12).



**Figura 2.12.** Estruturas químicas do Tinuvin 234 (a) e do Tinuvin P (b).

O Tinuvin 234 tem a designação química de (2-(2-hidroxi-3,5-di(1,1-dimetilbenzil) fenil) benzotriazol, de estrutura química apresentada na Figura 2.12(a). Seu uso é permitido em PET e copolímeros em concentrações de até 0,5% (BRASIL, 1999a). Tinuvin P é o nome comercial do (2-(2'-hidroxi-5'-metilfenil) benzotriazol, cuja estrutura se apresenta na Figura 2.12(b). É aprovado para uso em PVC, em concentrações de até 0,5% da matéria plástica (BRASIL, 1999a).

#### 2.7.1.2. Barreira ao O<sub>2</sub>

Segundo GADENNE (1993), o O<sub>2</sub> contido em um sistema de embalagem para óleo pode ter três diferentes origens:

- O<sub>2</sub> dissolvido: proveniente principalmente do processo de enchimento das embalagens.

- O<sub>2</sub> contido no espaço livre (*head space*): ocupa um volume de cerca de 30-35 mL para uma embalagem de 1 litro. O *head space* é constituído de 20-21% de O<sub>2</sub>.
- O<sub>2</sub> difundido através da embalagem: é função da permeabilidade do sistema de embalagem.

Do ponto de vista da exposição ao O<sub>2</sub>, as latas seriam as embalagens ideais para óleos, já que, considerando-se um sistema com boa hermeticidade, não haveria difusão do O<sub>2</sub> através da embalagem, o que limitaria as taxas de reação.

As embalagens de vidro também seriam mais eficientes do ponto de vista da proteção do óleo contra oxidação, já que têm a vantagem, em relação aos materiais plásticos, de minimizar o acesso do oxigênio. De fato, TAWFIK & HUYGHEBAERT (1999) observaram que as taxas de oxidação (avaliadas com base em IP e TBA) foram significativamente maiores ( $p \leq 0,05$ ) em garrafas plásticas (inclusive PET e PVC) do que em vidro.

No entanto, considerando-se a crescente utilização de garrafas plásticas, as seguintes alternativas relacionadas ao O<sub>2</sub> podem aumentar a estabilidade de óleos:

- Utilização de materiais de boa barreira ao O<sub>2</sub> (FARIA, 1991).

Embora sejam muito mais permeáveis ao oxigênio do que as embalagens metálicas, o PVC e o PET são polímeros de baixa permeabilidade ao oxigênio, principalmente quando biorientados (SALAME, 1989).

- Inertização.

Consiste na substituição do ar existente no interior da embalagem por um gás inerte, geralmente N<sub>2</sub>. Tal processo tem como principais conseqüências

a minimização das taxas de oxidação do produto e o aumento da resistência mecânica da embalagem, evitando especialmente a colapsagem, que ocorre devido ao consumo do O<sub>2</sub> contido no espaço livre (ANJOS, 1994). O uso de vácuo é inviável, devido à susceptibilidade das embalagens à colapsagem (FARIA, 1991; ROMANO & FARIA, 1996).

MOUNTS (1993) registrou redução das taxas de oxidação de óleo de soja, monitoradas por meio de avaliação sensorial, com a inertização com N<sub>2</sub>, tanto em testes acelerados quanto em condições ambientais de estocagem.

- Utilização de embalagens seqüestrantes de O<sub>2</sub>.

ROONEY *et al.* (1981) descreveram um processo de remoção fotoquímica de O<sub>2</sub> do *head space* de embalagens, no qual um pigmento fotossensibilizador e um acceptor de O<sub>2</sub> singlete foram imobilizados em filmes. O fotossensibilizador promove a conversão de <sup>3</sup>O<sub>2</sub> a <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, que reage com o acceptor, sendo assim consumido.

Existem ainda sistemas enzimáticos, que envolvem a adição ao material de embalagem de enzimas oxidantes, juntamente com o respectivo substrato, por exemplo, glicose oxidase e glicose (LABUZA, 1996).

Em alguns sistemas, o removedor de O<sub>2</sub> é inserido em forma de discos acoplados às tampas de garrafas. Tais sistemas são adequados para remover o O<sub>2</sub> presente no espaço livre, que geralmente contém cerca de dois terços do O<sub>2</sub> de uma garrafa (TEUMAC, 1995).

### **2.7.1.3. Barreira ao vapor de água**

As embalagens para óleos devem ter baixa permeabilidade ao vapor de água, pois traços de água podem promover hidrólise dos lipídios, com conseqüente formação de ácidos graxos livres, com duas possíveis conseqüências: desenvolvimento de rancidez hidrolítica, como conseqüência da produção de ácidos graxos de baixo peso molecular (LABUZA, 1982), e aumento da taxa de oxidação, já que os ácidos graxos livres são mais susceptíveis a oxidação que os triglicerídios (FARIA, 1990).

## **2.7.2. PRINCIPAIS MATERIAIS DE EMBALAGEM PLÁSTICA PARA ÓLEOS**

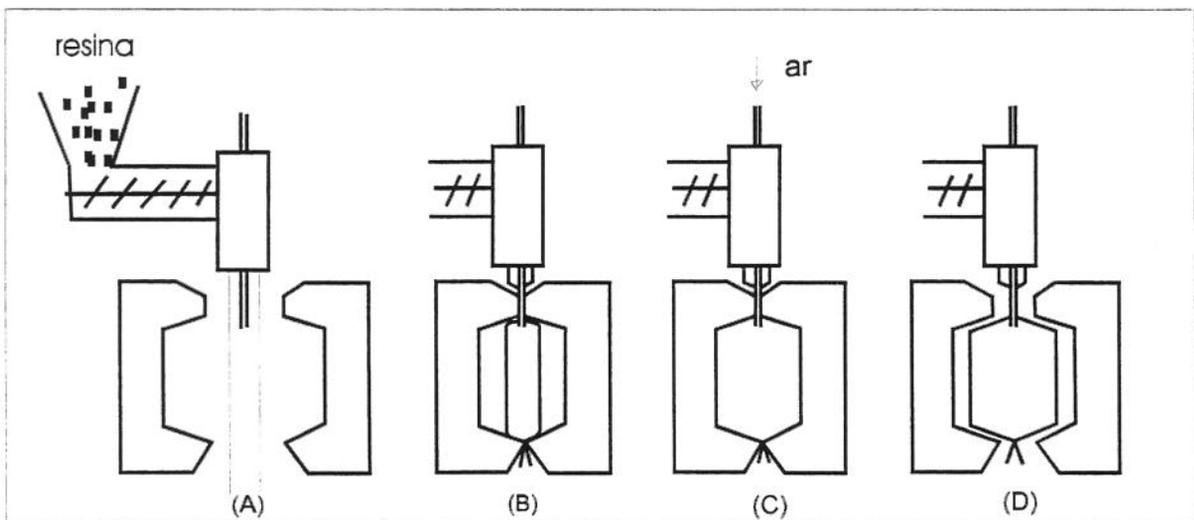
### **2.7.2.1. Policloreto de vinila (PVC)**

É um polímero termoplástico, cuja estrutura química é  $(-\text{CH}_2-\text{CHCl}-)_n$ , semelhante à do PE; no entanto, como o átomo de cloro ocupa um volume bem maior que o hidrogênio, o PVC é mais amorfo (MILES & BRISTON, 1975). Os átomos de cloro conferem polaridade à molécula, tornando-a insolúvel em solventes apolares (ULRICH, 1982). Sua densidade é bem maior que a do PE ou PP (cerca de  $1,4 \text{ g/cm}^3$ ), por conter cerca de 50% de seu peso em cloro (JENKINS & HARRINGTON, 1991).

O PVC é bastante termossensível, decompondo-se acima de  $80^\circ\text{C}$ , com alteração de cor e produção de ácido clorídrico, que danifica os equipamentos de processamento da resina. Alguns aditivos, como estabilizantes e lubrificantes, são utilizados para prevenir essa decomposição (MILTZ, 1992).

Um problema relacionado ao uso do PVC em embalagens para alimentos é a possível migração de compostos tóxicos, como os aditivos e monômeros residuais (cloreto de vinila). O monômero libera, quando aquecido, ácido clorídrico e compostos voláteis tóxicos. A legislação internacional estabelece o limite de 1 ppm do monômero na estrutura do polímero final (ULRICH, 1982). Embora a esses níveis o PVC seja bem seguro, essa descoberta gerou um certo pânico por parte da população (JENKINS & HARRINGTON, 1991).

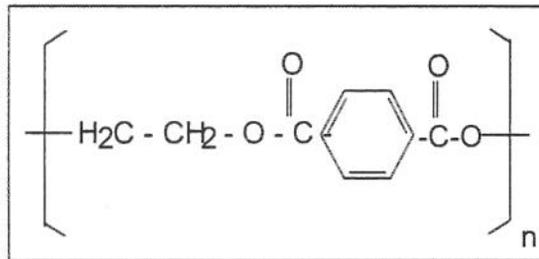
O processo de transformação mais comum para produção de garrafas de PVC é o de extrusão-sopro, com ou sem biorientação. O processo com biorientação (Figura 2.13) envolve a produção de uma pré-forma por meio de extrusão para obtenção de um tubo, que é comprimido entre duas metades de um molde; o fundo é então selado, e a extremidade superior é comprimida por um suporte metálico. Na etapa seguinte, a pré-forma é soprada contra as superfícies resfriadas do molde por ar injetado através do suporte de sopro (CHARRIER, 1990).



**Figura 2.13.** Processo de extrusão-sopro. (A) extrusão; (B) formação da pré-forma; (C) sopro; (D) retirada do molde (CHARRIER, 1990).

### 2.7.2.2. Polietileno tereftalato (PET)

O polietileno tereftalato (PET), cuja estrutura química está apresentada na Figura 2.14, é um poliéster produzido a partir de dois tipos de reação: produção do monômero, por esterificação entre o ácido tereftálico e o etileno glicol ou transesterificação do dimetil tereftalato com o etileno glicol; e policondensação a partir do monômero (WEYNE, 1989).



**Figura 2.14.** Estrutura química do PET.

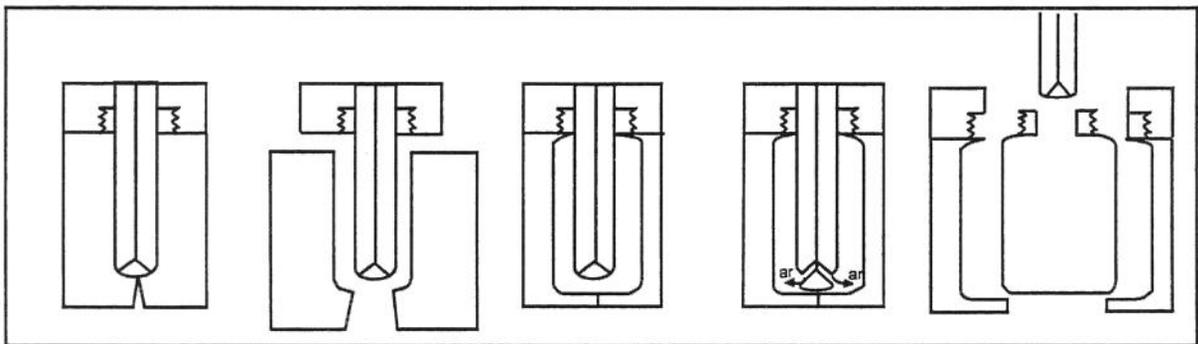
Algumas propriedades mecânicas se destacam no PET: alta resistência à ruptura, perfuração, rasgamento e impacto. Graças à sua ampla faixa de temperatura de trabalho, que abrange de  $-180^{\circ}\text{C}$  a  $220^{\circ}\text{C}$ , o PET é um material adequado para tratamento térmico e para embalagem de supercongelados (ULRICH, 1982).

O PET apresenta boa barreira ao  $\text{O}_2$ , a odores e a óleos e gorduras. Entretanto, sua permeabilidade ao vapor de água é relativamente alta (OHSHIMA & ANJOS, 1989).

A biorientação das cadeias moleculares do polímero produz um alinhamento que aumenta a ordenação das moléculas, o que proporciona melhoria das propriedades mecânicas, de barreira e de resistência química (OHSHIMA & ANJOS, 1989; ROMANO & FARIA, 1996). O PET biorientado começou a ser utilizado a partir da década de 1980 para acondicionamento de óleos, podendo se

destacar pelas seguintes vantagens: boa barreira a gases, boa resistência química, ausência de interação com o produto, excelente resistência mecânica, boas propriedades de transparência e brilho, versatilidade de formas a serem trabalhadas (O USO..., 1994).

O processo mais comum para produção de garrafas de PET para acondicionamento de óleos é o de injeção-sopro com biorientação. Este processo, quando realizado em um estágio (Figura 2.15), envolve uma etapa de injeção, na qual o material é injetado em um molde, seguida por desmoldagem da pré-forma, que permanece ligada ao suporte. O molde de injeção é então substituído por um molde de sopro. O ar é injetado através de uma válvula, para soprar a pré-forma contra a superfície resfriada do molde de sopro (CHARRIER, 1990). O mais comum, entretanto, é que o processo descrito seja realizado em dois estágios (produção da pré-forma e sopro), em equipamentos independentes.<sup>1</sup>



**Figura 2.15.** Processo de injeção-sopro. (a) injeção da pré-forma; (b) desmoldagem da pré-forma; (c) substituição dos moldes; (d) sopro; (e) desmoldagem da garrafa. (CHARRIER, 1990).

<sup>1</sup> ANJOS, C.A.R. (UNICAMP). **Comunicação pessoal**, 2001.

## 2.7.3. ESTUDOS DE ESTABILIDADE

### 2.7.3.1. Cinética de reações para estimativa de vida-de-prateleira de alimentos

Segundo LABUZA (1985), existem duas formas básicas de se prever a vida-de-prateleira de um alimento. O método mais comum é expor o produto a uma condição pré-selecionada de abuso, e avaliar sua qualidade periodicamente, para então extrapolar os resultados para condições normais de estocagem. Outra forma, que geralmente gera melhores resultados, é partir de certos princípios de cinética de reações para estudar mais cuidadosamente a estabilidade do produto.

A perda de qualidade para a maior parte dos alimentos segue a Equação geral apresentada em 4.6, proposta por LABUZA (1979):

$$\frac{dQ}{dt} = kQ^n \quad (4.6)$$

Sendo: Q = índice de qualidade medido; t = tempo; k = uma constante, que depende da temperatura e atividade de água, entre outros fatores; n = ordem de reação, que define se a taxa de reação depende do valor de Q; dQ/dt = taxa de mudança de Q em função do tempo.

Partindo dessa equação, e de posse de dados obtidos experimentalmente, pode-se encontrar valores para os parâmetros da equação, ajustando-a desta forma a uma situação real.

A maioria dos tipos de degradação segue uma cinética de ordem zero (n = 0) ou de primeira ordem (n = 1). No caso da oxidação de lipídios, a permeabilidade do sistema de embalagem ao O<sub>2</sub> afetará a ordem da reação (n). Se o sistema apresentar alta permeabilidade ao O<sub>2</sub>, a reação será de ordem zero, enquanto, em sistemas de alta barreira, como em latas, a reação será de primeira ordem (FARIA, 1991).

ÖZILGEN & ÖZILGEN (1990) partiram da equação logística, utilizada para simular cinética de processos, e ajustaram-na para construir um modelo cinético para simular a oxidação de lipídios.

LABUZA (1971) desenvolveu um trabalho bastante completo a respeito da cinética da autoxidação, em que analisa as várias etapas do processo, suas taxas, e como essas são afetadas por diferentes fatores, como temperatura e O<sub>2</sub>.

#### **2.7.4. METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (RSM)**

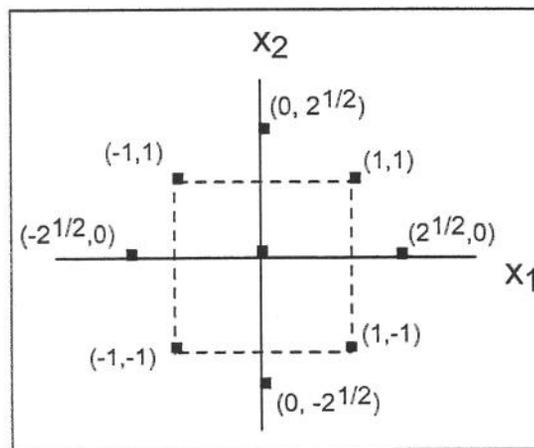
Muitas vezes, o comportamento de uma resposta de interesse é governado por leis que regem a relação entre a resposta e os fatores experimentais. Entretanto, é muito freqüente que tal relação seja muito complexa ou mesmo desconhecida. Nestes casos, a construção de um modelo empírico é necessário. A estratégia utilizada para isso constitui a base da Metodologia de Superfície de Resposta (*Response Surface Methodology*, RSM), que consta das seguintes etapas: delineamento experimental, planejado de forma a produzir medidas adequadas e confiáveis da resposta de interesse; construção de um modelo matemático que melhor se ajuste aos dados coletados a partir do delineamento; e determinação das combinações de fatores experimentais que produzam um valor “ótimo” (máximo ou mínimo) da resposta (KHURI & CORNELL, 1996).

Um dos delineamentos mais aplicados à RSM é o delineamento composto central que, segundo PAGLIARINI *et al.* (1996), consiste em:

- Um delineamento fatorial completo de 2 níveis ( $2^k$ , sendo k o número de variáveis independentes), em níveis codificados como +1 ou -1; ou seja, as coordenadas desses pontos são combinações  $(\pm 1, \pm 1, \dots, \pm 1)$ .

- Pontos axiais, situados sobre os eixos das coordenadas, a uma distância codificada  $\alpha$  ( $\alpha = 2^{k/4}$ ) do ponto central. O número de pontos axiais é  $2k$ . Suas coordenadas codificadas são  $(\pm \alpha, 0, 0, \dots)$ ,  $(0, \pm \alpha, 0, \dots)$ , ...,  $(0, 0, \dots, \pm \alpha)$ .
- Repetições do ponto central, no qual todas as variáveis independentes são tomadas em seus valores médios, ou seja, as coordenadas são  $(0, 0, \dots, 0)$ .

Um esquema ilustrativo do delineamento composto central, com 2 variáveis, é apresentado na Figura 2.16.



**Figura 2.16.** Esquema de um delineamento composto central com  $k = 2$  variáveis (Fonte: KHURI & CORNELL, 1996).

O modelo obtido pode ser avaliado com base em alguns critérios, podendo-se destacar o coeficiente de determinação e o teste F.

O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) é uma medida da proporção da variação total da resposta que é explicada pelo modelo (KHURI & CORNELL, 1996). Assim, quanto mais próximo o  $R^2$  de 1 (ou 100%), melhor será considerado o modelo.

O teste F, realizado por meio da análise de variância, testa a significância da regressão e da falta de ajuste, com o objetivo de avaliar a adequação dos modelos.

A regressão deve ser significativa, ou seja, deve apresentar um valor de F superior ao tabelado ( $p \leq 0,05$ ). Por outro lado, a falta de ajuste não deve ser significativa ( $p \leq 0,05$ ), o que indica que a variação explicada pelo modelo é significativamente maior que a variação não explicada (KHURI & CORNELL, 1996). BOX & WETZ (1973) sugeriram que, para uma regressão ser considerada não apenas significativa, mas altamente preditiva, o valor de F deve ser no mínimo 3-4 vezes superior ao tabelado. Uma falta de ajuste significativa pode ser devida a omissão de fatores que afetariam a resposta e/ou omissão de termos de ordem mais alta no modelo que seriam necessários para explicar adequadamente o comportamento da resposta (KHURI & CORNELL, 1996). Entretanto, caso a regressão e a falta de ajuste sejam significativas, WASZCZYNSKYJ *et al.* (1981) sugerem que se proceda a uma ANOVA modificada, utilizando-se o quadrado médio (QM) da falta de ajuste ao invés do QM do resíduo total, para calcular o valor de F.

Segundo THOMPSON (1982), a RSM é utilizada para a análise de problemas em que diversas variáveis independentes (fatores) influenciam uma variável dependente (resposta), identificando relações matemáticas entre níveis predeterminados das variáveis independentes e a resposta, sendo um dos objetivos otimizar a resposta.

Portanto, a MSR é uma ferramenta útil para estudos de estabilidade de alimentos, quando o objetivo é não apenas estudar os efeitos das variáveis sobre a resposta, mas também minimizar a taxa de alterações (maximizando a estabilidade).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. MATERIAL

Foi utilizado óleo de soja refinado, sem antioxidantes, acondicionados em tambores metálicos de 200 L, fornecido pela *Cargill Agrícola S.A.* Os seguintes antioxidantes foram acrescentados ao óleo (segundo níveis determinados pelo delineamento experimental): TBHQ,  $\beta$ -caroteno e ácido cítrico.

A *Rionil Compostos Vinílicos Ltda.* forneceu as garrafas de policloreto de vinila (PVC), produzidas por extrusão-sopro com biorientação, adicionadas de Tinuvin P nas concentrações: 0,000%; 0,125%; 0,250%; 0,375% e 0,500%.

As garrafas de polietileno tereftalato (PET), com cinco concentrações diferentes de Tinuvin 234 (0,00%; 0,05%; 0,10%; 0,15% e 0,20%), foram produzidas por injeção-sopro com biorientação, em dois estágios; o primeiro (produção das pré-formas) foi feito pela *Petropar Embalagens S.A.*, e o segundo (sopro com biorientação), pela *Archer Daniels Midland Company – ADM Brasil*.

Foram utilizadas, para ambos os tipos de garrafas, tampas plásticas de polipropileno, do tipo *flip top* com dosador.

#### 3.2. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE SOJA REFINADO

O óleo de soja utilizado no experimento foi submetido às seguintes determinações:

- Índice de peróxidos (AOCS Official Method Cd 8b-90, 1993);

- Índice de saponificação (AOCS Official Method Cd 3-25, 1993);
- Índice de acidez (AOCS Official Method Cd 3d-63, 1993);
- Índice de iodo (AOCS Official Method Cd 1-25, 1993);
- Índice de refração a 30°C (AOCS Official Method Cc 7-25, 1993);
- Cor (método Lovibond, AOCS Official Method Cc 13b-45, 1993);
- Composição de ácidos graxos, por cromatografia gasosa (AOCS Official Method Ce 1-62, 1993), em cromatógrafo Perkin-Elmer, modelo Sigma 3B. A preparação das amostras, na forma de ésteres metílicos dos ácidos graxos, foi feita segundo o método proposto por HARTMAN & LAGO (1973). Foi utilizada uma coluna Crompack 7488, e o processo foi conduzido sob as seguintes condições cromatográficas: temperatura do detector: 300°C; temperatura do injetor: 250°C; temperatura da coluna: 180°C; fluxo de hélio na coluna: 1 mL/min. A concentração dos ácidos graxos foi determinada por normalização das áreas pelo integrador.
- Teor de tocoferóis totais (CONTRERAS-GUZMAN e STRONG III, 1982);
- Teor de carotenos totais (TRUJILLO QUIJANO, 1988).

### **3.3. CARACTERIZAÇÃO DAS EMBALAGENS**

#### **3.3.1. PESO, GRAMATURA E CAPACIDADE VOLUMÉTRICA**

O peso e a capacidade volumétrica foram determinados por meio de balança semi-analítica, com precisão de 0,01 g. A gramatura foi determinada a partir de

pesagem de amostras de área conhecida, em balança analítica com precisão de 0,0001 g. Os resultados foram tomados como média da medida de 10 amostras.

### 3.3.2. CARACTERIZAÇÃO DIMENSIONAL

Compreendeu as determinações de altura, diâmetro externo do corpo, diâmetro interno da boca da garrafa, e distribuição de espessura. As medidas de altura e diâmetros foram feitas por meio do uso de paquímetro, com precisão de 0,01 mm, enquanto as medidas de espessura foram feitas por meio do uso de micrômetro com precisão de 0,01 mm. Os resultados foram tomados a partir da média das medidas de 10 amostras.

### 3.3.3. CARACTERÍSTICAS DE BARREIRA

- Taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA), determinada para os conjuntos embalagens-tampas, contendo sílica anidra (dessecante) em seu interior, sob as seguintes condições: (1) 38°C / 90%UR e (2) 25°C / 75%UR. O método se baseia no aumento de peso da sílica contida nas garrafas, segundo ASTM D 895-94 (1997).
- Taxa de permeabilidade a O<sub>2</sub> (TPO<sub>2</sub>), determinação feita pelo método coulométrico, segundo ASTM F 1307-90 (1997) , método isostático à pressão atmosférica local, umidade relativa de 70% ± 5% e temperatura de 25°C ± 2°C. O equipamento utilizado foi o MOCON OX-TRAN 2/20. Para se medir a TPO<sub>2</sub> das garrafas, incluindo ou não seus respectivos sistemas de fechamento, utilizou-se um kit de fixação, segundo descrito por FARIA (1998).

- Espectro de transmissão de luz das garrafas, com as diferentes concentrações de absorvedor de UV, através de leitura em espectrofotômetro Beckman, modelo 70-DU, de amostras obtidas do corpo (centro) das garrafas, no intervalo de varredura de 190 a 500 nm, segundo ASTM D 1003-95 (1997).

### 3.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram realizados dois experimentos independentes, nos quais o óleo de soja foi acondicionado em garrafas de PVC e de PET.

Para cada experimento, foi realizado um delineamento composto central, baseado na Metodologia de Superfície de Resposta. As variáveis independentes estudadas foram as seguintes:

- Concentração de TBHQ (0 a 200 ppm);
- Concentração de  $\beta$ -caroteno (6 a 16 ppm, para o experimento com PVC; 6 a 11 ppm, para o experimento com PET);
- Concentração de ácido cítrico (0 a 60 ppm);
- Concentração de absorvedor de UV nas garrafas plásticas (0,0 a 0,5% de Tinuvin P, para o experimento com PVC; 0,0 a 0,2% de Tinuvin 234, para o experimento com PET).

Os níveis codificados das variáveis independentes para cada ensaio estão apresentados na Tabela 3.1. A Tabela 3.2 apresenta os correspondentes níveis decodificados de cada uma das variáveis independentes do experimento com PVC.

Na Tabela 3.3, apresentam-se os níveis decodificados das variáveis independentes para os ensaios do experimento com PET.

A concentração máxima de TBHQ utilizada no experimento foi determinada com base no Compêndio da Legislação de Alimentos (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DA ALIMENTAÇÃO, 1999). Quanto aos absorvedores de UV, as faixas foram escolhidas segundo os limites regulamentados pela Resolução nº 105, de 19 de Maio de 1999 (BRASIL, 1999a). Entretanto, para o experimento com PET, a faixa de concentrações do Tinuvin 234 não abrangeu toda a faixa permitida pela legislação (que permite até 0,5% para uso em PET), porque uma análise espectrofotométrica indicou que, a partir de 0,2%, não houve praticamente diferença no espectro de absorção das amostras; adotou-se, portanto, o limite superior de 0,2% para o Tinuvin 234 adicionado nas garrafas de PET.

As variáveis dependentes do presente estudo foram:

- Índice de peróxido;
- Índice de extinção específica a 232 nm;
- Diferença sensorial em relação a um tratamento controle, no caso, óleo de soja pertencente ao mesmo lote daquele utilizado para os experimentos, porém mantido durante o período de estocagem em câmara fria, à temperatura de 5°C, acondicionado em garrafas plásticas envoltas em folha de alumínio, no interior de caixas de papelão, a fim de minimizar o contato do produto com a luz.

Para cada tratamento, as variáveis dependentes foram analisadas mensalmente, durante um período de 6 meses de estocagem, com exceção da Diferença do Controle, avaliada somente aos seis meses de estocagem.

**Tabela 3.1.** Condições experimentais de cada ensaio (valores codificados)

Ensaio	Variáveis independentes			
	TBHQ	$\beta$ -caroteno	ácido cítrico	Tinuvin (*)
1	-1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1	-1
3	-1	1	-1	-1
4	1	1	-1	-1
5	-1	-1	1	-1
6	1	-1	1	-1
7	-1	1	1	-1
8	1	1	1	-1
9	-1	-1	-1	1
10	1	-1	-1	1
11	-1	1	-1	1
12	1	1	-1	1
13	-1	-1	1	1
14	1	-1	1	1
15	-1	1	1	1
16	1	1	1	1
17	$-\alpha$	0	0	0
18	$\alpha$	0	0	0
19	0	$-\alpha$	0	0
20	0	$\alpha$	0	0
21	0	0	$-\alpha$	0
22	0	0	$\alpha$	0
23	0	0	0	$-\alpha$
24	0	0	0	$\alpha$
25	0	0	0	0
26	0	0	0	0
27	0	0	0	0
28	0	0	0	0
29	0	0	0	0

(\*) Tinuvin P, para o experimento com PVC, e Tinuvin 234, para o experimento com PET.

**Tabela 3.2.** Níveis decodificados das variáveis, para o experimento com PVC.

Níveis codificados	Níveis decodificados			
	TBHQ (ppm)	$\beta$ -caroteno (ppm)	Ácido cítrico (ppm)	Tinuvin P (%)
- $\alpha$	0	6,0	0	0,000
- 1	50	8,5	15	0,125
0	100	11,0	30	0,250
1	150	13,5	45	0,375
$\alpha$	200	16,0	60	0,500

**Tabela 3.3.** Níveis decodificados das variáveis, para o experimento com PET.

Níveis codificados	Níveis decodificados			
	TBHQ (ppm)	$\beta$ -caroteno (ppm)	Ácido cítrico (ppm)	Tinuvin 234 (%)
- $\alpha$	0	6,00	0	0,00
- 1	50	7,25	15	0,05
0	100	8,50	30	0,10
1	150	9,75	45	0,15
$\alpha$	200	11,00	60	0,20

### 3.5. ACONDICIONAMENTO E ESTOCAGEM DO ÓLEO

Os aditivos foram misturados em um agitador mecânico Ultra-Turrax, modelo 18/10S2, utilizando-se como veículo 30 mL de óleo de soja e 20 mL de polietilenoglicol. Cada mistura de aditivos foi adicionada a 6 L de óleo de soja refinado, e a homogeneização foi feita manualmente, usando-se uma bagueta, com

o máximo cuidado no sentido de minimizar a incorporação de ar. O óleo foi então transferido para as garrafas correspondentes, devidamente identificadas com o número do tratamento e o tempo de estocagem a ser submetido. As garrafas foram fechadas manualmente e transferidas para o ambiente de estocagem, que consistiu de uma sala com temperatura controlada a 25°C, por meio de um condicionador de ar do tipo quente-frio, com reversão automática entre os ciclos de resfriamento e aquecimento (Brastemp, modelo Fuzzy Logic Q-F, 7500 BTU). As garrafas foram colocadas sobre uma mesa de madeira forrada com folha de alumínio, sobre a qual foi montado um conjunto de seis lâmpadas fluorescentes, marca General Electric, potência 40 W, a uma distância de 70 cm da mesa. As posições das amostras na mesa foram definidas aleatoriamente, e alternadas mensalmente, para se obter maior uniformidade na incidência de luz recebida por cada uma.

A intensidade luminosa média recebida pelas amostras foi medida com o uso de um foto-radiômetro, marca Delta Ohm, modelo HD9021. Foi calculada a intensidade luminosa média de vinte medições, que foram feitas posicionando-se o sensor do foto-radiômetro na altura das tampas e na superfície da mesa, perpendicularmente ao feixe das lâmpadas.

### **3.6. ANÁLISES QUÍMICAS E FÍSICAS**

Os métodos utilizados para as análises objetivas foram os seguintes:

- Índice de peróxido (método oficial Cd 8b-90, AOCS, 1993).
- Índice de extinção específica a 232 nm (método oficial Ch 5-91, AOCS, 1993). O solvente utilizado para o óleo de soja foi o ciclohexano.

### 3.7. ANÁLISE SENSORIAL

#### 3.7.1. DIFERENÇA DO CONTROLE

A análise sensorial foi realizada após seis meses de estocagem, com o objetivo de avaliar o grau de diferença do óleo entre cada um dos 29 tratamentos e um controle, previamente especificado no item 3.4. O método utilizado foi o de “Diferença do Controle” (MEILGAARD *et al.*, 1987).

Os testes foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos da FEA/UNICAMP. Inicialmente, foram recrutados 22 avaliadores, entre alunos e funcionários da UNICAMP, os quais foram previamente submetidos a um treinamento, no qual receberam uma amostra-controle e duas amostras de óleo de soja com diferentes graus de oxidação. Uma delas, com índice de peróxido de 5,6 meq/kg, foi tomada como referência para o ponto da escala correspondente ao termo “moderadamente diferente do controle”; a outra, apresentando um índice de peróxido de 8,9 meq/kg, foi tomada como referência para o extremo superior da escala de Diferença do Controle (“extremamente diferente do controle”). O treinamento teve por objetivo familiarizar os provadores com os odores associados à rancidez, bem como sua intensidade. A seleção da equipe baseou-se nos resultados obtidos de três sessões do próprio teste de Diferença do Controle, em que cada avaliador recebeu o controle, identificado por P, e três amostras codificadas com números de três dígitos (uma correspondente ao próprio controle e duas amostras adicionais com diferentes graus de oxidação), aleatoriamente distribuídas. A partir dos resultados, foram realizadas análises de variância individuais para cada provador, em que se consideraram as fontes de variação: amostras (discriminação) e repetição. Quinze provadores apresentaram  $pF_{\text{amostras}} < 0,30$ ,  $pF_{\text{repetição}} > 0,05$  e consenso com a equipe, tendo sido selecionados para compor a equipe final.

A análise sensorial propriamente dita baseou-se no teste de Diferença do Controle (MEILGAARD *et al.*, 1987), avaliado em relação ao odor, por meio do qual os provadores avaliaram a diferença entre o odor da amostra controle e amostras referentes a cada um dos tratamentos, utilizando uma escala estruturada de 9 categorias (0 = "igual ao controle" a 8 = "extremamente diferente do controle"). A Figura 3.1 apresenta o modelo da ficha utilizada. Em cada sessão, os avaliadores receberam quatro béqueres de vidro de 25 mL cobertos com folha de alumínio, contendo o controle, identificado por P, e três amostras-teste devidamente codificadas. Todos os avaliadores receberam, ao longo das sessões, amostras correspondentes aos 29 tratamentos, em ordem aleatória, além do controle, devidamente codificado.

AVALIAÇÃO SENSORIAL – DIFERENÇA DO CONTROLE - ÓLEO DE SOJA	
Você está recebendo uma amostra-controle e 3 amostras codificadas de óleo de soja. Por favor, avalie-as e compare as amostras codificadas (da esquerda para a direita) com a amostra controle, em relação ao ODOR, segundo a escala abaixo.	
8	extremamente diferente do controle
7	
6	muito diferente do controle
5	
4	moderadamente diferente do controle
3	
2	ligeiramente diferente do controle
1	
0	igual ao controle
N <sup>o</sup> da amostra	Valor
_____	_____
_____	_____
_____	_____

**Figura 3.1.** Ficha utilizada para análise sensorial de Diferença do Controle.

### 3.7.2. TESTE DE ACEITAÇÃO DE COR

O  $\beta$ -caroteno afeta visualmente o óleo ao qual é adicionado, conferindo-lhe uma coloração avermelhada, que pode comprometer sua aceitação.

Com o objetivo de avaliar o efeito da concentração de  $\beta$ -caroteno sobre a aceitação visual do produto, realizou-se um teste de aceitação, no qual cinco amostras do experimento com PVC, provenientes de tratamentos em que se usaram as diferentes concentrações de  $\beta$ -caroteno (6; 8,5; 11; 13,5 e 16 ppm), foram submetidas a uma avaliação de aceitação de cor. Participaram deste teste 45 avaliadores, entre alunos e funcionários da FEA – UNICAMP. A avaliação foi realizada em ambiente com luz branca, a fim de melhor simular as condições de compra e consumo do produto. Utilizou-se escala hedônica de 9 pontos (1 = “desgostei extremamente” a 9 = “gostei extremamente”). A ficha usada para avaliação consta na Figura 3.2. Os resultados foram analisados por meio de um histograma de médias de avaliação sensorial em função da concentração de  $\beta$ -caroteno, e serviram de base para determinação dos níveis aceitáveis de  $\beta$ -caroteno, a serem utilizados no experimento com PET. Médias de aceitação abaixo do valor 5 (“não gostei nem desgostei”) foram consideradas como tendo baixa aceitação pelos provadores, e não foram utilizadas para o experimento com PET. Assim, enquanto a determinação dos níveis de  $\beta$ -caroteno do experimento com PVC priorizou a avaliação de seu efeito sobre a estabilidade do óleo, independentemente de sua aceitação, as concentrações de  $\beta$ -caroteno para o experimento com PET foram limitadas em função da aceitação dos avaliadores.

ANÁLISE DE ACEITAÇÃO DE COR – ÓLEO DE SOJA	
Por favor, avalie visualmente cada uma das amostras, e indique, segundo a escala abaixo, o quanto gostou ou desgostou da COR de cada uma.	
9	gostei extremamente
8	gostei muito
7	gostei moderadamente
6	gostei ligeiramente
5	não gostei nem desgostei
4	desgostei ligeiramente
3	desgostei moderadamente
2	desgostei muito
1	desgostei extremamente
Nº da amostra	Valor
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

**Figura 3.2.** Ficha utilizada para o teste de aceitação de cor

### 3.8. ANÁLISE DOS RESULTADOS DE AVALIAÇÃO DE ESTABILIDADE

Os resultados dos experimentos com PVC e PET foram analisados por meio da utilização do programa *Statistica* (STATISTICA, 1995). Os resultados de cada resposta (a saber, índices de peróxido e índices de extinção específica a diferentes tempos de estocagem e diferença do controle aos seis meses de estocagem) obtida para cada tratamento foram computados, e obtiveram-se, a partir disso:

equações de regressão, análises de variância, estimativas dos efeitos principais das variáveis e de interação entre elas e curvas de contorno.

Modelos estatísticos de segunda ordem, contendo termos lineares, quadráticos e interações entre variáveis, foram obtidos. Os termos não significativos ( $p \leq 0,05$ ) foram eliminados do modelo, obtendo-se um novo modelo ajustado, contendo apenas os termos significativos. Os modelos foram avaliados em função dos valores do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) das regressões e dos níveis de significância dos valores de F das regressões e da falta de ajuste, obtidos a partir das análises de variância. Os valores de F foram comparados aos respectivos valores tabelados a 5%. O F da regressão deveria ser pelo menos quatro vezes maior que o F tabelado para ser considerado não apenas significativo como de alto poder preditivo, de acordo com o critério proposto por BOX & WETZ (1973). Por outro lado, a falta de ajuste do modelo deveria ser não significativa, ou seja, o F da falta de ajuste deveria ser inferior ao valor tabelado a 5%. No entanto, nos casos em que tanto a regressão quanto a falta de ajuste tenham sido significativas, procedeu-se à ANOVA modificada, em que se utilizou o quadrado médio (QM) da falta de ajuste ao invés do QM do resíduo total, para calcular o F da regressão, segundo o critério proposto por WASZCZYNSKYJ *et al.* (1981).

As curvas de contorno serviram de base para determinação das condições de máxima estabilidade do óleo. Foram determinadas, para cada resposta a ser considerada para fins de otimização, regiões em que os índices de oxidação foram mínimos após seis meses de estocagem.

Foram realizadas análises de correlação entre as diferentes respostas - índices de peróxido, índice de absorção a 232 nm e diferença do controle (esta última apenas ao final do tempo de estocagem).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE SOJA

Apresentam-se na Tabela 4.1 os parâmetros que caracterizam o óleo de soja utilizado neste trabalho, e na Tabela 4.2, sua composição em ácidos graxos. Os valores atendem às especificações recomendadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária para óleo de soja refinado (BRASIL, 1999b).

Da Tabela 4.1, vale ressaltar que o teor de tocoferóis do óleo (830  $\mu\text{g/g}$ ) foi superior à faixa considerada ótima para atividade antioxidante (FRANKEL, 1996). Outro dado importante é o índice de peróxido, que indicou baixo grau inicial de oxidação do óleo utilizado nos experimentos. A Tabela 4.2 indica que o óleo utilizado apresentou um grau de insaturação próximo a 78%, com predominância de ácidos graxos polinsaturados, razão de sua alta susceptibilidade à oxidação.

**Tabela 4.1.** Caracterização do óleo de soja utilizado nos experimentos.

MEDIDAS	VALORES QUANTIFICADOS
Índice de peróxidos	0,6 meq/kg
Índice de saponificação	192 mg KOH/g
Índice de acidez	0,021% (em ácido oleico)
Índice de iodo (Wijs)	128
Índice de refração (30°C)	1,467
Cor Lovibond (cubeta 5 ¼")	30,0 Y / 4,0 R (Y= <i>yellow</i> ; R = <i>red</i> )
Tocoferóis totais:	83 mg/100 g
Carotenos totais	6,0 ppm (expressos em $\beta$ -caroteno)

**Tabela 4.2.** Composição de ácidos graxos do óleo de soja utilizado no trabalho.

Ácido graxo	Teor (%)
Palmítico (C16:0)	10,77
Esteárico (C18:0)	3,59
Oleico (C18:1)	24,42
Linoleico (C18:2)	48,97
Linolênico (C18:3)	4,53
Araquídico (C20:0)	1,25
Outros	6,47
Saturados	15,61
Monoinsaturados	24,42
Polinsaturados	53,50

#### 4.2. CARACTERIZAÇÃO DAS EMBALAGENS

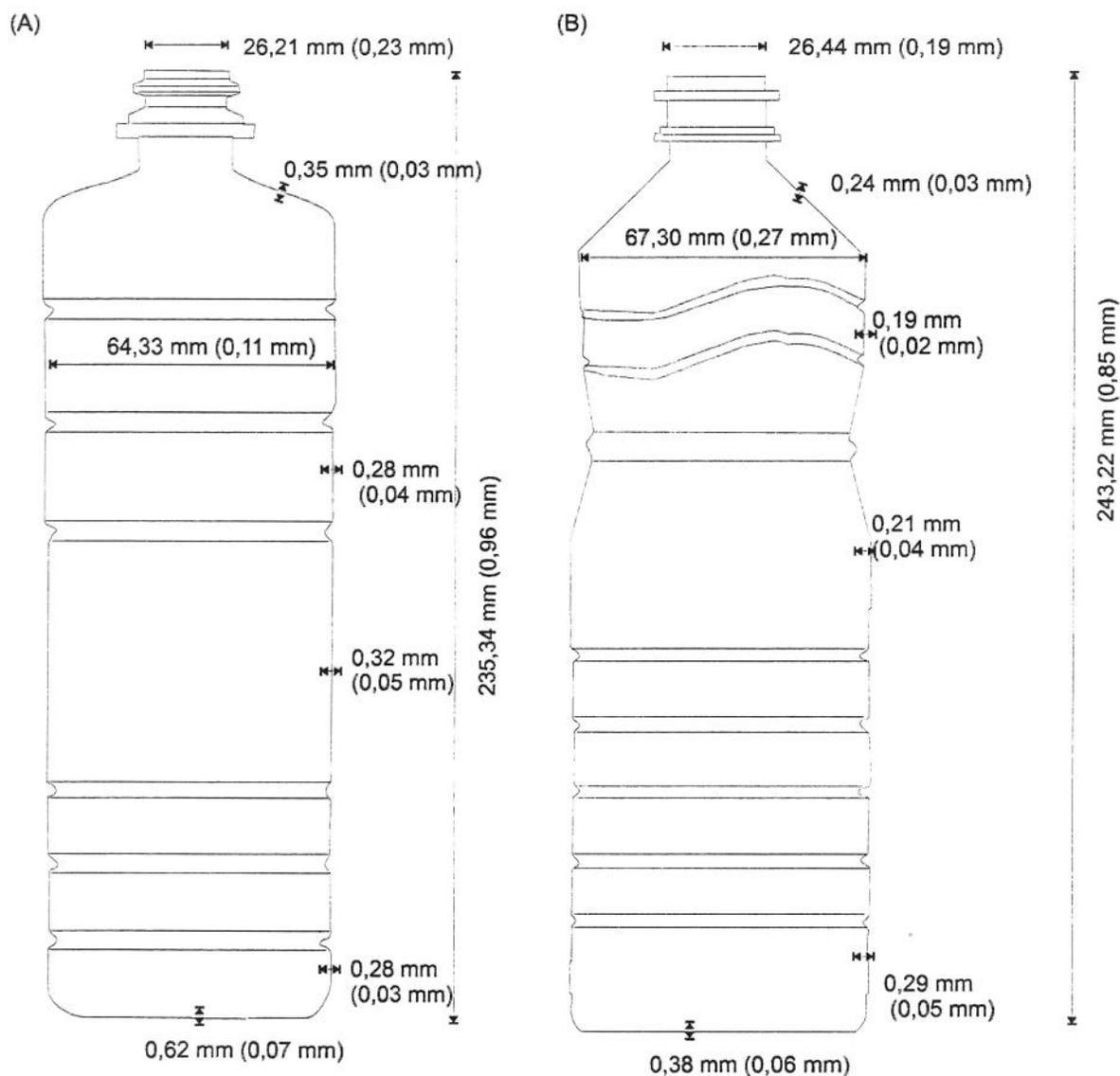
As medidas de peso, gramatura e capacidade volumétrica das garrafas utilizadas no presente estudo encontram-se na Tabela 4.3.

**Tabela 4.3.** Peso, gramatura e capacidade volumétrica das garrafas (\*).

DETERMINAÇÃO	PVC	PET
Peso (g)	33,20 ( $\pm$ 0,21)	26,98 ( $\pm$ 0,18)
Gramatura da parede ( $\text{g}/\text{m}^2$ )	445,88 ( $\pm$ 1,81)	315,85 ( $\pm$ 1,43)
Capacidade volumétrica (mL)	939,76 ( $\pm$ 2,04)	941,89 ( $\pm$ 1,92)

(\*) Valores dados como médias de 10 medidas ( $\pm$  desvio padrão).

A Figura 4.1 apresenta a caracterização dimensional das garrafas.



**Figura 4.1.** Caracterização dimensional das garrafas utilizadas. (A) PVC; (B) PET. Valores representados como média de 10 medidas (desvio padrão).

Os dados da Tabela 4.3, juntamente com a Figura 4.1, mostram que as garrafas de PET apresentaram menores valores de peso, gramatura da parede e espessuras. Em vista disso, esperou-se uma menor resistência mecânica das garrafas de PET; de fato, estas apresentaram nítida colapsagem desde o primeiro mês de estocagem do óleo.

A Tabela 4.4 apresenta as taxas de permeabilidade a vapor de água (TPVA) e  $O_2$  ( $TPO_2$ ) das garrafas de PVC e PET utilizadas. A TPVA das garrafas de PVC foi de 15% a 20% menor que as de PET, resultado este aparentemente discordante do obtido por GRUENWALD (1993). Entretanto, deve-se considerar, no presente trabalho, as maiores espessuras das garrafas de PVC em relação às de PET, o que provavelmente responde pela menor TPVA das garrafas de PVC.

Por outro lado, as garrafas de PVC apresentaram taxas de permeabilidade ao  $O_2$  ( $TPO_2$ ) superiores ao PET, indicando melhor barreira do PET, o que está de acordo com os resultados apresentados por ESPINOZA-ATENCIA (1995) e GRUENWALD (1993).

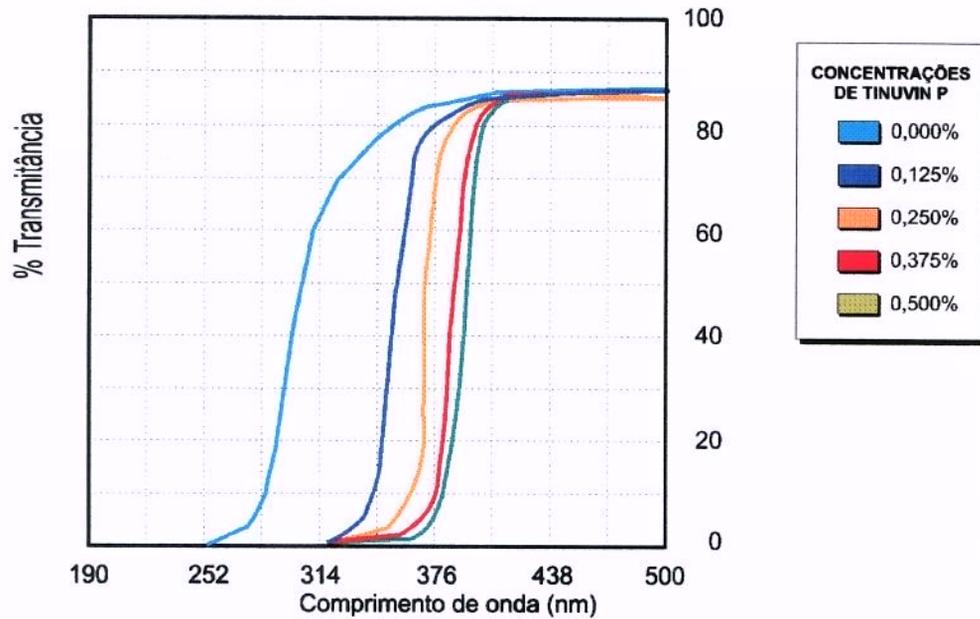
Observou-se que as medidas de  $TPO_2$  das garrafas de PVC sem tampa foram 18% maiores do que das de PET sem tampa. Essa diferença aumentou para 82% no caso dos sistemas garrafa + tampa, indicando melhor integridade do sistema de fechamento das garrafas de PET em relação às de PVC.

**Tabela 4.4.** Taxas de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e ao  $O_2$  ( $TPO_2$ ) das garrafas (\*).

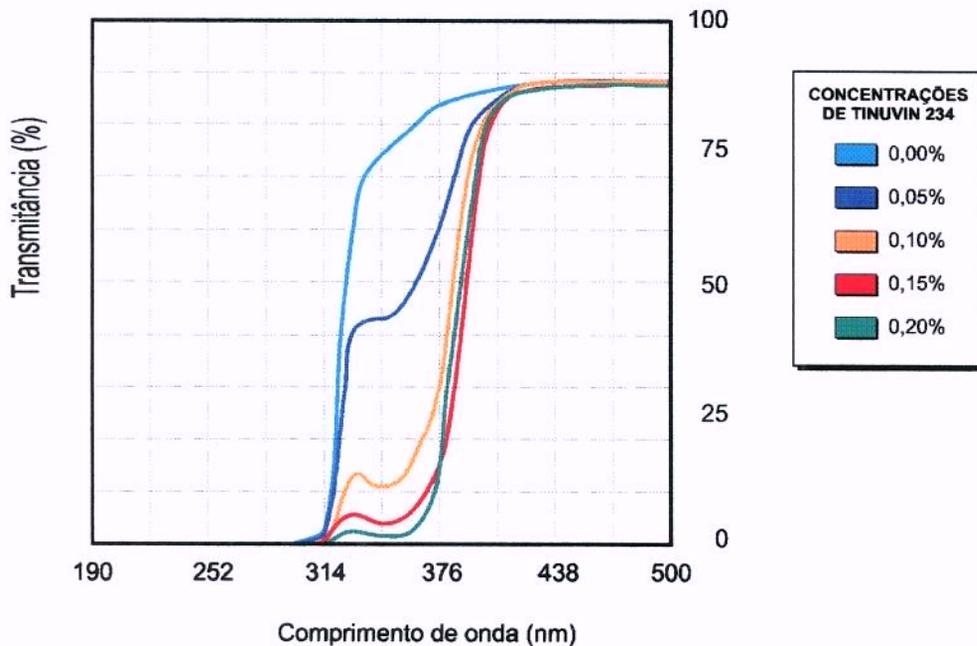
Determinação	PVC	PET	Taxas relativas (PVC/PET)
TPVA – 25°C, 75% UR	0,044	0,052	0,85
TPVA – 38°C, 90% UR	0,124	0,154	0,80
$TPO_2$ – garrafa – 25°C, 75% UR	0,140	0,119	1,18
$TPO_2$ – garrafa + tampa – 25°C, 75% UR	0,369	0,203	1,82

Unidades de TPVA: g / embalagem x dia. unidades de  $TPO_2$ :  $cm^3$  / embalagem x dia. (\*) Resultados tomados como média de duas medidas.

As Figuras 4.2 e 4.3 apresentam os espectros de transmissão de luz das garrafas de PVC e PET, com as diferentes concentrações utilizadas de Tinuvin P e Tinuvin 234, respectivamente.



**Figura 4.2.** Espectro de transmissão de luz das garrafas de PVC com as diferentes concentrações de Tinuvin P.



**Figura 4.3.** Espectro de transmissão de luz das garrafas de PET com as diferentes concentrações de Tinuvin 234.

Observa-se que, com o aumento da concentração dos absorvedores, há redução da transmitância dos materiais na faixa do UV. No entanto, com o aumento da concentração dos absorvedores, seu efeito tende a se aproximar de um limite máximo, pois nas maiores concentrações utilizadas, as curvas de transmissão são praticamente coincidentes. As Figuras 4.2 e 4.3 indicam que o PET, mesmo sem absorvedores, é um material de melhor absorção, funcionando como boa barreira aos raios UV situados até cerca de 314 nm, confirmando os resultados relatados por ESPINOZA-ATENCIA e FARIA (1994). Já o PVC sem adição de absorvedores mostrou-se boa barreira apenas a radiações situadas abaixo de cerca de 252 nm.

ESPINOZA-ATENCIA (1995) observou que, bloqueando-se radiações de comprimentos de onda inferiores a 455 nm, reduziu-se quase 50% da energia radiante prejudicial aos óleos. As Figuras 4.2 e 4.3 indicam que os materiais utilizados, mesmo com adição de absorvedores de UV, não atenderam a tal condição, já que, acima de 400 nm, a percentagem de transmitância de todas as garrafas foi superior a 80%.

A intensidade luminosa média recebida pelas amostras foi de 1720 lux, superior à máxima registrada na maioria dos supermercados em Campinas, segundo os dados apresentados por ESPINOZA-ATENCIA (1995).

### **4.3. MAXIMIZAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DE ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM GARRAFAS DE PVC**

#### **4.3.1. RESPOSTAS EXPERIMENTAIS**

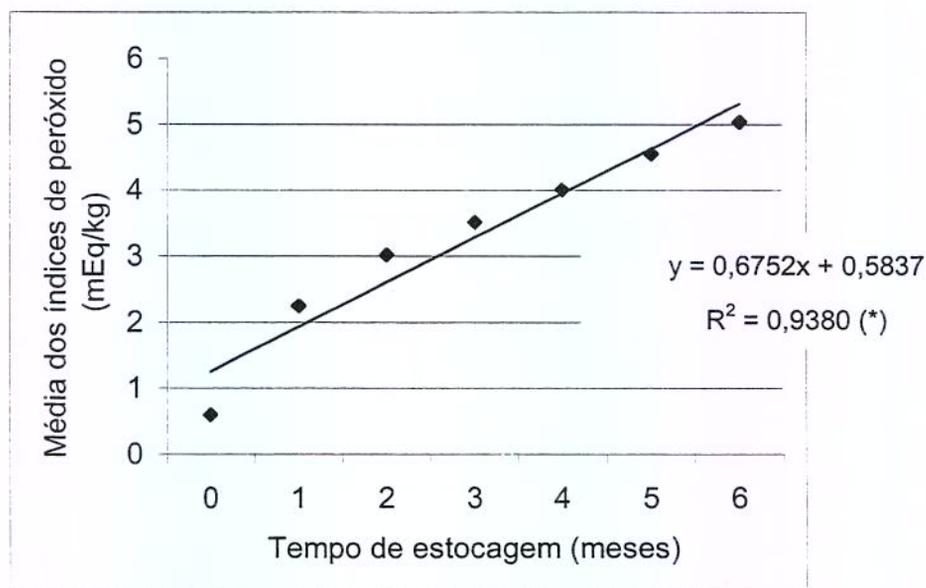
A Tabela 4.5 apresenta os resultados obtidos para os ensaios correspondentes ao experimento com PVC.

**Tabela 4.5.** Respostas experimentais dos tratamentos segundo delineamento composto central, para o grau de oxidação do óleo de soja acondicionado em PVC a 1720 lux, 25°C. IP<sub>i</sub>: índices de peróxido a i meses de estocagem; K<sub>i</sub>: coeficiente de extinção a 232 nm a i meses de estocagem; DC: diferença do controle a 6 meses de estocagem.

Tratamento*	IP <sub>1</sub>	IP <sub>2</sub>	IP <sub>3</sub>	IP <sub>4</sub>	IP <sub>5</sub>	IP <sub>6</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>	K <sub>4</sub>	K <sub>5</sub>	K <sub>6</sub>	DC
1	4,42	5,45	6,14	6,94	7,57	8,34	4,138	4,232	4,321	4,376	4,423	4,450	7,07
2	2,59	3,36	3,92	4,48	4,99	5,59	4,101	4,181	4,248	4,287	4,329	4,389	4,53
3	3,86	4,96	5,73	6,52	7,30	7,83	4,112	4,208	4,267	4,298	4,337	4,390	6,27
4	2,29	3,09	3,61	4,20	4,75	5,30	4,098	4,199	4,251	4,257	4,300	4,371	4,20
5	4,28	5,34	6,08	6,81	7,62	8,15	4,117	4,197	4,253	4,326	4,372	4,408	6,27
6	2,31	3,09	3,69	4,22	4,81	5,35	4,081	4,192	4,219	4,250	4,291	4,332	4,07
7	3,71	4,62	5,47	6,11	6,92	7,58	4,092	4,183	4,240	4,260	4,311	4,370	5,93
8	2,18	3,00	3,61	4,16	4,68	5,21	4,083	4,180	4,231	4,236	4,280	4,327	3,73
9	3,25	4,23	4,94	5,64	6,28	6,86	4,107	4,212	4,282	4,297	4,337	4,391	5,53
10	2,06	2,77	3,34	3,80	4,26	4,73	4,082	4,162	4,229	4,260	4,301	4,348	3,13
11	3,04	3,90	4,58	5,36	5,94	6,54	4,101	4,080	4,250	4,289	4,328	4,389	5,27
12	1,93	2,68	3,21	3,73	4,31	4,70	4,069	4,149	4,207	4,239	4,279	4,350	3,33
13	3,47	4,55	5,21	5,89	6,46	7,18	4,108	4,198	4,258	4,307	4,353	4,409	5,47
14	1,79	2,56	3,04	3,61	4,11	4,57	4,057	4,161	4,187	4,218	4,261	4,307	3,33
15	2,87	3,82	4,45	5,19	5,85	6,44	4,097	4,210	4,240	4,320	4,350	4,410	4,73
16	1,59	2,35	2,89	3,39	3,93	4,35	4,050	4,149	4,201	4,240	4,279	4,322	3,53
17	4,34	5,30	6,01	6,70	7,42	7,90	4,148	4,228	4,299	4,396	4,442	4,487	6,67
18	1,93	2,65	3,19	3,71	4,20	4,64	4,060	4,127	4,268	4,269	4,321	4,368	3,53
19	2,62	3,40	3,98	4,47	5,03	5,43	4,090	4,180	4,240	4,280	4,297	4,360	4,60
20	2,44	3,09	3,60	4,11	4,59	5,10	4,108	4,202	4,232	4,297	4,340	4,401	4,00
21	2,67	3,42	3,96	4,48	5,00	5,46	4,120	4,223	4,261	4,316	4,361	4,432	4,24
22	2,43	3,15	3,64	4,16	4,65	5,14	4,111	4,209	4,262	4,307	4,352	4,421	3,47
23	3,23	3,99	4,58	5,18	5,76	6,22	4,127	4,220	4,269	4,310	4,368	4,431	4,87
24	2,01	2,74	3,29	3,79	4,30	4,79	4,080	4,181	4,243	4,270	4,319	4,389	3,67
25 (C)	2,27	2,98	3,51	4,03	4,55	5,05	4,109	4,198	4,260	4,296	4,340	4,400	3,60
26 (C)	2,23	3,01	3,53	3,98	4,57	5,00	4,102	4,207	4,254	4,277	4,321	4,372	3,80
27 (C)	2,22	3,04	3,59	4,08	4,61	5,05	4,105	4,194	4,267	4,330	4,365	4,398	3,67
28 (C)	2,30	3,07	3,49	4,02	4,53	4,99	4,110	4,200	4,262	4,308	4,349	4,409	3,60
29 (C)	2,23	3,00	3,47	3,97	4,51	5,08	4,099	4,193	4,253	4,297	4,344	4,399	3,73

### 4.3.2. AVALIAÇÃO DOS MODELOS

A Figura 4.4 apresenta a evolução das médias dos índices de peróxido (IP) com o decorrer do tempo de estocagem. O valor de  $R^2$  da regressão linear foi alto a  $p \leq 0,05$ , permitindo concluir que a variação do IP apresentou um comportamento linear em função do tempo. Segundo os pontos experimentais, a taxa de oxidação foi maior no início do período de estocagem, que decresceu após cerca de 2 meses, mantendo-se a partir daí aproximadamente constante. Esse comportamento provavelmente se explica pela disponibilidade de  $O_2$ , requerido para oxidação do óleo. O  $O_2$  presente no óleo pode ter as seguintes origens: dissolvido no óleo, disponível no espaço livre ou difundido através da embalagem (LEO, 1983). No início da estocagem, havia maior disponibilidade de  $O_2$  proveniente das três origens; com o decorrer do tempo, o  $O_2$  dissolvido e o do espaço livre foram gradativamente consumidos, reduzindo-se assim as taxas de reação.



**Figura 4.4.** Evolução das médias do índice de peróxido em função do tempo de estocagem do óleo de soja acondicionado em PVC. (\*)  $p \leq 0,05$ .

Os coeficientes de regressão dos modelos referentes aos índices de peróxido (IP) estão apresentados na Tabela 4.6. Os valores de  $R^2$  foram todos superiores a 0,93, ou seja, pelo menos 93% da variação total do IP foi explicada pelos modelos, mesmo quando retirados os termos não significativos.

**Tabela 4.6.** Coeficientes de regressão dos modelos para índices de peróxido (IP) de óleo de soja acondicionado em PVC IP<sub>i</sub>; IP a i meses de estocagem.

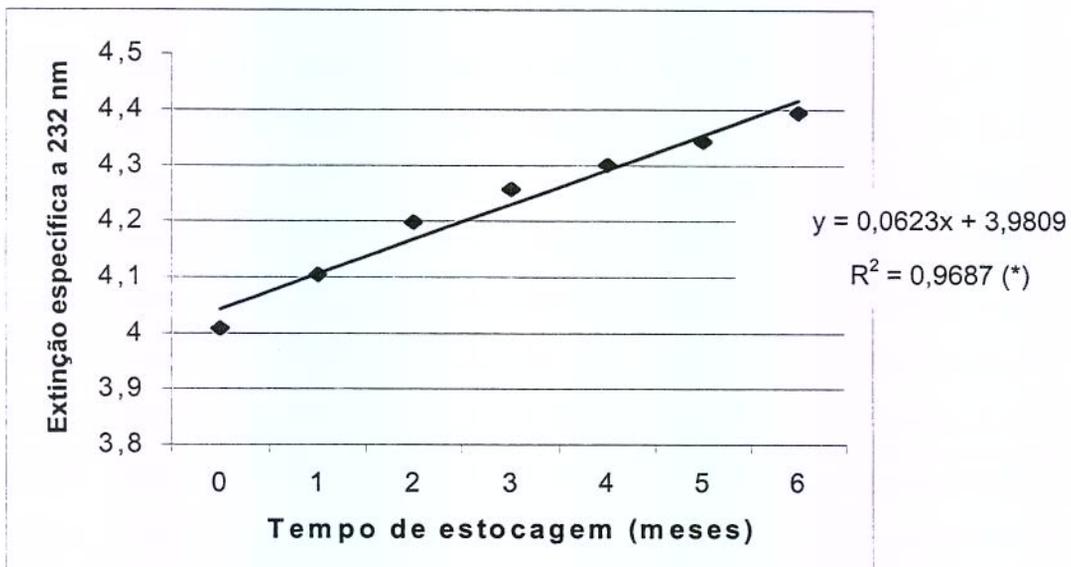
FATOR	COEFICIENTES DE REGRESSÃO					
	IP <sub>1</sub>	IP <sub>2</sub>	IP <sub>3</sub>	IP <sub>4</sub>	IP <sub>5</sub>	IP <sub>6</sub>
Média	2,2500	3,0200	3,5180	4,0160	4,5540	5,0340
X <sub>1</sub> (L)	-0,7078	-0,8025	-0,8726	-0,9520	-1,0228	-1,0683
X <sub>1</sub> (Q)	0,2450	0,2833	0,3268	0,3686	0,3960	0,4066
X <sub>2</sub> (L)	-0,1276	-0,1471	-0,1487	-0,1439	-0,1376	-0,1444
X <sub>2</sub> (Q)	0,0938	0,1008	0,1243	0,1398	0,1460	0,1554
X <sub>3</sub> (L)	-0,0717	-0,0685	-0,0696	-0,0807	-0,0723	-0,0708
X <sub>3</sub> (Q)	0,0988	0,1108	0,1268	0,1473	0,1498	0,1641
X <sub>4</sub> (L)	-0,3366	-0,3561	-0,3812	-0,4005	-0,4346	-0,4513
X <sub>4</sub> (Q)	0,1168	0,1312	0,1600	0,1887	0,2015	0,2147
X <sub>1</sub> (L) x X <sub>2</sub> (L)	0,0740	0,1004	0,0924	0,0919	0,0884	0,0919
X <sub>1</sub> (L) x X <sub>3</sub> (L)	-0,0468	-0,0426	-0,0420	-0,0223	-0,0346	-0,0388
X <sub>1</sub> (L) x X <sub>4</sub> (L)	0,1030	0,1051	0,1189	0,1104	0,1416	0,1113
X <sub>2</sub> (L) x X <sub>3</sub> (L)	-0,0191	-0,0359	-0,0249	-0,0404	-0,0519	-0,0326
X <sub>2</sub> (L) x X <sub>4</sub> (L)	0,0264	0,0119	0,0005	0,0121	0,0164	0,0116
X <sub>3</sub> (L) x X <sub>4</sub> (L)	0,0076	0,0314	0,0044	0,0248	0,0096	0,0300
<i>R</i> <sup>2</sup> (modelo completo)	0,9772	0,9649	0,9581	0,9488	0,9463	0,9307
<i>R</i> <sup>2</sup> (modelo ajustado)	0,9768	0,9648	0,9577	0,9482	0,9461	0,9307

Termos em negrito: significativos ( $p \leq 0,05$ ); L = linear; Q = quadrático; X<sub>1</sub> = concentração de TBHQ; X<sub>2</sub> = concentração de  $\beta$ -caroteno; X<sub>3</sub> = concentração de ácido cítrico; X<sub>4</sub> = concentração de Tinuvin 234;  $R^2$  = coeficiente de determinação.

Cada parâmetro apresentou valores semelhantes para diferentes tempos de estocagem, indicando tendências similares dos modelos, o que se esperava, já que os modelos diferiram entre si apenas pelo tempo de estocagem.

Os modelos ajustados serviram de base para as análises de variância (ANEXO 1). Todas as regressões foram significativas ( $p \leq 0,05$ ). Entretanto, os modelos apresentaram também falta de ajuste significativa; assim, conforme proposto por WASZCZYNSKYJ *et al.* (1981), procedeu-se à Anova modificada. Ainda assim, todos os modelos apresentaram alto poder preditivo ( $p \leq 0,05$ ).

A Figura 4.5 indica o comportamento das médias da extinção específica a 232 nm (K) com o decorrer do tempo de estocagem. Houve um aumento linear nesta resposta com o tempo, com alto valor de  $R^2$  ( $p \leq 0,05$ ), indicando que, apesar dos modelos terem mostrado baixo poder preditivo das variações de K em função das concentrações de aditivos, possivelmente essa resposta apresentou boa sensibilidade às variações do produto em função do tempo de estocagem.



**Figura 4.5.** Comportamento do coeficiente de extinção específica médio a 232 nm em função do tempo de estocagem do óleo de soja em PVC. (\*)  $p \leq 0,05$ .

A Tabela 4.7 apresenta os coeficientes de regressão dos modelos para a extinção específica a diferentes tempos de estocagem. Muitos parâmetros não foram significativos. Os valores de  $R^2$ , especialmente dos modelos ajustados, foram baixos, indicando que os modelos não explicam as variações dos resultados tão adequadamente quanto os obtidos para os índices de peróxido.

**Tabela 4.7.** Coeficientes de regressão dos modelos para extinção específica a 232 nm (K), para o experimento com PVC.  $K_i$ : K a i meses de estocagem.

FATOR	COEFICIENTES					
	$K_1$	$K_2$	$K_3$	$K_4$	$K_5$	$K_6$
Média	<b>4,1040</b>	<b>4,1980</b>	<b>4,2580</b>	<b>4,3013</b>	<b>4,3440</b>	<b>4,3958</b>
$X_1$	<b>-0,0183</b>	<b>-0,0146</b>	<b>-0,0162</b>	<b>-0,0307</b>	<b>-0,0304</b>	<b>-0,0296</b>
$X_1^2$	-0,0018	<b>-0,0071</b>	0,0041	0,0034	0,0041	0,0022
$X_2$	-0,0025	<b>-0,0054</b>	<b>-0,0054</b>	-0,0062	-0,0046	-0,0012
$X_2^2$	<b>-0,0031</b>	<b>-0,0046</b>	<b>-0,0084</b>	-0,0078	<b>-0,0109</b>	<b>-0,0103</b>
$X_3$	<b>-0,0058</b>	0,0013	<b>-0,0096</b>	-0,0068	-0,0071	<b>-0,0087</b>
$X_3^2$	0,0007	0,0016	-0,0021	-0,0020	-0,0021	0,0010
$X_4$	<b>-0,0100</b>	<b>-0,0137</b>	<b>-0,0096</b>	-0,0084	<b>-0,0104</b>	-0,0080
$X_4^2$	-0,0018	-0,0021	-0,0034	-0,0073	-0,0046	-0,0028
$X_1 \times X_2$	0,0038	<b>0,0094</b>	<b>0,0069</b>	0,0060	0,0069	0,0057
$X_1 \times X_3$	-0,0025	-0,0044	0,0019	-0,0031	-0,0031	-0,0093
$X_1 \times X_4$	-0,0037	-0,0006	-0,0044	-0,0019	-0,0006	-0,0043
$X_2 \times X_3$	0,0000	<b>0,0069</b>	0,0056	0,0060	0,0056	0,0031
$X_2 \times X_4$	0,0012	<b>-0,0069</b>	-0,0006	0,0122	0,0106	0,0081
$X_3 \times X_4$	0,0025	<b>0,0119</b>	0,0044	0,0089	0,0081	0,0081
$R^2$ (modelo completo)	0,8406	0,6215	0,7918	0,8018	0,7806	0,7383
$R^{2*}$ (modelo ajustado)	0,7588	0,6013	0,6838	0,5224	0,6181	0,5909

Termos em negrito: significativos ( $p \leq 0,05$ ); L = linear; Q = quadrático;  $X_1$  = concentração de TBHQ;  $X_2$  = concentração de  $\beta$ -caroteno;  $X_3$  = concentração de ácido cítrico;  $X_4$  = concentração de Tinuvin 234;  $R^2$  = coeficiente de determinação dos modelos.

Como o ajuste dos modelos resultou em grande redução dos valores de  $R^2$ , as análises de variância (ANEXO 2) foram feitas sobre os modelos completos. A regressão referente a  $K_2$  não foi significativa; as demais foram significativas, mas com baixo poder preditivo. Assim, conclui-se que os modelos para extinção específica não foram tão preditivos quanto os referentes a índices de peróxido.

A Tabela 4.8 apresenta os coeficientes de regressão do modelo referente à Diferença do Controle, após 6 meses de estocagem do óleo acondicionado em PVC. Apenas um termo da regressão (a interação  $X_2 \times X_3$ ) não foi significativo ( $p \leq 0,05$ ). O modelo apresentou um valor de  $R^2$  bastante satisfatório (0,95) a  $p \leq 0,05$ .

**Tabela 4.8.** Coeficientes de regressão do modelo referente à diferença do controle, aos 6 meses de estocagem, do óleo de soja acondicionado em PVC.

FATOR	COEFICIENTES
Média	3,6800
$X_1$	-0,9571
$X_1^2$	0,4205
$X_2$	-0,1504
$X_2^2$	0,2205
$X_3$	-0,1588
$X_3^2$	0,1093
$X_4$	-0,4229
$X_4^2$	0,2130
$X_1 \times X_2$	0,1169
$X_1 \times X_3$	0,0756
$X_1 \times X_4$	0,0831
$X_2 \times X_3$	-0,0019
$X_2 \times X_4$	0,0756
$X_3 \times X_4$	0,1169
<i><math>R^2</math> (modelo completo e ajustado)</i>	0,9544

Termos em negrito: significativos ( $p \leq 0,05$ ); L = linear; Q = quadrático;  $X_1$  = concentração de TBHQ;  $X_2$  = concentração de  $\beta$ -caroteno;  $X_3$  = concentração de ácido cítrico;  $X_4$  = concentração de Tinuvin 234;  $R^2$  = coeficiente de determinação.

A Tabela de ANOVA apresenta-se no ANEXO 3. Como a falta de ajuste foi significativa ( $p \leq 0,05$ ), procedeu-se à ANOVA modificada. Ainda assim, o valor de F da regressão se apresentou quase oito vezes superior ao valor tabelado. Portanto, pode-se afirmar que o modelo é significativo e altamente preditivo do grau de oxidação do produto em função das concentrações dos aditivos utilizados.

#### 4.3.3. CORRELAÇÕES ENTRE AS RESPOSTAS

Testes de correlação de Pearson entre as respostas objetivas (IP e K) e a resposta sensorial, aos seis meses de estocagem, mostraram os resultados apresentados nas equações 4.1 e 4.2, respectivamente.

$$IP_6 = 1,0578 DC + 1,0766 \quad r = 0,9777 \quad (4.1)$$

$$K_6 = 0,0198 DC + 4,2987 \quad r = 0,5625 \quad (4.2)$$

Houve muito boa correlação entre o índice de peróxido e a avaliação sensorial (diferença do controle), o que está de acordo com os resultados obtidos por SATTAR *et al.* (1976b), ODUMOSU *et al.* (1979), WARNER e NELSEN (1996). Entretanto, a correlação entre a extinção específica a 232 nm e a diferença do controle foi baixa, confirmando os resultados obtidos por HILST (1999). Por outro lado, ESPINOZA-ATENCIA (1995) e HAHM & MIN (1995) obtiveram resultados favoráveis à utilização da extinção específica como medida da oxidação de óleos.

Combinando-se os baixos valores de  $R^2$  e F dos modelos para extinção específica à baixa correlação desta com a avaliação sensorial, conclui-se que os modelos referentes à extinção específica apresentaram baixo poder preditivo do grau de oxidação do óleo de soja. Como possíveis explicações para isso, o método pode não ter sido uma boa medida do grau de oxidação do óleo, ou o modelo

utilizado pode não ter sido o ideal para explicar as variações nessa resposta. Portanto, daqui em diante, as discussões dos resultados foram baseadas somente nas respostas IP e DC, que apresentaram modelos com alto poder de predição.

Os coeficientes de correlação entre as respostas IP e DC estão apresentadas no ANEXO 4, tendo sido todos positivos e significativos ( $p \leq 0,05$ ), indicando alta correlação entre as respostas.

Segundo a Equação 4.1, uma diferença do controle de 4 (“moderadamente diferente do controle”) corresponde a um índice de peróxido de 5,3 meq/kg. Portanto, apesar de a legislação (BRASIL, 1999b) adotar o índice de peróxido de 10,0 meq/kg como máximo aceitável para óleo de soja, observou-se que, segundo a opinião de provadores treinados, valores bem inferiores produziram diferença “moderada”. Tal observação indica que o valor estabelecido como limite pela legislação deve ser visto com um certo cuidado, e possivelmente revisto por empresas preocupadas em manter uma boa imagem frente aos consumidores.

De fato, os resultados obtidos por SOLER *et al.* (1986), que avaliaram a estabilidade de óleo de soja acondicionado em diferentes tipos de embalagens, indicam que, em muitos casos, o produto foi rejeitado por mais de 50% dos avaliadores antes que o índice de peróxido atingisse o valor de 10,0 meq/kg.

#### 4.3.4. EFEITOS PRINCIPAIS E DE INTERAÇÕES

A Tabela 4.9 apresenta os efeitos principais e de interações das variáveis independentes sobre as respostas IP e DC, após 6 meses de estocagem. Todos os efeitos principais foram negativos, ou seja, todas as variáveis, individualmente, apresentaram tendência a reduzir os valores das respostas. Em outras palavras, todos os aditivos apresentaram efeito antioxidante, o que já era esperado.

O teor de TBHQ foi a variável de maior efeito sobre as respostas, dentro dos intervalos estudados. Um aumento na concentração de TBHQ de -1 a 1 (níveis codificados), que corresponde a um aumento de 50 para 150 ppm, resultou em uma redução média de 2,14 meq/kg no índice de peróxido, e de 1,91 pontos na escala de diferença do controle. A segunda variável de maior efeito foi a concentração de Tinuvin P. Um aumento no teor de Tinuvin P de 0,125% para 0,375% resultou em redução média de 0,90 meq/kg no índice de peróxido, e de 0,85 pontos na escala de diferença do controle. A maior parte dos efeitos de interação foram significativos, com exceção da interação  $X_2 \times X_4$  para  $IP_6$  e da interação  $X_2 \times X_3$  para DC.

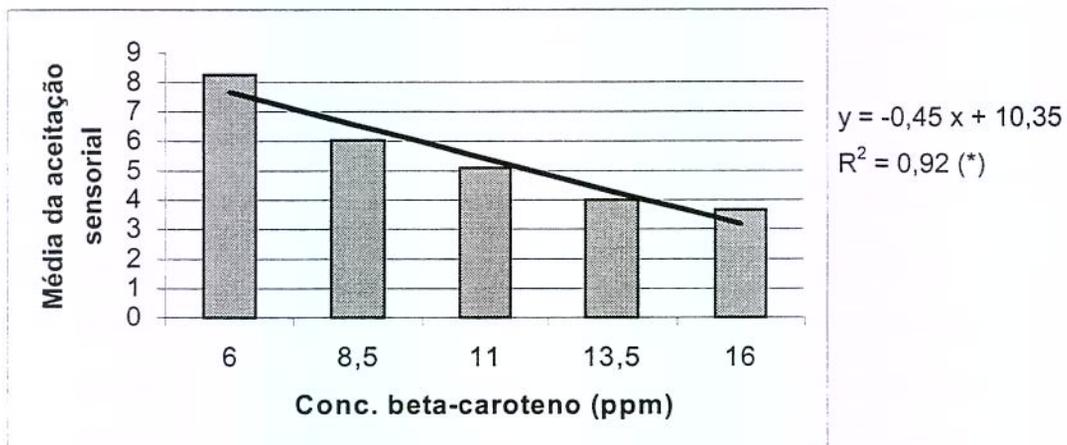
**Tabela 4.9.** Efeitos principais e de interações das variáveis sobre as respostas após seis meses de estocagem do óleo de soja acondicionado em PVC.

FATOR	IP <sub>6</sub>		DC	
	EFEITO	Erro padrão	EFEITO	Erro padrão
Média	<b>5,81</b>	<b>0,007</b>	<b>4,48</b>	<b>0,016</b>
(1) TBHQ	<b>-2,14</b>	<b>0,015</b>	<b>-1,91</b>	<b>0,035</b>
(2) β-caroteno	<b>-0,29</b>	<b>0,015</b>	<b>-0,30</b>	<b>0,035</b>
(3) ácido cítrico	<b>-0,14</b>	<b>0,015</b>	<b>-0,32</b>	<b>0,035</b>
(4) Tinuvin P	<b>-0,90</b>	<b>0,015</b>	<b>-0,85</b>	<b>0,035</b>
1L por 2L	<b>0,18</b>	<b>0,019</b>	<b>0,23</b>	<b>0,043</b>
1L por 3L	<b>-0,08</b>	<b>0,019</b>	<b>0,15</b>	<b>0,043</b>
1L por 4L	<b>0,22</b>	<b>0,019</b>	<b>0,17</b>	<b>0,043</b>
2L por 3L	<b>-0,07</b>	<b>0,019</b>	0,00	0,043
2L por 4L	0,02	0,019	<b>0,15</b>	<b>0,043</b>
3L por 4L	<b>0,06</b>	<b>0,019</b>	<b>0,23</b>	<b>0,043</b>

Termos em negrito: significativos ( $p \leq 0,05$ ); L = linear; IP<sub>6</sub> = índice de peróxido após 6 meses de estocagem; DC = diferença do controle após 6 meses de estocagem.

#### 4.3.5. TESTE DE ACEITAÇÃO DE COR

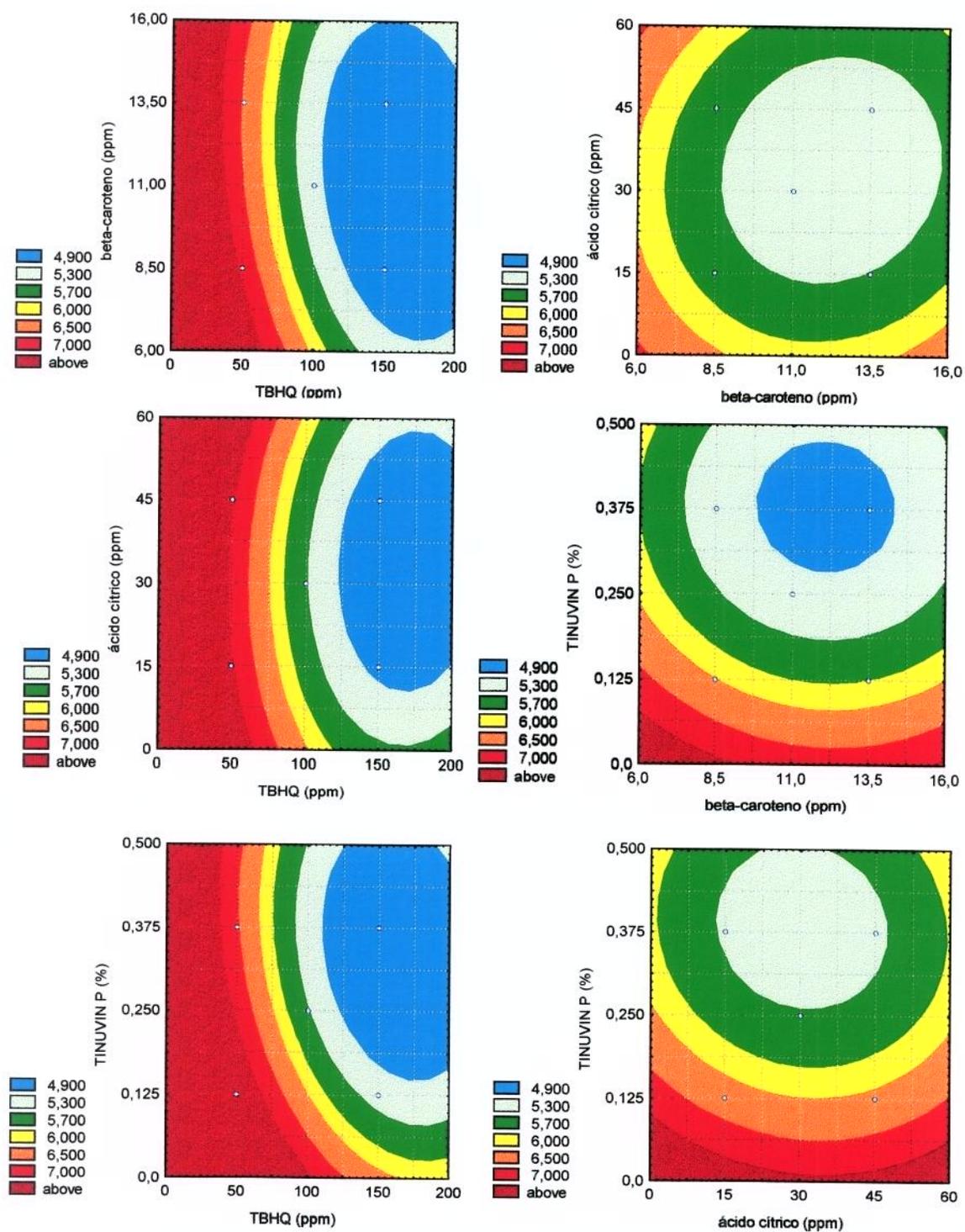
A Figura 4.6 apresenta o resultado do teste de aceitação do óleo em função dos teores de  $\beta$ -caroteno, indicando que este composto reduziu linearmente a aceitação do produto. O gráfico indica que, para manter valores de aceitação acima de 5 (“não gostei nem desgostei”), devem-se evitar concentrações de  $\beta$ -caroteno acima de 11 ppm. Estes resultados confirmam os encontrados por WARNER & FRANKEL (1987), segundo os quais, em concentrações superiores a 10 ppm de  $\beta$ -caroteno, a qualidade visual do óleo foi considerada ruim. Conclui-se, portanto, que os consumidores preferiram um óleo mais transparente, reafirmando a importância do efeito mercadológico das embalagens transparentes em relação às latas.



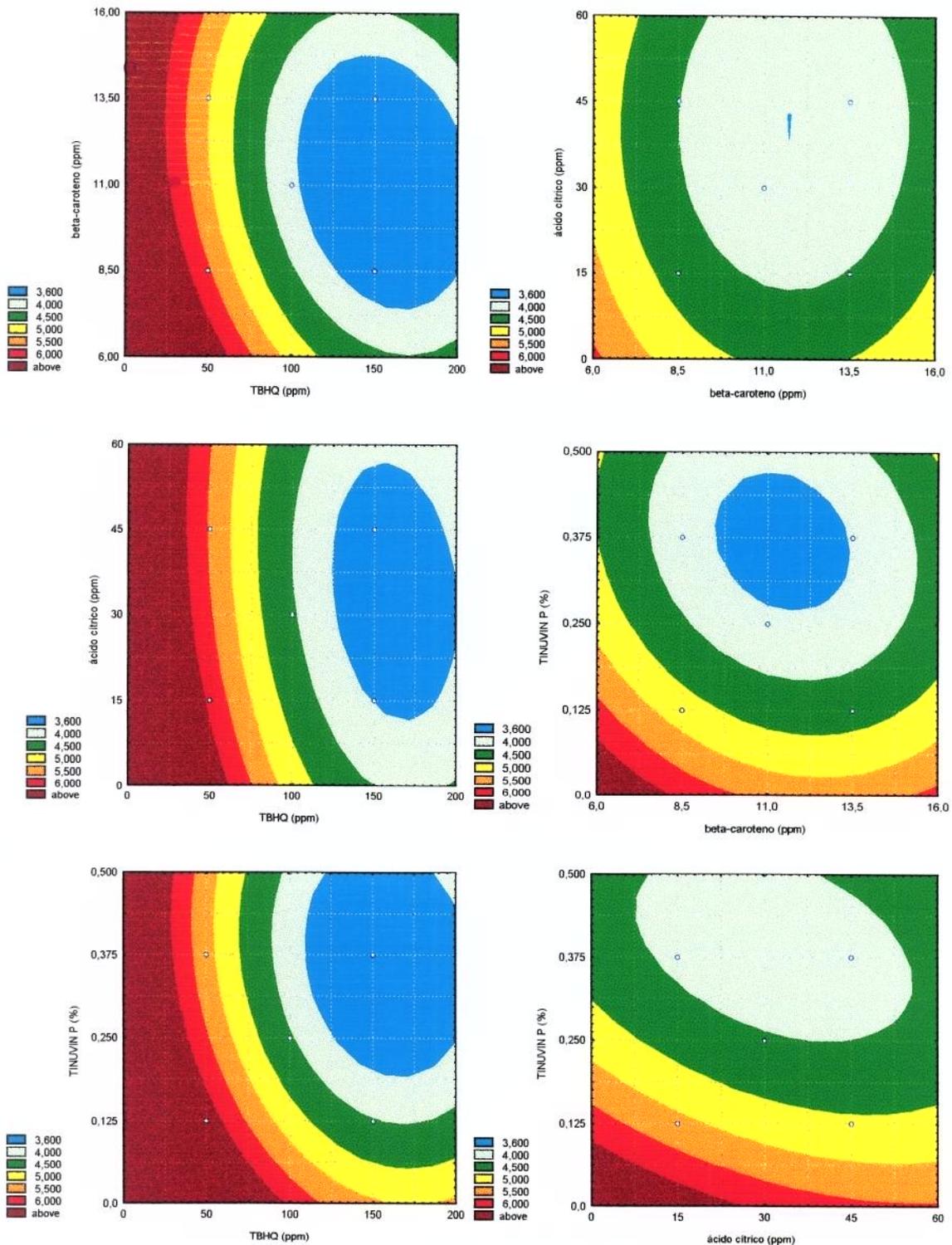
**Figura 4.6.** Efeito da concentração de  $\beta$ -caroteno sobre a aceitação do óleo de soja, em escala estruturada de 1 (“desgostei extremamente”) a 9 (“gostei extremamente”). (\*)  $p \leq 0,05$

#### 4.3.6. CURVAS DE CONTORNO

Foram geradas as curvas de contorno das respostas após 6 meses de estocagem, apresentadas nas Figuras 4.7 e 4.8.



**Figura 4.7.** Curvas de contorno referentes aos índices de peróxido do óleo de soja após seis meses de estocagem em garrafas de PVC, expostas a 1720 lux e 25°C.



**Figura 4.8.** Curvas de contorno referentes às diferenças do controle do óleo de soja após seis meses de estocagem em garrafas de PVC, expostas a 1720 lux e 25°C.

#### 4.3.7. DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE MÁXIMA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO ACONDICIONADO EM PVC

A determinação das condições de máxima estabilidade do produto baseou-se principalmente na diferença do controle, mais importante do ponto de vista da oxidação do que as medidas objetivas (WARNER, 1985). Realizou-se o teste de Dunnett sobre os resultados, a fim de comparar cada tratamento com o controle. Todos os tratamentos diferiram significativamente do controle ( $p \leq 0,05$ ); assim, o teste de Dunnett não forneceu um valor que se pudesse utilizar como limite a partir do qual a diferença do controle fosse considerada significativa. Adotou-se então o valor 4 (“moderadamente diferente do controle”) como um limite “aceitável” de diferença do controle, por ser o ponto central da escala.

Analisando-se as curvas de contorno referentes à diferença do controle (Figura 4.8), e considerando-se o valor de 11 ppm como a concentração máxima de  $\beta$ -caroteno (com base nos resultados do teste de aceitação), as seguintes faixas de concentração dos aditivos permitiram que se obtivesse uma diferença do controle inferior a “moderada”:

- TBHQ: 125-200 ppm
- $\beta$ -caroteno: 8 -11 ppm
- Ácido cítrico: 15 - 60 ppm
- Tinuvin P: 0,2 - 0,5%

As condições que permitiram máxima estabilidade do produto acondicionado em PVC (considerando-se novamente o teor máximo de  $\beta$ -caroteno de 11 ppm) foram as seguintes:

- TBHQ: 150-200 ppm
- $\beta$ -caroteno: 8,5 –11,0 ppm
- Ácido cítrico: 20 - 40 ppm
- Tinuvin P: 0,25 - 0,43%

Sob estas condições, o produto se manteve com diferença do controle inferior a 3,6 pontos na escala utilizada e índice de peróxido inferior a 4,9 meq/kg, durante o período de estocagem de seis meses a 25°C.

#### **4.4. MAXIMIZAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DE ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM GARRAFAS DE PET**

##### **4.4.1. RESULTADOS EXPERIMENTAIS**

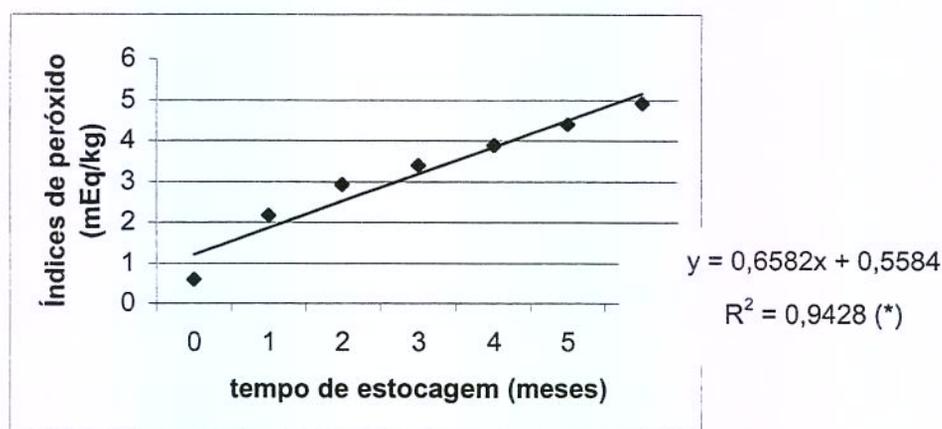
A Tabela 4.10 apresenta os resultados obtidos para os vários ensaios correspondentes ao experimento com PET.

**Tabela 4.10.** Respostas experimentais para o grau de oxidação do óleo de soja acondicionado em PET, a 1720 lux, 25°C. Tratamentos segundo delineamento composto central. IPi: índices de peróxido a i meses de estocagem; Ki: coeficiente de extinção a 232 nm a i meses de estocagem; DC: diferença do controle a 6 meses de estocagem.

Tratamento	IP <sub>1</sub>	IP <sub>2</sub>	IP <sub>3</sub>	IP <sub>4</sub>	IP <sub>5</sub>	IP <sub>6</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>	K <sub>4</sub>	K <sub>5</sub>	K <sub>6</sub>	DC
1	3,97	4,90	5,52	6,24	6,80	7,26	4,081	4,170	4,259	4,314	4,357	4,387	5,53
2	2,42	3,14	3,66	4,19	4,55	4,79	4,040	4,121	4,207	4,226	4,269	4,327	3,73
3	3,80	4,88	5,64	6,41	7,19	7,85	4,060	4,150	4,228	4,236	4,278	4,326	6,27
4	2,34	2,92	3,48	4,00	4,31	4,54	4,042	4,138	4,190	4,197	4,237	4,308	3,67
5	3,84	4,80	5,46	6,12	6,69	7,11	4,061	4,140	4,176	4,265	4,308	4,347	5,27
6	2,16	2,89	3,45	3,95	4,49	4,88	4,019	4,131	4,180	4,190	4,229	4,269	3,73
7	3,64	4,54	5,37	6,01	6,48	6,91	4,032	4,123	4,182	4,200	4,246	4,308	5,27
8	2,23	3,07	3,59	3,98	4,35	4,68	4,007	4,121	4,171	4,177	4,219	4,269	3,13
9	3,28	4,27	4,99	5,57	6,35	6,99	4,049	4,148	4,219	4,236	4,277	4,328	5,13
10	2,17	2,91	3,51	3,88	4,22	4,42	4,022	4,101	4,170	4,200	4,239	4,286	3,33
11	3,14	4,03	4,73	5,39	6,14	6,75	4,043	4,082	4,145	4,229	4,266	4,328	4,87
12	2,07	2,77	3,33	3,67	3,97	4,28	4,012	4,091	4,150	4,177	4,218	4,287	3,13
13	3,51	4,60	5,27	5,95	6,53	6,92	4,054	4,138	4,200	4,245	4,286	4,347	5,47
14	1,88	2,69	3,20	3,79	4,32	4,72	4,002	4,101	4,131	4,158	4,201	4,251	3,47
15	2,97	3,95	4,59	5,36	6,04	6,65	4,041	4,149	4,239	4,259	4,288	4,346	5,27
16	1,71	2,52	3,10	3,64	4,22	4,57	3,994	4,091	4,140	4,180	4,229	4,259	3,00
17	4,04	4,94	5,59	6,23	6,91	7,63	4,091	4,167	4,187	4,333	4,377	4,426	5,93
18	1,87	2,57	3,09	3,59	4,06	4,66	4,002	4,071	4,209	4,209	4,272	4,308	3,53
19	2,54	3,29	3,85	4,46	4,87	5,48	4,031	4,121	4,180	4,219	4,261	4,299	4,00
20	2,41	3,08	3,72	4,25	4,75	5,27	4,052	4,138	4,170	4,236	4,293	4,338	3,53
21	2,58	3,31	3,83	4,34	4,84	5,39	4,061	4,160	4,198	4,255	4,314	4,367	4,40
22	2,35	3,05	3,52	4,03	4,51	5,08	4,053	4,151	4,208	4,245	4,304	4,356	3,80
23	2,65	3,27	3,75	4,25	4,73	5,31	4,071	4,157	4,200	4,249	4,308	4,368	3,80
24	2,16	2,86	3,33	3,83	4,27	4,76	4,024	4,121	4,176	4,209	4,272	4,325	3,13
25 (C)	2,20	2,88	3,40	3,90	4,40	4,93	4,052	4,141	4,200	4,236	4,293	4,340	3,73
26 (C)	2,16	2,91	3,42	3,85	4,42	4,95	7,043	4,150	4,191	4,216	4,272	4,311	3,67
27 (C)	2,15	2,94	3,48	3,95	4,46	4,96	4,039	4,131	4,208	4,269	4,308	4,336	3,80
28 (C)	2,23	2,97	3,38	3,89	4,39	4,90	4,052	4,140	4,201	4,245	4,289	4,347	3,73
29 (C)	2,16	2,90	3,36	3,84	4,37	4,94	4,042	4,133	4,190	4,236	4,278	4,337	3,60

#### 4.4.2. AVALIAÇÃO DOS MODELOS

A Figura 4.9 apresenta a evolução das médias dos índices de peróxido em função do tempo de estocagem. A regressão linear produziu um alto coeficiente de determinação a  $p \leq 0,05$ , podendo-se concluir que o índice de peróxido variou linearmente com o tempo. Assim como observado no experimento com PVC, houve redução da declividade do gráfico no primeiro mês de estocagem, devido provavelmente ao consumo do  $O_2$  residual contido nas garrafas. No experimento com PET, isso foi evidenciado pela colapsagem das garrafas, efeito perceptível desde o primeiro mês de estocagem. Uma possível explicação para isso são as menores espessuras das garrafas de PET em relação às de PVC. Segundo ROMANO & FARIA (1996), a redução de espessura das paredes das garrafas, em função da necessidade de se minimizar custos, aumenta a incidência de colapsagem. Além disso, a rigidez polimérica do PVC é superior à do PET.<sup>2</sup>



**Figura 4.9.** Evolução do índice de peróxido (média global) em função do tempo de estocagem do óleo de soja acondicionado em PET. (\*)  $p \leq 0,05$

<sup>2</sup> FARIA, J.A.F. (UNICAMP). **Comunicação pessoal**, 2001.

Os coeficientes de regressão dos modelos referentes a IP<sub>1</sub> a IP<sub>6</sub> encontram-se na Tabela 4.11. Os modelos explicaram pelo menos 90% da variação das respostas, segundo indicam os valores de R<sup>2</sup>. Houve pouca variação de R<sup>2</sup> entre os modelos completos e ajustados, já que poucos termos não foram significativos.

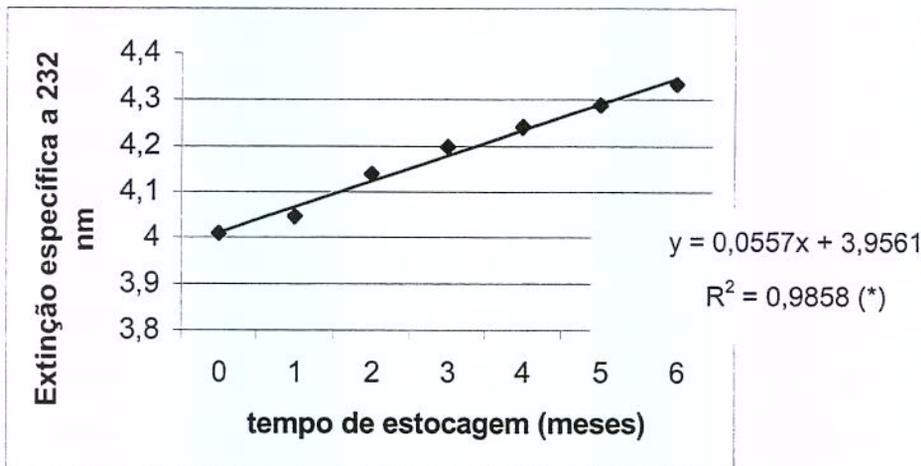
**Tabela 4.11.** Coeficientes de regressão dos modelos para o índice de peróxido (IP) do óleo de soja acondicionado em PET; IP<sub>i</sub> = IP a i meses de estocagem.

FATOR	COEFICIENTES					
	IP <sub>1</sub>	IP <sub>2</sub>	IP <sub>3</sub>	IP <sub>4</sub>	IP <sub>5</sub>	IP <sub>6</sub>
Média	<b>2,1780</b>	<b>2,9234</b>	<b>3,4054</b>	<b>3,8875</b>	<b>4,4083</b>	<b>4,9346</b>
X <sub>1</sub> (L)	<b>-0,6471</b>	<b>-0,7414</b>	<b>-0,8027</b>	<b>-0,8837</b>	<b>-0,9774</b>	<b>-1,0622</b>
X <sub>1</sub> (Q)	<b>0,2353</b>	<b>0,2709</b>	<b>0,3115</b>	<b>0,3416</b>	<b>0,3613</b>	<b>0,3670</b>
X <sub>2</sub> (L)	<b>-0,0662</b>	<b>-0,0804</b>	<b>-0,0617</b>	<b>-0,0679</b>	<b>-0,0628</b>	<b>-0,0532</b>
X <sub>2</sub> (Q)	<b>0,1147</b>	<b>0,1295</b>	<b>0,1736</b>	<b>0,2019</b>	<b>0,1914</b>	<b>0,1735</b>
X <sub>3</sub> (L)	<b>-0,0712</b>	<b>-0,0531</b>	<b>-0,0603</b>	<b>-0,0489</b>	<b>-0,0451</b>	<b>-0,0447</b>
X <sub>3</sub> (Q)	<b>0,1132</b>	<b>0,1281</b>	<b>0,1463</b>	<b>0,1592</b>	<b>0,1577</b>	<b>0,1391</b>
X <sub>4</sub> (L)	<b>-0,1945</b>	<b>-0,1758</b>	<b>-0,1783</b>	<b>-0,1866</b>	<b>-0,1662</b>	<b>-0,1593</b>
X <sub>4</sub> (Q)	<b>0,0976</b>	<b>0,0999</b>	<b>0,1124</b>	<b>0,1233</b>	<b>0,1139</b>	<b>0,0896</b>
X <sub>1</sub> (L) x X <sub>2</sub> (L)	<b>0,0489</b>	<b>0,0510</b>	<b>0,0372</b>	0,0122	-0,0140	<b>-0,0398</b>
X <sub>1</sub> (L) x X <sub>3</sub> (L)	<b>-0,0492</b>	-0,0229	-0,0296	-0,0129	<b>0,0657</b>	<b>0,1303</b>
X <sub>1</sub> (L) x X <sub>4</sub> (L)	<b>0,0647</b>	<b>0,0724</b>	<b>0,0867</b>	<b>0,0862</b>	<b>0,0708</b>	<b>0,0575</b>
X <sub>2</sub> (L) x X <sub>3</sub> (L)	-0,0224	-0,0167	-0,0133	-0,0273	<b>-0,0392</b>	<b>-0,0505</b>
X <sub>2</sub> (L) x X <sub>4</sub> (L)	<b>-0,0351</b>	<b>-0,0556</b>	<b>-0,0750</b>	<b>-0,0657</b>	<b>-0,0522</b>	<b>-0,0465</b>
X <sub>3</sub> (L) x X <sub>4</sub> (L)	0,0035	0,0194	0,0014	<b>0,0632</b>	<b>0,0803</b>	<b>0,0797</b>
R <sup>2</sup> (modelo completo)	0,9563	0,9272	0,9163	0,9140	0,9123	0,9350
R <sup>2*</sup> (modelo ajustado)	0,9557	0,9262	0,9155	0,9133	0,9122	0,9350

Termos em negrito = significativos ( $p \leq 0,05$ ); L = linear; Q = quadrático; X<sub>1</sub> = concentração de TBHQ; X<sub>2</sub> = concentração de  $\beta$ -caroteno; X<sub>3</sub> = concentração de ácido cítrico; X<sub>4</sub> = concentração de Tinuvin 234; R<sup>2</sup> = coeficientes de determinação dos modelos.

As tabelas de ANOVA foram feitas sobre os modelos ajustados, e estão apresentadas no ANEXO 5. Todas as regressões apresentaram F significativo ( $p \leq 0,05$ ). Entretanto, a falta de ajuste foi também significativa para todos os modelos. Procedeu-se então à ANOVA modificada, e verificou-se que as regressões se mantiveram significativas e com alto poder preditivo, segundo o critério proposto por BOX & WETZ (1973).

A Figura 4.10 indica a variação nas médias da extinção específica a 232 nm com o decorrer do tempo de estocagem. A regressão linear apresentou alto coeficiente de determinação, ou seja, a extinção específica variou linearmente com o tempo de estocagem.



**Figura 4.10.** Variação das médias da extinção específica (232 nm) em função do tempo de estocagem do óleo de soja acondicionado em PET. (\*)  $p \leq 0,05$

Os coeficientes de regressão dos modelos referentes à extinção específica a 232 nm (K) encontram-se na Tabela 4.12. Muitos parâmetros não foram significativos, daí a grande redução no  $R^2$  após o ajuste de alguns modelos. Os valores de  $R^2$  foram baixos, especialmente se comparados aos dos modelos  $IP_1$  a  $IP_6$ , indicando que os modelos referentes a K não explicaram as variações dos resultados tão adequadamente quanto os modelos referentes a IP.

**Tabela 4.12.** Coeficientes de regressão dos modelos referentes à extinção específica a 232 nm do óleo de soja acondicionado em PET;  $K_i$  = extinção específica a 232 nm após  $i$  meses de estocagem.

FATOR	COEFICIENTES					
	$K_1$	$K_2$	$K_3$	$K_4$	$K_5$	$K_6$
Média	<b>4,0457</b>	<b>4,1384</b>	<b>4,1973</b>	<b>4,2402</b>	<b>4,2879</b>	<b>4,3334</b>
$X_1$ (L)	<b>-0,0190</b>	<b>-0,0168</b>	<b>-0,0109</b>	<b>-0,0303</b>	<b>-0,0285</b>	<b>-0,0292</b>
$X_1$ (Q)	-0,0019	<b>-0,0064</b>	-0,0005	0,0033	0,0024	0,0021
$X_2$ (L)	-0,0028	-0,0029	<b>-0,0050</b>	-0,0061	-0,0047	-0,0012
$X_2$ (Q)	<b>-0,0031</b>	-0,0039	<b>-0,0064</b>	-0,0076	<b>-0,0094</b>	<b>-0,0102</b>
$X_3$ (L)	<b>-0,0067</b>	-0,0012	<b>-0,0058</b>	-0,0067	-0,0066	<b>-0,0085</b>
$X_3$ (Q)	0,0006	0,0022	0,0009	-0,0019	-0,0014	0,0010
$X_4$ (L)	<b>-0,0096</b>	<b>-0,0111</b>	<b>-0,0102</b>	-0,0083	<b>-0,0087</b>	-0,0079
$X_4$ (Q)	-0,0019	-0,0015	-0,0031	-0,0072	-0,0062	-0,0028
$X_1$ (L) x $X_2$ (L)	0,0022	0,0056	0,0014	0,0059	0,0074	0,0056
$X_1$ (L) x $X_3$ (L)	-0,0029	-0,0006	-0,0026	-0,0031	-0,0024	-0,0092
$X_1$ (L) x $X_4$ (L)	-0,0022	-0,0043	<b>-0,0073</b>	-0,0019	0,0000	-0,0043
$x_2$ (L) x $X_3$ (L)	-0,0015	0,0031	<b>0,0117</b>	0,0059	0,0062	0,0030
$x_2$ (L) x $X_4$ (L)	0,0017	-0,0031	0,0007	0,0120	<b>0,0111</b>	0,0079
$x_3$ (L) x $X_4$ (L)	<b>0,0039</b>	<b>0,0080</b>	<b>0,0129</b>	0,0088	0,0086	0,0079
$R^2$ (modelo completo)	0,8510	0,7388	0,6071	0,8018	0,7126	0,7383
$R^{2*}$ (modelo ajustado)	0,7896	0,6309	0,5873	0,5224	0,5812	0,5909

Termos em negrito = significativos ( $p \leq 0,05$ ); L = linear; Q = quadrático;  $X_1$  = concentração de TBHQ;  $X_2$  = concentração de  $\beta$ -caroteno;  $X_3$  = concentração de ácido cítrico;  $X_4$  = concentração de Tinuvin 234;  $R^2$  = coeficiente de determinação dos modelos.

Como os coeficientes de determinação dos modelos completos foram baixos, e se reduziram ainda mais com o ajuste dos modelos, foram utilizados os modelos completos para se realizar as análises de variância, apresentadas no

ANEXO 6. A ANOVA modificada foi utilizada quando necessário. Três das regressões ( $K_1$ ,  $K_4$  e  $K_6$ ) apresentaram F significativo, porém com baixo poder preditivo, enquanto o F das demais regressões não foram significativos. Portanto, da mesma forma que para o experimento com PVC, conclui-se que os modelos referentes a extinção específica não foram tão preditivos do grau de oxidação do óleo quanto os referentes aos índices de peróxido.

Os coeficientes de regressão do modelo referente à diferença do controle, após seis meses de estocagem do óleo, estão apresentados na Tabela 4.13.

**Tabela 4.13.** Coeficientes de regressão do modelo referente à diferença do controle a 6 meses de estocagem do óleo de soja acondicionado em PET.

FATOR	COEFICIENTES
Média	<b>3,7053</b>
$X_1$ (L)	<b>-0,8622</b>
$X_1$ (Q)	<b>0,3190</b>
$X_2$ (L)	<b>-0,0831</b>
$X_2$ (Q)	<b>0,0778</b>
$X_3$ (L)	<b>-0,0939</b>
$X_3$ (Q)	<b>0,1615</b>
$X_4$ (L)	<b>-0,1778</b>
$X_4$ (Q)	0,0028
$X_1$ (L) x $X_2$ (L)	<b>-0,1004</b>
$X_1$ (L) x $X_3$ (L)	-0,0004
$X_1$ (L) x $X_4$ (L)	0,0167
$X_2$ (L) x $X_3$ (L)	<b>-0,0929</b>
$X_2$ (L) x $X_4$ (L)	<b>-0,0758</b>
$X_3$ (L) x $X_4$ (L)	<b>0,1592</b>
$R^2$ (modelo completo)	0,9206
$R^{2*}$ (modelo ajustado)	0,9204

L = linear; Q = quadrático;  $X_1$  = concentração de TBHQ;  $X_2$  = concentração de  $\beta$ -caroteno;  $X_3$  = concentração de ácido cítrico;  $X_4$  = concentração de Tinuvin 234; termos em negrito = significativos ( $p \leq 0,05$ );  $R^2$  = coeficiente de determinação.

Poucos termos da regressão não foram significativos, e o ajuste do modelo praticamente não alterou o coeficiente de determinação, que foi satisfatório.

A Tabela de ANOVA encontra-se no ANEXO 7. Como a falta de ajuste foi significativa, procedeu-se à ANOVA modificada. Ainda assim, o valor de F da regressão indicou que o modelo é significativo e tem alto poder preditivo.

#### 4.4.3. CORRELAÇÕES ENTRE AS RESPOSTAS

A equação 4.3 representa a correlação entre  $IP_6$  e DC, enquanto a correlação entre  $K_6$  e DC está representada pela equação 4.4.

$$IP_6 = 1,1492 DC + 0,7798 \quad r = 0,9753 \quad (4.3)$$

$$K_6 = 0,0242 DC + 4,2268 \quad r = 0,5758 \quad (4.4)$$

O coeficiente de correlação entre a extinção específica e a diferença do controle foi baixo, confirmando os resultados obtidos por HILST (1999).

A alta correlação entre índice de peróxido e a resposta sensorial, observada nos dois experimentos, confirma os resultados obtidos em alguns trabalhos. SATTAR *et al.* (1976b), avaliando óleos de colza, milho, soja e coco, obtiveram altas correlações entre o índice de peróxido e a aceitação sensorial ( $r = -0,97$  para óleo de soja). Uma análise de correlação feita sobre os resultados obtidos por WARNER e NELSEN (1996) indicou alta correlação ( $r = 0,99$ ) entre índice de peróxido e intensidade de sabor de óleo de soja. Segundo os resultados registrados por ODUMOSU *et al.* (1979), o índice de peróxido mostrou-se um método sensível a mudanças oxidativas, e de boa correlação ( $r = 0,92$ ) com a intensidade de sabor de óleo de amendoim. HILST (1999) correlacionou o índice de peróxido aos resultados sensoriais para óleo de soja acondicionado em três diferentes sistemas

de embalagem: lata inertizada, lata sem inertização e no sistema Tetra Brik. A correlação linear ( $r = 0,69$ ) foi baixa para o primeiro sistema, mas, nos outros dois, o coeficiente foi alto (0,94-0,95), indicando boa correlação entre os métodos.

Os resultados, em ambos os experimentos, mostraram não ser recomendável a utilização da extinção específica como base para análise dos resultados. Assim, as discussões a seguir terão como base os índices de peróxido e a diferença do controle, como foi feito no experimento com PVC.

Os coeficientes de correlação entre as respostas estão encontrados no ANEXO 8. Foram todos altos, indicando ótima correlação entre os modelos.

Substituindo-se o valor 4 de diferença do controle (que corresponde a uma diferença considerada pelos avaliadores como “moderada”) na Equação 3, obtém-se um índice de peróxido igual a 5,4 meq/kg, bem inferior ao limite de 10,0 meq/kg previsto na legislação (BRASIL, 1999b).

#### 4.4.4. ESTIMATIVA DOS EFEITOS PRINCIPAIS E DE INTERAÇÕES

A Tabela 4.14 apresenta os efeitos principais e de interações das variáveis independentes sobre IP e DC, após 6 meses de estocagem.

Para ambas as respostas avaliadas (IP e DC), todos os efeitos principais foram significativos ( $p \leq 0,05$ ) e negativos, ou seja, todos os aditivos reduziram significativamente as taxas de oxidação do óleo. Dentro das faixas estudadas, o TBHQ apresentou o maior efeito sobre as taxas de oxidação, seguido pelo Tinuvin 234. Um aumento na concentração de TBHQ de -1 a 1 (ou seja, de 50 a 150 ppm) resultou em redução média de 2,12 meq/kg no IP, e de 1,72 pontos na escala de DC. Um aumento na concentração de Tinuvin 234 de 0,05% para 0,15% resultou

em redução média de 0,32 meq/kg no IP, e de 0,36 pontos na escala de DC. No modelo para IP, a interação de maior valor foi a  $X_1 \times X_3$ , o que sugere que a interação mais importante foi entre o TBHQ e o ácido cítrico. Por outro lado, essa interação não foi sequer significativa, segundo o modelo para DC. Nesse aspecto, o modelo para IP estaria mais de acordo com os resultados obtidos por BUCK (1991), que indicam claramente um efeito potencializador do ácido cítrico sobre o TBHQ.

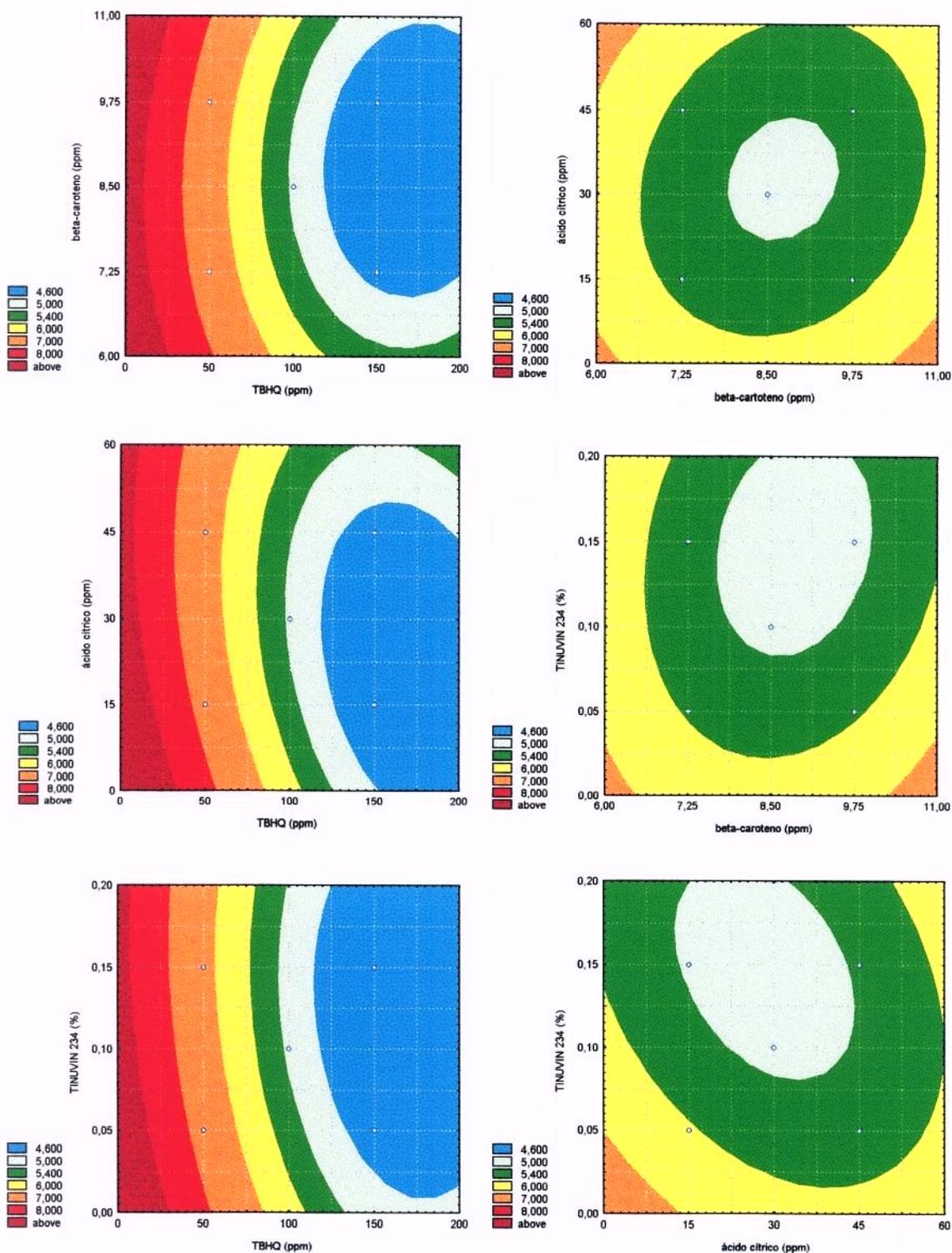
**Tabela 4.14.** Efeitos principais e de interações das variáveis sobre as seguintes respostas do óleo de soja acondicionado em PET:  $IP_6$  = índice de peróxido após 6 meses de estocagem; DC = diferença do controle após 6 meses de estocagem.

FATOR	$IP_6$		DC	
	EFEITO	Erro padrão	EFEITO	Erro padrão
Média	<b>5,5712</b>	<b>0,0047</b>	<b>4,1697</b>	<b>0,0140</b>
(1) TBHQ	<b>-2,1243</b>	<b>0,0103</b>	<b>-1,7244</b>	<b>0,0308</b>
(2) $\beta$ -caroteno	<b>-0,1064</b>	<b>0,0103</b>	<b>-0,1661</b>	<b>0,0308</b>
(3) ácido cítrico	<b>-0,0894</b>	<b>0,0103</b>	<b>-0,1878</b>	<b>0,0308</b>
(4) Tinuvin 234	<b>-0,3186</b>	<b>0,0103</b>	<b>-0,3556</b>	<b>0,0308</b>
1L por 2L	<b>-0,0797</b>	<b>0,0127</b>	<b>-0,2008</b>	<b>0,0377</b>
1L por 3L	<b>0,2606</b>	<b>0,0127</b>	-0,0008	0,0377
1L por 4L	<b>0,1149</b>	<b>0,0127</b>	0,0333	0,0377
2L por 3L	<b>-0,1011</b>	<b>0,0127</b>	<b>-0,1858</b>	<b>0,0377</b>
2L por 4L	<b>-0,0929</b>	<b>0,0127</b>	<b>-0,1517</b>	<b>0,0377</b>
3L por 4L	<b>0,1595</b>	<b>0,0127</b>	<b>0,3183</b>	<b>0,0377</b>

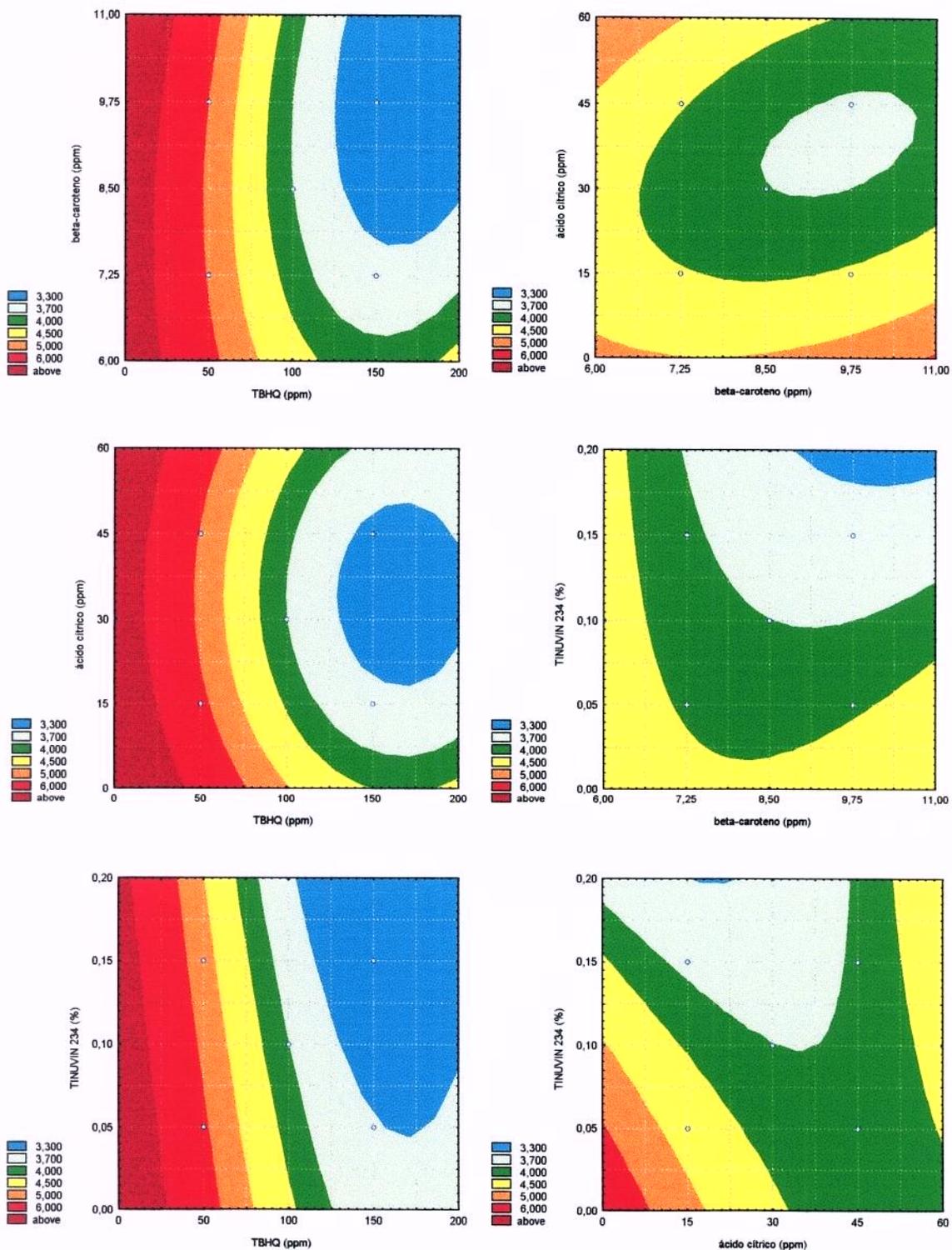
Termos destacados em negrito: significativos ( $p \leq 0,05$ ); L = linear.

#### 4.4.5. CURVAS DE CONTORNO

As curvas de contorno referentes aos modelos obtidos para representar os índices de peróxido e a diferença do controle, após 6 meses de estocagem, estão apresentadas nas Figuras 4.11 e 4.12, respectivamente.



**Figura 4.11.** Curvas de contorno referentes aos índices de peróxido do óleo de soja após seis meses de estocagem em garrafas de PET, expostas a 1720 lux e 25°C.



**Figura 4.12.** Curvas de contorno referentes às diferenças do controle do óleo de soja após seis meses de estocagem em garrafas de PET, expostas a 1720 lux e 25°C.

#### 4.4.6. DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE MÁXIMA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM PET

O teste de Dunnett realizado sobre os resultados da diferença de controle indicou que todas as amostras diferiram significativamente do controle ( $p \leq 0,05$ ).

Analisando o comportamento da diferença do controle, baseada na Figura 4.12, podem-se estabelecer as condições que atendam a um determinado requisito. Se o objetivo for simplesmente a obtenção de um produto com diferença do controle menor que 4,0 (“moderada”) após seis meses de estocagem, podem-se utilizar as seguintes faixas de concentrações dos aditivos:

- TBHQ: 125 – 200 ppm
- $\beta$ -caroteno: 8,5 - 11,0 ppm
- Ácido cítrico: 30 – 60 ppm
- Tinuvin P: 0,1 – 0,2%

Por outro lado, se o objetivo for a maximização da estabilidade do produto, pode-se definir as seguintes condições como as que proporcionaram máxima estabilidade do óleo de soja, dentro das condições estudadas:

- TBHQ: 150 - 200 ppm
- $\beta$ -caroteno: 8,50 – 9,75 ppm
- Ácido cítrico: 30 – 45 ppm
- Tinuvin 234: 0,1 – 0,2 %

Sob estas condições, o produto se manteve com diferença do controle inferior a 3,3 pontos na escala utilizada, e índice de peróxido inferior a 4,6 meq/kg, durante o período de estocagem de seis meses a 25°C.

Obviamente, é importante também que sejam considerados os aspectos econômicos. Desde que um aumento na concentração dos aditivos irá se refletir em aumento do custo do processo, considera-se mais adequado procurar utilizar concentrações mais baixas, dentro das faixas que proporcionam máxima estabilidade. Por exemplo, considerando-se que a adição do Tinuvin 234 acarreta um aumento no preço das garrafas, é mais viável utilizar 0,1% desse aditivo. Em relação ao  $\beta$ -caroteno, além das considerações econômicas, deve-se levar em conta também a redução de aceitação do produto em função do aumento de sua concentração; assim, é conveniente considerar concentrações próximas a 8,50 ppm como as mais adequadas.

## 5. CONCLUSÕES

- Os modelos de segunda ordem obtidos pela Metodologia de Superfície de Resposta para os índices de peróxido, aos diferentes tempos de estocagem, e para a diferença do controle aos seis meses de estocagem foram significativos e altamente preditivos do grau de oxidação do óleo de soja.
- Os modelos obtidos para a extinção específica a 232 nm apresentaram menor poder preditivo do grau de oxidação do produto, quando comparados aos modelos obtidos para índices de peróxido.
- Os índices de peróxido apresentaram boa correlação ( $r \cong 0,97$ ) com a resposta sensorial (diferença do controle). Ao contrário, a extinção específica a 232 nm mostrou baixa correlação ( $r=0,56-0,58$ ) com a resposta sensorial. Tal constatação reforça a indicação do índice de peróxido para estudos de oxidação de óleos.
- Entre as variáveis estudadas, a concentração de TBHQ foi a variável de maior impacto sobre a estabilidade do óleo de soja, em ambos os experimentos.
- Os absorvedores de UV (Tinuvin P, usado nas garrafas de PVC, e Tinuvin 234, adicionado às garrafas de PET) mostraram-se efetivos em reduzir as taxas de oxidação do óleo de soja.
- O ácido cítrico e o  $\beta$ -caroteno apresentaram efeitos menores, embora estatisticamente significativos.
- O  $\beta$ -caroteno comprometeu a aceitação do óleo, especialmente acima da concentração de 11 ppm, o que indica que, apesar de seu efeito antioxidante,

seja recomendável adicioná-lo em baixas doses, podendo-se mesmo dispensar sua utilização.

- Embora a legislação brasileira tenha fixado o valor de 10,0 meq/kg como o índice de peróxido máximo aceitável para óleo de soja, a equipe de provadores foi capaz de detectar alterações sensoriais “moderadas” a valores próximos a 5,0 meq/kg.
- As condições de máxima estabilidade do óleo de soja acondicionado em garrafas de PVC foram as seguintes: 150 a 200 ppm de TBHQ; 8,5 a 11,0 ppm de  $\beta$ -caroteno (considerando-se, neste caso, o limite superior de 11 ppm para não comprometer a aceitação visual do produto); 20 a 40 ppm de ácido cítrico; 0,25 de 0,43% de Tinuvin P. Sob estas condições, o produto se manteve com diferença do controle inferior a 3,6 pontos numa escala estruturada de 0 (“igual ao controle”) a 8 (“extremamente diferente do controle”), e com índice de peróxido inferior a 4,9 meq/kg, durante o período de estocagem de seis meses a 25°C.
- As condições que proporcionaram máxima estabilidade do óleo de soja acondicionado em garrafas de PET foram: 150 a 200 ppm de TBHQ; 8,50 a 9,75 ppm de  $\beta$ -caroteno; 30 a 45 ppm de ácido cítrico; 0,1 a 0,2% de Tinuvin 234. Sob estas condições, o produto se manteve com diferença do controle inferior a 3,3 pontos na escala estruturada de 0 a 8, e índice de peróxido inferior a 4,6 meq/kg, durante o período de estocagem de seis meses a 25°C.
- Como sugestão para pesquisas futuras, seria importante realizar uma avaliação detalhada da vida-de-prateleira do óleo de soja submetido às condições que, segundo o presente trabalho, promoveram máxima estabilidade do produto.

**6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**

ABIOVE. **Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais**. Disponível em: <<http://www.abiove.com.br>>. Acesso em: 29 nov 2000.

ADEGOKE, G.O.; KUMAR, M.V.; KRISHNA, A.G.G.; VARADARAJ, M.C.; SAMBAIAH, K.; LOKESH, B.R. Antioxidants and lipid oxidation in foods – a critical appraisal. **Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 283-298, jul/ago 1998.

AKOH, C.C. Oxidative stability of fat substitutes and vegetable oils by the Oxidative Stability Index Method. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 71, n. 2, p. 211-216, fev 1994.

ALLEN, D.A. Refining. In: GUNSTONE, F.D.; PADLEY, F.B. **Lipid technologies and applications**. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 137-167.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). **Standard test method for water vapor permeability of packages – ASTM D 895-94**. Philadelphia: ASTM, 1997. 2 p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). **Standard test method for oxygen gas transmission rate through dry packages using a coulometric sensor – ASTM F 1307-90**. Philadelphia: ASTM, 1997. 6 p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). **Standard test method for haze and luminous transmittance of transparent plastics – ASTM D 1003-95**. Philadelphia: ASTM, 1997. 5 p.

ANJOS, C.A.R. Inertização de óleos e a qualidade do produto final. **Óleos & Grãos**, ano IV, n. 19, p. 5-6, jul/ago 1994.

AOCS. **Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society.** Champaign, 1993.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DA ALIMENTAÇÃO (ABIA). **Compêndio da Legislação de Alimentos.** Consolidação das normas e padrões de alimentos. São Paulo: ABIA, 1999.

BOX, G.E.P.; WETZ, J. Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function. **University of Wisconsin Technical Report**, n. 9, 1973.

BRADLEY, D.G.; MIN, D.B. Singlet oxygen oxidation of foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 31, n. 3, p. 211-236, 1992.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Ministério da Saúde. Resolução nº 105, de 19 de Maio de 1999. **Disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos.** Diário Oficial da União, Brasília, 1999(a). Anexo III.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Ministério da Saúde. Resolução nº 482, de 23 de setembro de 1999. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais.** Brasília: Diário Oficial da União, 1999(b). Anexo 7.

BUCK, D.F. Antioxidants. In: SMITH, J. (Ed.) **Food additive user's handbook.** London: Blackie Academic & Professional, 1991. p. 1-46.

CARLSSON, D.J.; SUPRUNCHUCK, T.; WILES, D.M. Photooxidation of unsaturated oils: effects of singlet oxygen quenchers. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 53, n. 10, p. 656-660, out 1976.

CHAN, H.W.-S. The mechanism of autoxidation. In: CHAN, H.W.-S. **Autoxidation of unsaturated lipids**. London: Academic Press Inc., 1987. p. 1-16.

CHAN, H.W.S.; COXON, D.T.; PEERS, K.E.; PRICE, K.R. Oxidative reactions of unsaturated lipids. **Food Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 21-34, set 1982.

CHARRIER, J.M. **Polymeric materials and processing**. Plastics, elastomers and composites. Munich: Hanser Publishers, 1990.

COMPLEXO AGRÍCOLA sobrevive ao impacto da recessão. **Óleos & Grãos**, ano VIII, n. 51, p. 30-38, nov/dez 1999.

CONTRERAS-GUZMAN, E.S. & STRONG III, F.C. Determination of tocopherols (vitamin E) by reduction of cupric ion. **Association of Official Analytical Chemists Journal**, v. 65, n. 5, p. 1215-1221, set 1982.

EMBALAGENS do próximo milênio: inovação com alto valor agregado. **Óleos & Grãos**, ano X, n. 55, p. 18-23, jul/ago 2000.

ESPINOZA-ATENCIA, E. **Fotoxidação de óleos de soja e de milho acondicionados em embalagens plásticas**. Campinas, 1995. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 153 p.

ESPINOZA-ATENCIA, E.J.; FARIA, J.A.F. Fotoxidação de óleos comestíveis em embalagens plásticas transparentes. **Óleos & Grãos**, ano IV, n. 19, p. 44-51, jul/ago 1994.

ESPINOZA-ATENCIA, E.J.; FARIA, J.A.F.; ANJOS, C.A.R. Effect of ultraviolet absorber in polyethylene terephthalate packages for edible oils. **8<sup>th</sup> World Conference on Packaging (IAPRI)**. São Paulo, 1993. p. 861-868.

EVOLUÇÃO no processo de fechamento aprimora a qualidade das latas. **Óleos & Grãos**, ano VII, n. 44, p. 34-38, mai/jun 1998.

FAKOURELIS, N.; LEE, E.C.; MIN, D.B. Effects of chlorophyll and  $\beta$ -carotene on the oxidation stability of olive oil. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 1, p. 234-235, jan/fev 1987.

FARIA, J.A.F. A função da embalagem na estabilidade de óleos vegetais. **Óleos & Grãos**, ano II, n. 6, 50-52, out/nov 1991.

FARIA, J.A.F. Antioxidantes e estabilidade de óleos comestíveis. **Óleos & Grãos**, ano V, n. 20, 32-34, set/out 1994.

FARIA, J.A.F. **Embalagem de alimentos**. Controle de qualidade. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1998.

FARIA, J.A.F. **Estabilidade de alimentos em embalagens plásticas**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1990. 230 p.

FARIA, J.A.F.; MUKAI, M.K. Use of a gas chromatographic reactor to study lipid photooxidation. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 60, n. 1, p. 77-81, jan 1983.

FIORITI, J.A.; KANUK, M.J.; SIMS, R.J. Chemical and organoleptic properties of oxidized fats. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 51, n. 5, p. 219-223, mai 1974.

FRANKEL, E.N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 51-55, set 1996.

FRANKEL, E.N. Chemistry of autoxidation: mechanism, products and flavor significance. In: MIN, D.B.; SMOUSE, T.H. (Eds.) **Flavor chemistry of fats and oils**. American Oil Chemists' Society, 1985. p. 1-37.

FRANKEL, E.N. Lipid oxidation. **Progress in Lipid Research**, v. 19, n. 1, p. 1-22, jan 1980.

GADENNE, J. Acondicionamento de óleo em embalagens de PET. In: **Conferência Mundial de Embalagem**, 8. Proceedings. São Paulo: IAPRI, 1993.

GENTE & NEGÓCIOS. **Óleos & Grãos**, ano X, n. 55, p. 16, jul/ago 2000.

GIRASSOL, um mercado em expansão. **Óleos & Grãos**, ano X, n. 55, p. 31-34, jul/ago 2000.

GRAVANI, R.B. Food deterioration and spoilage caused by light. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, v. 6, n. 1, p. 22-23, jan 1986.

GRAY, J.I. Simple chemical and physycal methods for measuring flavor quality of fats and oils. In: MIN, D.B.; SMOUSE, T.H. (Eds.) **Flavor chemistry of fats and oils**. American Oil Chemists' Society, 1985. p. 223-239.

GRUENWALD, G. **Plastics**. How structure determines properties. Munich: Hanser Publishers, 1993. 357 p.

GUGUMUS, F. Light stabilizers for thermoplastics. In: GÄCHTER, R.; MÜLLER, H. (Eds.) **Plastics additives handbook**. Munich: Hanser Publishers, 1987. p. 97-192.

GUNSTONE, F.D. Major sources of lipids. In: GUNSTONE, F.D.; PADLEY, F.B. (Eds.) **Lipid technologies and applications**. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 19-50.

HAHM, T.S.; MIN, D.B. Analyses of peroxide values and headspace oxygen. In: WARNER, K.W.; ESKIN, N.A.M. (Eds.) **Methods to assess quality and stability of oils and fat-containing foods**. Champain: AOCS Press, 1995. p. 146-158.

HAILA, K.; HEINONEN, M. Action of  $\beta$ -carotene on purified rapeseed oil during light storage. **Lebensmittel -Wissenschaft und-Technologie**, v. 27, n. 6, p. 573-577, dez 1994.

HAMILTON, R.J. The chemistry of rancidity in foods. In: ALLEN, J.C.; HAMILTON, R.J. (Eds.) **Rancidity in foods**. Essex: Applied Science Publishers Ltd., 1983. p. 1-20.

HAMILTON, R.J.; KALU, C.; PRISK, E.; PADLEY, F.B.; PIERCE, H. Chemistry of free radicals in lipids. **Food Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 193-199, out 1997.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, n. 8, p. 475-476, 1973.

HILST, M.A.S. **Avaliação da estabilidade de óleo de soja acondicionado em latas e na embalagem Tetra Brik**. Campinas, 1999. 101 p. Tese (Mestre em Tecnologia de alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

HOULIHAN, C.M.; HO, C. Natural antioxidants. In: MIN, D.B.; SMOUSE, T.H. (Eds.) **Flavor chemistry of fats and oils**. Champain: American Oil Chemists' Society, 1985. p. 117-143.

JACKSON, H.W. Oil flavor quality assessment. In: APPLEWHITE, T.H. (Ed.) **Bailey's industrial oil and fat products**. v.3. New York: John Wiley & Sons, 1985.

JACKSON, H.W. Techniques of flavor and odor evaluation of soy oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 58, n. 3, p. 227-231, mar 1981.

JENKINS, W.A.; HARRINGTON, J.P. **Packaging foods with plastics**. Lancaster: Technomic Publishing, 1991. 326 p.

KAREL, M. Packaging protection for oxygen-sensitive products. **Food Technology**, v. 28, n. 8, p. 50-60, ago 1974.

KHURI, A.I.; CORNELL, J.A. **Response surfaces: designs and analyses**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996.

LABUZA, T.P. A theoretical comparison of losses in foods under fluctuating temperature sequences. **Journal of Food Science**, v. 44, n. 4, p. 1162-1168, jul/ago 1979.

LABUZA, T.P. An integrated approach to food chemistry: illustrative cases. In: FENNEMA, O.R. (Ed.) **Food Chemistry**. New York, Marcel Dekker Inc., 1985. p. 913-939.

LABUZA, T.P. An introduction to active packaging for foods. **Food Technology**, v. 50, n. 1, p. 68-71, jan 1996.

LABUZA, T.P. Kinetics of lipid oxidation in foods. **CRC Critical Reviews in Food Technology**, v. 2, p. 355-405, 1971.

LABUZA, T.P. **Shelf-life dating of foods**. Westport: Food & Nutrition Press, Inc. 1982. 500 p.

LEE, E.C.; MIN, D.B. Quenching mechanism of  $\beta$ -carotene on the chlorophyll sensitized photooxidation of soybean oil. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 6, p. 1894-1895, nov/dez 1988.

LEO, D.A. Effect of packaging on oil product quality. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 60, n. 2, p. 253A-254A, fev 1983.

LILLARD, D.A. Effect of processing on chemical and nutritional changes in food lipids. **Journal of Food Protection**, v. 46, n. 1, p. 61-67, jan 1983.

LOVE, J. Factors affecting lipid oxidation - metal catalysts and chelators. In: MIN, D.B.; SMOUSE, T.H. (Eds.) **Flavor chemistry of fats and oils**. American Oil Chemist's Society, 1985. p. 61-78.

MEHLENBACHER, V.C. **The analysis of fats and oils**. Champain: Garrad Press, 1960.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1987.

MILES, D.C.; BRISTON, J.H. **Tecnologia dos polímeros**. São Paulo: Editora da USP, 1975. 573 p.

MILTZ, J. Food packaging. In: HELDMAN, D.R., LUND, D.B. (Eds.) **Handbook of Food Engineering**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1992. p.667-718.

MIN, D.B. Correlation of sensory evaluation and instrumental gas chromatographic analysis of edible oils. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 5, p. 1453-1456, set/out 1981.

MIN, D.B.; KIM, J. Gas chromatographic evaluation of flavor quality of oils. In: MIN, D.B.; SMOUSE, T.H. (Eds.) **Flavor chemistry of fats and oils**. American Oil Chemists' Society, 1985. p. 241-262.

MIN, D.B.; LEE, S.H. Quenching effects, mechanisms, and kinetics of carotenoids in singlet oxidation of soybean oil. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.) **Flavors and**

**off-flavors.** Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Flavor Conference. Rethymnon: Elsevier Science Publishers, 1989. p. 953-971.

MISTRY, B.S.; MIN, D.B. Oxidized flavor compounds in edible oils. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.) **Off-flavors in foods and beverages.** Elsevier Science Publishers, 1992. p. 171-209.

MOUNTS, T.L. Effect of oil processing conditions on flavor stability - degumming, refining, hydrogenation and deodorization. In: MIN, D.B.; SMOUSE, T.H. (Eds.) **Flavor chemistry of fats and oils.** American Oil Chemists' Society, 1985. p. 79-84.

MOUNTS, T.L. Using nitrogen to stabilize soybean oil. **Food Technology**, v. 4, n. 12, p. 1372-1376, dez 1993.

NAWAR, W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. (Ed.) **Food Chemistry.** New York, Marcel Dekker Inc., 1985. p. 139-244.

O USO da embalagem adequada aumenta as vendas de óleos comestíveis. **Óleos & Grãos**, ano V, n. 20, p. 22-29, set/out 1994.

ODUMOSU, O.T.; SINHA, J.; HUDSON, B.J.F. Comparison of chemical and sensory methods of evaluating thermally oxidised groundnut oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 30, p. 515-520, 1979.

OHSHIMA, K.; ANJOS, C.A.R. Fatores que afetam as propriedades físico-mecânicas e de barreira da embalagem soprada de PET. In: **Seminário sobre Embalagens de PET para Alimentos e Bebidas.** Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1989. 160 p.

ÖZILGEN, S.; ÖZILGEN, M. Kinetic model of lipid oxidation in foods. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 2, p. 498-501, mar/abr 1990.

PAGLIARINI, E.; PERI, C.; ZANONI, B.; GHIZARDI, M. Optimisation of olive paste expression: maximizing yield by central composite design approach. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 71, n. 4, p. 470-474, ago 1996.

PAQUOT, C.; HAUTFENNE, A. **Standard methods for the analysis of fats, oils and derivatives**. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1987.

PASCALL, M.A.; HARTE, B.R.; GIACIN, J.R.; GRAY, J.I. Decreasing lipid oxidation in soybean oil by a UV absorber in the packaging material. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 5, p. 1116-1119, set/out 1995.

POKORNÝ, J. Major factors affecting the autoxidation of lipids. In: CHAN, H.W.-S. (Ed.) **Autoxidation of insaturated lipids**. London: Academic Press Inc., 1987. p. 141-206.

PREVENDO PASSOS. **Óleos & Grãos**, São Caetano do Sul, ano VII, n. 37, julho/agosto 1997.

PRZYBYLSKI, R.; ESKIN, N.A.M. Methods to measure volatile compounds and the flavor significance of volatile compounds. In: WARNER, K.W.; ESKIN, N.A.M. (Eds.) **Methods to assess quality and stability of oils and fat-containing foods**. Champain: AOCS Press, 1995. p. 107-133.

QUINTEIRO, L.M.C.; VIANNI, R. Características e estabilidade de óleos de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 15, n. 1, p. 29-36, jan/jun 1995.

ROMANO, M.A.; FARIA, J.A.F. Influência do design de garrafas de polietileno tereftalato (PET) para óleos comestíveis sobre a colapsagem. **Óleos & Grãos**, ano VII, n. 31, p. 26-29, jul/ago 1996.

ROONEY, M.L.; HOLLAND, R.V.; SHORTER, A.J. Photochemical removal of headspace oxygen by a singlet oxygen reaction. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 32, n. 3, p. 265-272, mar 1981.

ROSSELL, J.B. Measurement of rancidity. In: ALLEN, J.C.; HAMILTON, R.J. **Rancidity in foods**. Essex: Applied Science Publishers Ltd., 1983. p. 21-45.

SALAME, M. The use of barrier polymers in food and beverage packaging. In: FINLAYSON, K.M. (Ed.) **Plastic film technology**. Lancaster: Technomic Publishing, 1989. p. 132-145.

SALUNKHE, D.K.; CHAVAN, J.K.; ADSULE, R.N.; KADAM, S.S. **World oilseeds**. Chemistry, technology and utilization. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 554 p.

SATTAR, A.; deMAN, J.M.; ALEXANDER, J.C. Effect of wavelenght on light induced quality deterioration of edible oils and fats. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**, v. 9, n. 3, p. 108-113, jul 1976(a).

SATTAR, A.; deMAN, J.M.; ALEXANDER, J.C. Light induced oxidation of edible oils and fats. **Lebensmittel -Wissenschaft und-Technologie**, v. 9, n.3, p. 149-152, jun 1976(b).

SATTAR, A.;deMAN, J.M. Photooxidation of milk and milk products: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.7, n.1, p.13-37, nov 1975.

SCULLY, A.D.; GHIGGINO, K.P. Ultrafast processes in photoirradiated polymers and polymer additives. In: ALLEN, N.S. *et al.* (Eds.) **Current trends in polymer photochemistry**. New York: Ellis Horwood, 1995. p. 219-237.

SHERWIN, E.R. Antioxidants for vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 53, n. 6, p. 430-436, jun 1976.

SHERWIN, E.R. Synthetic antioxidants for fats and oils. In: MIN, D.B.; SMOUSE, T.H. (Eds.) **Flavor chemistry of fats and oils**. American Oil Chemists' Society, 1985. p. 155-173.

SHERWIN, E.R.; THOMPSON, J.W. Tertiary-butylhydroquinone – an antioxidant for fats and oils and fat-containing foods. **Food Technology**, v. 21, n. 6, p. 912-916, jun 1967.

SIGNORE, A.C. Protection of light-sensitive products. **Modern Packaging**, v. 41, n. 6, p.143-145, jun 1968.

SMOUSE, T.H. Factors affecting oil quality and stability. In: WARNER, K.W.; ESKIN, N.A.M. (Eds.) **Methods to assess quality and stability of oils and fat-containing foods**. Champain: AOCS Press, 1995. p. 17-36.

SOLER, R.M.; FARIA, E.V.; GUEDES, L.B.R.; ANJOS, V.D.A.; DANTAS, S.T.; PADULA, M.; TANGO, J.S.; CAMPOS, S.D.S. Embalagens alternativas para óleo de soja. **Coletânea do ITAL**, v. 16, p. 201-227, 1986.

ST. ANGELO, A.J.; ORY, R.L.; BROWN, L.E. Comparison of methods for determining peroxidation of processed whole peanut products. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 52, n. 2, p. 34, fev 1975.

STATISTICA for Windows. Release 5.0. Tulsa: StatSoft Inc., 1995.

TAWFIK, M.S.; HUYGHEBAERT, A. Interaction of packaging materials and vegetable oils: oil stability. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 451-459, dez 1999.

TERAO, J.; YAMAUCHI, R.; MURAKAMI, H.; MATSUSHITA, S. Inhibitory effects of tocopherols and  $\beta$ -carotene on singlet oxygen-initiated photooxidation of methyl linoleate and soybean oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 4, n. 1-2, p. 79-93, mar/jun 1980.

TEUMAC, F.N. The history of oxygen scavenger bottle closures. In: ROONEY, M.L. (Ed.) **Active food packaging**. Glasgow: Chapman & Hall, 1995. p. 193-202.

THOMPSON, D.R. Response surface experimentation. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 6, n. 3, p. 155-188, set 1982.

TOLEDO, M.C.F.; ESTEVES, W.; HARTMANN, V.E.M. Eficiência de antioxidantes em óleo de soja. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, v. 5, n. 1, p. 1-11, jan/jul 1985.

TRUJILLO QUIJANO, J.A. **Produção de extratos concentrados de carotenóides a partir de óleo de dendê**. Campinas, 1988. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 153 p.

ULRICH, H. **Introduction to industrial polymers**. München: Hanser, 1982. 320 p.

WAN, P.J. Accelerated stability methods. In: WARNER, K.W.; ESKIN, N.A.M. (Eds.) **Methods to assess quality and stability of oils and fat-containing foods**. Champain: AOCS Press, 1995. p. 179-189.

WARNER, K. Sensory evaluation of flavor quality of oils. In: MIN, D.B.; SMOUSE, T.H. (Eds.) **Flavor chemistry of fats and oils**. Champain: American Oil Chemists' Society, 1985. p. 207-221.

WARNER, K. Sensory evaluation of oils and fat-containing foods. In: WARNER, K.W.; ESKIN, N.A.M. (Eds.) **Methods to assess quality and stability of oils and fat-containing foods**. Champain: AOCS Press, 1995. p. 49-75.

WARNER, K.; FRANKEL, E.N. Effects of  $\beta$ -carotene on light stability of soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 64, n. 2, p. 213-218, fev 1987.

WARNER, K.; NELSEN, T. AOCS collaborative study on sensory and volatile compound analysis of vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 73, n. 2, p. 157-166, fev 1996.

WASZCZYNSKYJ, N.; RAO, C.S.; DA SILVA, R.S.F. Extraction of proteins from wheat bran: application of carbohydrases. **Cereal Chemistry**, v. 58, n. 4, p. 264-266, jul/ago 1981.

WEYNE, G.R.S. **Curso intensivo de ciência dos polímeros**. São Paulo: Associação Brasileira de Embalagem. 1989. 153 p.

WHITE, P.J. Conjugated diene, anisidine value, and carbonyl value analyses. In: WARNER, K.W.; ESKIN, N.A.M. (Eds.) **Methods to assess quality and stability of oils and fat-containing foods**. Champain: AOCS Press, 1995. p. 159-178.

WILLIAMS, M.A. Extraction of lipids from natural sources. In: GUNSTONE, F.D.; PADLEY, F.B. (Eds.) **Lipid technologies and applications**. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 113-135.

WONG, D.W.S. **Mechanism and theory in food chemistry**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 3. ed. Upple Saddle River: Prentice Hall, 1996.

## 7. ANEXOS

**ANEXO 1. TABELAS DE ANOVA DOS MODELOS REFERENTES AO ÍNDICE DE PERÓXIDO (IP) DO ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM PVC.** SQ = soma quadrática; GL = número de graus de liberdade; QM = quadrado médio;  $F_{5\%}$  = valores críticos de F ao nível de 5%;  $F_c$  = F corrigido (Anova modificada).

**Tabela A1.1.** ANOVA para IP do óleo de soja (PVC, 1 mês de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	$F_c$	F5%
Regressão	17,9540	12	1,4962	58,17	44,14	2,42
Resíduo	0,4115	16	0,0257			
Falta de ajuste	0,4069	12	0,0339	29,49		5,91
Erro puro	0,0046	4	0,0011			
Total	18,3655	28	0,6559			

**Tabela A1.2.** ANOVA para IP do óleo de soja (PVC, 2 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	$F_c$	F5%
Regressão	22,6474	13	1,7421	32,81	24,23	2,45
Resíduo	0,7964	15	0,0531			
Falta de ajuste	0,7914	11	0,0719	57,56		5,93
Erro puro	0,0050	4	0,0013			
Total	23,4438	28	0,8373			

**Tabela A1.3.** ANOVA para IP do óleo de soja (PVC, 3 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	$F_c$	F5%
Regressão	27,0514	11	2,4592	36,52	28,14	2,42
Resíduo	1,1447	17	0,0673			
Falta de ajuste	1,1362	13	0,0874	41,13		5,88
Erro puro	0,0085	4	0,0021			
Total	28,1961	28	1,007003			

**Tabela A1.4.** ANOVA para IP do óleo de soja (PVC, 4 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F <sub>c</sub>	F5%
Regressão	32,1268	11	2,9206	29,62	22,76	2,42
Resíduo	1,6763	17	0,0986			
Falta de ajuste	1,6686	13	0,1283	66,68		5,88
Erro puro	0,0077	4	0,0019			
Total	33,8031	28	1,2072			

**Tabela A1.5.** ANOVA para IP do óleo de soja (PVC, 5 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F <sub>c</sub>	F5%
Regressão	36,9829	12	3,0819	24,49	18,42	2,42
Resíduo	2,0131	16	0,1258			
Falta de ajuste	2,0072	12	0,1673	113,40		5,91
Erro puro	0,0059	4	0,0015			
Total	38,9960	28	1,3927			

**Tabela A1.6.** ANOVA para IP do óleo de soja (PVC, 6 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F <sub>c</sub>	F5%
Regressão	40,0994	13	3,0846	16,23	11,92	2,45
Resíduo	2,8510	15	0,1901			
Falta de ajuste	2,8453	11	0,2587	181,52		5,93
Erro puro	0,0057	4	0,0014			
Total	42,9504	28	1,5339			

**ANEXO 2. TABELAS DE ANOVA DOS MODELOS DE EXTINÇÃO  
ESPECÍFICA (K) A 232 nm DO ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM PVC.**

Sendo: SQ = soma quadrática; GL = número de graus de liberdade; QM = quadrado médio;  
F<sub>5%</sub> = valores críticos de F ao nível de 5%; F<sub>c</sub> = F corrigido (Anova modificada).

**Tabela A2.1.** ANOVA para K do óleo de soja (PVC, 1 mês de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F <sub>c</sub>	F5%
Regressão	0,0125	14	0,00090	5,23	3,91	2,48
Resíduo	0,0024	14	0,00017			
Falta de ajuste	0,0023	10	0,00023	9,20		5,96
Erro puro	0,0001	4	0,00003			
TOTAL	0,0149	28	0,00053			

**Tabela A2.2.** ANOVA para K do óleo de soja (PVC, 2 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F <sub>c</sub>	F5%
Regressão	0,0179	14	0,00128	1,64		2,48
Resíduo	0,0109	14	0,00078			
Falta de ajuste	0,0106	10	0,00106	14,13		5,96
Erro puro	0,0003	4	0,00008			
TOTAL	0,0288	28	0,00103			

**Tabela A2.3.** ANOVA para K do óleo de soja (PVC, 3 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F <sub>c</sub>	F5%
Regressão	0,0161	14	0,00115	3,73		2,48
Resíduo	0,0043	14	0,00031			
Falta de ajuste	0,0040	10	0,00040	5,33		5,96
Erro puro	0,0003	4	0,00008			
TOTAL	0,0204	28	0,00073			

**Tabela A2.4.** ANOVA para K do óleo de soja (PVC, 4 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F5%
Regressão	0,0347	14	0,00248	4,04	2,48
Resíduo	0,0086	14	0,00061		
Falta de ajuste	0,0071	10	0,00071	1,89	5,96
Erro puro	0,0015	4	0,00038		
TOTAL	0,0433	28	0,00155		

**Tabela A2.5.** ANOVA para K do óleo de soja (PVC, 5 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F5%
Regressão	0,0350	14	0,00250	3,54	2,48
Resíduo	0,0099	14	0,00071		
Falta de ajuste	0,0086	10	0,00086	2,65	5,96
Erro puro	0,0013	4	0,00033		
TOTAL	0,0449	28	0,00160		

**Tabela A2.6.** ANOVA para K do óleo de soja (PVC, 6 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F5%
Regressão	0,0320	14	0,0023	2,76	2,48
Resíduo	0,0116	14	0,0008		
Falta de ajuste	0,0010	10	0,0001	0,04	5,96
Erro puro	0,0106	4	0,0027		
TOTAL	0,0436	28	0,0016		

**ANEXO 3. TABELA DE ANOVA DO MODELO REFERENTE À DIFERENÇA DO CONTROLE, APÓS SEIS MESES DE ESTOCAGEM DO ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM GARRAFAS DE PVC**

<b>Fonte de variação</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>F<sub>c</sub></b>	<b>F(5%)</b>
Regressão	35,4925	13	2,7302	25,47	19,03	2,45
Resíduo	1,6080	15	0,1072			
Falta de ajuste	1,5782	11	0,1435	19,26		5,93
Erro puro	0,0298	4	0,0075			
Total	37,1005	28	1,3250			

SQ = soma quadrática; GL = número de graus de liberdade; QM = quadrado médio; F<sub>5%</sub> = valores críticos de F ao nível de 5%; F<sub>c</sub> = F corrigido (Anova modificada).

**ANEXO 4. CORRELAÇÕES ENTRE AS RESPOSTAS REFERENTES AO  
EXPERIMENTO COM PVC**

(em negrito, as significativas a  $p \leq 0,05$ ):

	<b>IP<sub>1</sub></b>	<b>IP<sub>2</sub></b>	<b>IP<sub>3</sub></b>	<b>IP<sub>4</sub></b>	<b>IP<sub>5</sub></b>	<b>IP<sub>6</sub></b>	<b>DC</b>
<b>IP<sub>1</sub></b>	<b>1,0000</b>	<b>0,9969</b>	<b>0,9939</b>	<b>0,9903</b>	<b>0,9871</b>	<b>0,9844</b>	<b>0,9707</b>
<b>IP<sub>2</sub></b>	<b>0,9969</b>	<b>1,0000</b>	<b>0,9984</b>	<b>0,9966</b>	<b>0,9943</b>	<b>0,9925</b>	<b>0,9751</b>
<b>IP<sub>3</sub></b>	<b>0,9939</b>	<b>0,9984</b>	<b>1,0000</b>	<b>0,9986</b>	<b>0,9977</b>	<b>0,9960</b>	<b>0,9779</b>
<b>IP<sub>4</sub></b>	<b>0,9903</b>	<b>0,9966</b>	<b>0,9986</b>	<b>1,0000</b>	<b>0,9989</b>	<b>0,9982</b>	<b>0,9799</b>
<b>IP<sub>5</sub></b>	<b>0,9871</b>	<b>0,9943</b>	<b>0,9977</b>	<b>0,9989</b>	<b>1,0000</b>	<b>0,9982</b>	<b>0,9786</b>
<b>IP<sub>6</sub></b>	<b>0,9844</b>	<b>0,9925</b>	<b>0,9960</b>	<b>0,9982</b>	<b>0,9982</b>	<b>1,0000</b>	<b>0,9791</b>
<b>DC</b>	<b>0,9707</b>	<b>0,9751</b>	<b>0,9779</b>	<b>0,9799</b>	<b>0,9786</b>	<b>0,9791</b>	<b>1,0000</b>

**ANEXO 5. TABELAS DE ANOVA DOS MODELOS REFERENTES AO ÍNDICE DE PERÓXIDO (IP) DO ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM PET.**

SQ = soma quadrática; GL = número de graus de liberdade; QM = quadrado médio;  $F_{5\%}$  = valores críticos de F ao nível de 5%;  $F_c$  = F corrigido (Anova modificada).

**Tabela A5.1.** ANOVA para IP do óleo de soja (PET, 1 mês de estocagem)

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	$F_c$	F5%
Regressão	13,7048	12	1,1421	30,23	22,83	2,42
Resíduo	0,6045	16	0,0378			
Falta de ajuste	0,6002	12	0,0500	46,53		5,91
Erro puro	0,0043	4	0,0011			
Total	14,3093	28	0,5110			

**Tabela A5.2.** ANOVA para IP do óleo de soja (PET, 2 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	$F_c$	F5%
Regressão	17,3533	11	1,5776	20,35	15,61	2,41
Resíduo	1,3181	17	0,0775			
Falta de ajuste	1,3134	13	0,1010	85,98		5,93
Erro puro	0,0047	4	0,0012			
Total	18,6714	28	0,6668			

**Tabela A5.3.** ANOVA para IP do óleo de soja (PET, 3 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	$F_c$	F5%
Regressão	20,8198	11	1,8927	17,73	13,62	2,41
Resíduo	1,8149	17	0,1068			
Falta de ajuste	1,8070	13	0,1390	70,38		5,93
Erro puro	0,0079	4	0,0020			
Total	22,6347	28	0,8084			

**Tabela A5.4.** ANOVA para IP do óleo de soja (PET, 4 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F <sub>c</sub>	F5%
Regressão	25,2138	11	2,2922	17,33	13,29	2,41
Resíduo	2,2489	17	0,1323			
Falta de ajuste	2,2417	13	0,1724	95,80		5,93
Erro puro	0,0072	4	0,0018			
Total	27,4627	28	0,9808			

**Tabela A5.5.** ANOVA para IP do óleo de soja (PET, 5 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F <sub>c</sub>	F5%
Regressão	29,3706	13	2,2593	12,58	9,24	2,46
Resíduo	2,6949	15	0,1797			
Falta de ajuste	2,6894	11	0,2445	177,81		5,93
Erro puro	0,0055	4	0,0014			
Total	32,0655	28	1,1452			

**Tabela A5.6.** ANOVA para IP do óleo de soja (PET, 6 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F <sub>c</sub>	F5%
Regressão	33,2126	14	2,3723	14,84	10,61	2,44
Resíduo	2,2379	14	0,1599			
Falta de ajuste	2,2353	10	0,2235	343,89		5,96
Erro puro	0,0026	4	0,0007			
Total	35,4505	28	1,2661			

**ANEXO 6. TABELAS DE ANOVA DOS MODELOS DE EXTINÇÃO****ESPECÍFICA (K) A 232 nm DO ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM PET.**

Sendo: SQ = soma quadrática; GL = número de graus de liberdade; QM = quadrado médio;

$F_{5\%}$  = valores críticos de F ao nível de 5%;  $F_c$  = F corrigido (Anova modificada).

**Tabela A6.1.** ANOVA para K do óleo de soja (PET, 1 mês de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	$F_c$	F5%
Regressão	0,0132	14	0,0009	5,76	4,30	2,48
Resíduo	0,0023	14	0,0002			
Falta de ajuste	0,0022	10	0,0002	8,80		5,96
Erro puro	0,0001	4	0,0000			
TOTAL	0,0155	28	0,0006			

**Tabela A6.2.** ANOVA para K do óleo de soja (PET, 2 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	$F_c$	F5%
Regressão	0,0138	14	0,0010	2,83	2,14	2,48
Resíduo	0,0049	14	0,0003			
Falta de ajuste	0,0046	10	0,0005	6,76		5,96
Erro puro	0,0003	4	0,0001			
TOTAL	0,0186	28	0,0007			

**Tabela A6.3.** ANOVA para K do óleo de soja (PET, 3 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F5%
Regressão	0,0139	14	0,0010	1,55	2,48
Resíduo	0,0090	14	0,0006		
Falta de ajuste	0,0088	10	0,0009	14,23	5,96
Erro puro	0,0002	4	0,0001		
TOTAL	0,0229	28	0,0008		

**Tabela A6.4.** ANOVA para K do óleo de soja (PET, 4 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F5%
Regressão	0,0337	14	0,0024	4,04	2,48
Resíduo	0,0084	14	0,0006		
Falta de ajuste	0,0069	10	0,0007	1,90	5,96
Erro puro	0,0015	4	0,0004		
TOTAL	0,0421	28	0,0015		

**Tabela A6.5.** ANOVA para K do óleo de soja (PET, 5 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F5%
Regressão	0,0311	14	0,0022	2,47	2,48
Resíduo	0,0126	14	0,0009		
Falta de ajuste	0,0118	10	0,0012	6,07	5,96
Erro puro	0,0008	4	0,0002		
TOTAL	0,0437	28	0,0016		

**Tabela A6.6.** ANOVA para K do óleo de soja (PET, 6 meses de estocagem).

Fonte de variação	SQ	GL	QM	F	F5%
Regressão	0,0311	14	0,0022	2,79	2,48
Resíduo	0,0111	14	0,0008		
Falta de ajuste	0,0103	10	0,0010	4,63	5,96
Erro puro	0,0009	4	0,0002		
TOTAL	0,0422	28	0,0015		

**ANEXO 7. TABELA DE ANOVA DO MODELO REFERENTE À DIFERENÇA DO CONTROLE, APÓS SEIS MESES DE ESTOCAGEM DO ÓLEO DE SOJA ACONDICIONADO EM PET**

<b>Fonte de variação</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>F<sub>c</sub></b>	<b>F(5%)</b>
Regressão	23,3623	11	2,1238	18,28	2,41	14,14
Resíduo	1,9749	17	0,1162			
Falta de ajuste	1,9521	13	0,1502	26,34	5,89	
Erro puro	0,0228	4	0,0057			
Total	25,3372	28	0,9049			

SQ = soma quadrática; GL = número de graus de liberdade; QM = quadrado médio; F<sub>5%</sub> = valores críticos de F ao nível de 5%; F<sub>c</sub> = F corrigido (Anova modificada).

**ANEXO 8. CORRELAÇÕES ENTRE AS RESPOSTAS REFERENTES AO  
EXPERIMENTO COM PET**

(em negrito, as significativas a  $p \leq 0,05$ ):

	<b>IP<sub>1</sub></b>	<b>IP<sub>2</sub></b>	<b>IP<sub>3</sub></b>	<b>IP<sub>4</sub></b>	<b>IP<sub>5</sub></b>	<b>IP<sub>6</sub></b>	<b>DC</b>
<b>IP<sub>1</sub></b>	<b>1,0000</b>	<b>,9936</b>	<b>,9890</b>	<b>,9846</b>	<b>,9724</b>	<b>,9606</b>	<b>,9466</b>
<b>IP<sub>2</sub></b>	<b>,9936</b>	<b>1,0000</b>	<b>,9973</b>	<b>,9949</b>	<b>,9875</b>	<b>,9747</b>	<b>,9586</b>
<b>IP<sub>3</sub></b>	<b>,9890</b>	<b>,9973</b>	<b>1,0000</b>	<b>,9975</b>	<b>,9903</b>	<b>,9754</b>	<b>,9570</b>
<b>IP<sub>4</sub></b>	<b>,9846</b>	<b>,9949</b>	<b>,9975</b>	<b>1,0000</b>	<b>,9955</b>	<b>,9825</b>	<b>,9657</b>
<b>IP<sub>5</sub></b>	<b>,9724</b>	<b>,9875</b>	<b>,9903</b>	<b>,9955</b>	<b>1,0000</b>	<b>,9935</b>	<b>,9727</b>
<b>IP<sub>6</sub></b>	<b>,9606</b>	<b>,9747</b>	<b>,9754</b>	<b>,9825</b>	<b>,9935</b>	<b>1,0000</b>	<b>,9755</b>
<b>DC</b>	<b>,9466</b>	<b>,9586</b>	<b>,9570</b>	<b>,9657</b>	<b>,9727</b>	<b>,9755</b>	<b>1,0000</b>