



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

KLICIA ARAUJO SAMPAIO

**DESACIDIFICAÇÃO POR VIA FÍSICA DE ÓLEO DE PALMA: EFEITO DA
COMPOSIÇÃO DO ÓLEO, DAS PERDAS DE COMPOSTOS
NUTRACÊUTICOS E CINÉTICAS DE DEGRADAÇÃO**

**TESE DE DOUTORADO
APRESENTADA À FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
UNICAMP PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM
ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

Prof. Dr. Antonio José de Almeida Meirelles (orientador)

Profa. Dra. Roberta Ceriani (co-orientadora)

Prof. Dr. Roland Verhé (co-orientador)

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida por Klicia Araújo Sampaio, aprovada pela comissão julgadora em ____/____/____ e orientado pelo Prof. Dr. Antonio José de Almeida Meirelles.

Assinatura do Orientador

CAMPINAS, 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
CLAUDIA AP. ROMANO DE SOUZA – CRB8/5816 - BIBLIOTECA DA FACULDADE DE
ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

Sampaio, Klicia Araujo, 1981-
Sa47d Desacidificação por via física de óleo de palma:
efeito da composição do óleo, das perdas de compostos
nutracêuticos e cinéticas de reação / Klicia Araujo
Sampaio. -- Campinas, SP: [s.n], 2011.

Orientador: Antonio José de Almeida Meirelles.
Coorientador: Roberta Ceriani.
Coorientador: Roland Verhé.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Óleo de palma. 2. Refino físico. 3. Perda de
óleo neutro. 4. Cinética. 5. Degradação térmica. I.
Meirelles, Antonio José de Almeida. II. Ceriani,
Roberta. III. Verhé, Roland. IV. Universidade
Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de
Alimentos. V. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Physical deacidification of palm oil: effect of oil composition,
losses of nutraceutical compounds and reaction kinetics

Palavras-chave em inglês (Keywords):

Palm oil

Physical refining

Neutral oil loss

Kinetics

Thermal degradation

Área de concentração: Engenharia de alimentos

Titulação: Doutor em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Antonio José de Almeida Meirelles [Orientador]

Eduardo Caldas Batista

Cíntia Bernardo Gonçalves

Renato Grimaldi

Marcelo Lanza

Data da defesa: 28/07/2011

Programa de Pós Graduação: Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antonio José de Almeida Meirelles
DEA/FEA/UNICAMP
Orientador

Prof. Dr. Eduardo Caldas Batista (Membro Titular)
DEA/FEA/UNICAMP

Prof^a. Dr^a. Cintia Bernardo Gonçalves (Membro Titular)
DEA/FZEA/USP

Prof. Dr. Marcelo Lanza (Membro Titular)
EAQ/CTC/UFSC

Dr. Renato Grimaldi (Membro Titular)
DTA/FEA/UNICAMP

Dr^a. Silvana Aparecida Rocco (Membro Suplente)
LNBio/CNPEN/ABTLuS

Prof^a. Dr^a. Sueli Marie Ohata (Membro Suplente)
DEN/FAEN/UFGD

Dr^a. Mariana Conceição Costa (Membro Suplente)
DEA/FEA/UNICAMP

“Whatever is worth doing is worth doing well”.

Sir Edward John Poynter (1836-1919)

DEDICATÓRIA

À Deus.

Dedico esta tese as pessoas que mais amo neste mundo:

Ao meu querido pai, Washington, idealizador de tudo isso.

À minha super mãe, Wilian, sempre presente em todos os momentos da minha vida.

À minha querida avó, Maximiana, de quem sentirei eterna saudade.

Ao meu amado marido, Anderson, que com toda paciência e amor esteve sempre ao meu lado.

À minha família maravilhosa: minha irmã Ingrid, meu irmão Allan e seus respectivos, marido e esposa, Rinaldo e Elionária (Ná), minhas tias, tios e primos (Araújo e Sampaio).

AGRADECIMENTOS

À UNICAMP e ao Departamento de Engenharia de Alimentos pela oportunidade a mim proporcionada.

Ao Prof. Dr. Antonio José de Almeida Meirelles, pela orientação, atenção, disponibilidade e por acreditar que este trabalho poderia se tornar realidade.

À Prof. Dra. Roberta Ceriani, pela inestimável colaboração, paciência e por todo tempo dedicado para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Roland Verhé, por me receber na Universidade de Ghent e por tornar possível o intercâmbio durante o doutorado.

Ao programa Erasmus Mundus, pela concessão da bolsa de estudos na Bélgica.

Aos membros da banca, pelo enriquecimento do conteúdo deste trabalho.

Ao CNPq e a CAPES pelo apoio financeiro que tornou possível a realização deste trabalho.

A Thiago Taham e Simone Monteiro, pelo apoio durante execução dos experimentos, por tornarem o tempo dos experimentos sempre mais curtos e com certeza pelas boas risadas.

À Dra. Silvana Rocco pela ajuda indispensável e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Eduardo Batista pelas valiosas sugestões e por ter se tornado um grande amigo.

Ao Sr. Homero Souza (Agropalma S/A), pela doação do óleo de palma em todas etapas do trabalho, inclusive quando estava na Bélgica.

Aos meus amigos, por estarem sempre presentes nos momentos importantes, sejam eles alegres ou tristes. Agradeço por compartilharem aniversários, almoços, festas juninas, ginástica (cond. corporate), churrascos, cinema, enfim tudo que há de bom.

Ao Marcos Amorim, Sueli Ohata, Barbara Jordão, Hellen Caldeira, Íris Coutinho, Margarita Andrade, Itamar Oliveira, Myung Baldini, Bia Salgado, Aline Corrêa, Izaías Brito, Kamélia Basrei, Paula Soubhia, Fábio Bertolotto, Thaiana Hermenegildo, Laércio Santos, Marcel Katekawa, agradeço em especial.

Aos meus colegas de laboratório Losi, Mariana, Hugo, Marcelo, Natalia, Paulo, Marina, Thaiana, Rodrigo, Maîte, Larissa, Marcela, Guilherme, Irede, Camila Peixoto, Camilinha, Josy, Helena, Patrícia, Follegatti, Fábio, Wagner, Raphael, Clere, Thomás, pelos bons momentos de descontração, todo o tempo de convívio e amizade.

I would also like to thank my “belgian” friends: Sonjia, Marina, Asta, Vaida, Vida, Liza, Jean, Miralis, Stas, Eduardo, Imen, Hugo, Ana, Marie, Pedro, Vera, Cedric, Ricardo, Peiter, Fátima, Ans, Ingrid, Ângela e Aline.

Ao meu marido, pelo amor, carinho, dedicação, confiança e paciência. Anderson, sem dúvida sua contribuição foi imprescindível para execução deste trabalho.

À minha família, pelo incentivo, confiança e apoio incondicional.

Claro que não cabem todos aqui, mas saibam que na memória e no coração levarei todos que participaram direta ou indiretamente dessa história...

MUITO OBRIGADA!!!!

Sumário

Índice de Tabelas	xiii
Índice de Figuras.....	xv
Resumo	xviii
Abstract	xix
Capítulo 1. Introdução Geral.....	1
Capítulo 2. Revisão Bibliográfica	5
2.1 Óleos Vegetais	5
2.2 Óleo de Palma	6
2.2.1 Composição do Fruto da Palmeira	9
2.2.2 Composição e Constituintes do Óleo de Palma Bruto	10
2.2.3 Usos do Óleo de Palma	11
2.2.4 A Palma e a Produção de Biodiesel.....	11
2.3 Componentes Majoritários: Triacilgliceróis e Ácidos Graxos	13
2.3.1 Perfil em Ácidos Graxos	13
2.3.1.1 Comprimento da Cadeia de Ácidos Graxos	13
2.3.1.2 Ácidos Graxos Saturados	14
2.3.1.3 Ácidos Graxos Insaturados	14
2.3.2 Perfil em Triacilgliceróis	15
2.3.3 Importância dos Ácidos Graxos e Triacilgliceróis	16
2.3.3.1 Funcionalidade dos Lipídios	16
2.3.3.2 Valor Nutricional	16
2.3.4 Fracionamento do Óleo de Palma	17
2.4 Componentes Minoritários	18
2.4.1 Ácidos Graxos Livres	18
2.4.2 Fosfolipídios	19
2.4.3 Carotenóides	20
2.4.4 Tocoferóis e Tocotrienóis	22
2.4.5 Fitosteróis	24
2.4.6 Esqualeno	26

2.4.7 Componentes de Odor	27
2.4.8 Traços de Metais	28
2.5 Técnicas utilizadas na redução da perda dos componentes minoritários	28
2.6 Processamento de Óleos Vegetais	29
2.6.1 Isolamento do Óleo a partir de Material Oleaginoso	30
2.6.2 Refino	31
2.6.2.1 Degomagem	32
2.6.2.2 Neutralização	33
2.6.2.3 Branqueamento	33
2.6.2.4 Desodorização	34
2.6.2.5 Princípios da Desodorização	35
2.7 Refino Físico versus Refino Químico	36
2.7.1 Poluição Ambiental	36
2.7.2 Número de Estágios	36
2.7.3 Vantagens Relacionadas aos Custos	37
2.8 Perdas durante o Processamento de Óleos	37
2.8.1 Perdas por Volatilização	37
2.8.2 Perdas por Arraste Mecânico	39
2.9 Reações de Degradação Térmica	39
2.9.1 Degradação de Carotenóides	39
2.9.2 Hidrólise de Triacilgliceróis	41
Referências Bibliográficas	43
Capítulo 3. Steam Deacidification of Palm Oil	55
Keywords	56
Abstract	56
3.1 Introduction	56
3.2 Experimental Procedure	58
3.2.1 Material	58
3.2.2 Methods	58
3.2.3 Deacidification Method	59
3.3 Experimental Design	63

3.4	Results and Discussion	64
3.5	Conclusion	73
	Nomenclature	73
	Acknowledgments	74
	References	74
	Capítulo 4. Thermal Degradation Kinetics of Carotenoids in Palm Oil	76
	Keywords	77
	Abstract	77
4.1	Introduction.....	77
4.2	Material and Method	79
4.2.1	Palm Oil.....	79
4.2.2	Pre-treatment – Degumming and Silica Treatment.....	79
4.2.3	Thermal Treatment	79
4.2.4	Tocols and Carotenoids Analysis	80
4.2.5	Kinetics Modeling and Statistical Analysis.....	81
4.3	Results and Discussion	82
4.3.1	Analysis of Tocols Content	84
4.3.2	Degradation Kinetics Parameters	85
4.3.3	Effect of Temperature on Rate Constant	88
4.3.4	Analysis of Literature Data	89
4.3.4.1	Evaluation of the kinetic parameters on the prediction of carotene retention in palm oil	90
	Conclusions	93
	Acknowledgments.....	94
	References	94
	Capítulo 5. Influence of the Initial Palm Oil Acidity on the Quality of the Refined Product.....	97
	Keywords	98
	Abstract	98
5.1	Introduction.....	98
5.2	Material and Method	100

5.2.1 Material.....	100
5.2.2 Methods	100
5.2.2.1 Experimental Design	100
5.2.2.2 Pre-treatment – Degumming and Silica Treatment	102
5.2.2.3 Deacidification Method	103
5.2.2.4 Chemical Analysis	104
5.3 Results and Discussion	106
5.3.1 Physical Refining: Preliminary Steps	106
5.3.2 Model Fitting	107
5.3.3 Analysis of Response Surfaces	110
5.3.4 Analysis of Squalene and Phytosterols in Palm Oil Samples	113
5.4 Conclusion	114
Acknowledgments	115
References	115
Capítulo 6. Free Fatty Acid Formation During Steam Deacidification.....	118
Keywords	119
Abstract	119
6.1 Introduction.....	119
6.2 Material and Method	121
6.2.1 Palm Oil Sample	121
6.2.2 Experimental Procedure	121
6.2.3 Analysis	122
6.2.4 Hydrolysis Kinetics of Neutral Oil.....	122
6.2.5 Statistical Analysis	123
6.3 Results and Discussion	123
6.3.1 Variable Flow Rate and Constant Temperature	124
6.3.2 Constant Flow Rate and Temperature	127
6.3.3 Experiments Varying Process Temperature	128
6.3.4 Calculation of Kinetics Parameters	130
6.4 Conclusion	133
Acknowledgments.....	133

References	134
Capítulo 7. Conclusões Gerais	136
7.1 Sugestões para Trabalhos Futuros	138
APÊNDICE I: Cromatogramas referentes as análises de carotenóides e tocóis (tocoferóis e tocotrienóis) em óleo de palma	139
APÊNDICE II: Cromatogramas referentes as análises de esqualeno e fitosteróis em amostras de óleo de palma	143

Índice de Tabelas

Tabela 2.2.2.1. Composição geral do óleo de palma bruto (ZIN, 2006).	10
Tabela 2.3.3.1. Composição em massa dos ácidos graxos de alguns óleos/gorduras selecionados.	15
Tabela 2.4.2.1. Estrutura e nome dos fosfolipídios mais importantes.	20
Tabela 2.4.6.1. Conteúdo de esqualeno em óleos vegetais selecionados.	27
Tabela 2.8.1.1. Volatilidade relativa dos principais componentes dos óleos vegetais em relação ao tocoferol (WOERFEL, 1995).	38
Table 3.2.3.1. Factorial design: coded variables, real variables, and experimental results..	61
Table 3.4.1. Fatty acid compositions of palm olein, palm stearin, and oleic acid.	64
Table 3.4.2. Composition of the acylglycerol fractions and free fatty acids of the palm stearin, palm olein and the model systems (mass %) ^a	65
Table 3.4.3. Analysis of variance (ANOVA).	70
Table 4.3.1.1. Changes in tocols in bleached palm oil heated at different temperatures.	84
Table 4.3.2.1. Reaction rate constants and correlation coefficients for carotenoids at four different temperatures.	88
Table 5.2.2.1.1. Central composite design, experiment data, and predicted data for the physical refining of palm oil	101
Table 5.3.1.1. Physical refining preliminary steps.	106
Table 5.3.2.1. Analysis of variance: final FFA, neutral oil loss (NOL) and tocols retention model.	110
Table 5.3.4.1. Analysis of squalene and sterols.	114
Table 6.3.1.1. Hydrolysis of neutral oil considering constant temperature and variable steam flow rate.	125
Table 6.3.2.1. Hydrolysis of neutral oil considering constant temperature and steam flow rate (260 °C/0.1 ml·min ⁻¹).	128

Table 6.3.3.1. Hydrolysis of neutral oil considering constant stripping time and steam flow rate ($0.1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$).	129
--	-----

Table 6.3.4.1. Rate constant (k) and correlation coefficient (R^2) for hydrolysis of triacylglycerols in RBD palm oil.	132
---	-----

Índice de Figuras

Figura 2.2.1. Palmeira oleaginosa (USDA, 2011a).	6
Figura 2.2.2. Cachos e frutos da palmeira oleaginosa (ANUÁRIO BIODIESEL, 2007).	8
Figura 2.2.1.1. Composição global do fruto da palmeira oleaginosa (BOCKISH, 1998).	9
Figura 2.2.1.2. Composição do mesocarpo do fruto da palmeira (BOCKISH, 1998).	9
Figura 2.4.2.1. Estrutura química dos fosfolipídios.	19
Figura 2.4.3.1. Estrutura química: (a) α -caroteno e (b) β -caroteno.	22
Figura 2.4.4.1. Estrutura química dos tocoferóis (a) e tocotrienóis (b).	23
Figura 2.4.5.1. Estrutura química de esteróis de origem animal, (a) colesterol, e vegetal: (b) β -sitosterol, (c) estigmasterol e (d) campesterol.	25
Figura 2.4.6.1. Estrutura química da molécula de esqualeno.	26
Figura 2.6.2.1. Etapas do refino químico e físico (Adaptado de Kellens e De Greyt, 2000).	32
Figura 2.9.2.1. Etapas do processo de degradação dos triacilgliceróis.	42
Figure 3.2.3.1. Scheme of the lab-scale batch deodorizer: a. burette; b. microperistaltic pump; c. heating glass coil; d. heating trap; e. ceramic jacket; f. three way valve; g. glass batch deodorizer; h. thermocouple 1 (T_o); i. thermocouple 2 (T_{ov}); j. thermocouple 3 (T_g); k. digital vacuum intensity meter; l. mercury column manometer; m. aluminum jacket; n. gas outlet; o. Kevlar insulation; p. glass condenser; q. distillate recovery; r. cooling trap; s. vacuum pump; t. glass sampler.	60
Figure 3.4.1. Temperature profile for (a) trial 4 at 247.9 °C and (b) trial 13 at 230 °C: T_o (■), T_g (▲) and T_{ov} (●).	67
Figure 3.4.2. Differences between the oil temperature (T_o) and the outlet of volatiles temperature (T_{ov}) for trials 15 (■), 16 (●) and 17 (▲).	69
Figure 3.4.3. Response surface and contour curves as a function of temperature (°C) and steam (%) for (a and b) final oil acidity and (c and d) neutral oil loss.	72
Figure 4.3.1. Thermal destruction of carotenoids at 170 °C (◆), 190 °C (■), 210 °C (▲); 230 °C (●).	83

Figure 4.3.2.1. Degradation kinetics plots of carotenoids in palm oil for 1.3 order reaction at: 170 °C (■) and 190 °C (◆) (a) and 210 °C (▲) and 230 °C (●) (b).	86
Figure 4.3.3.1. Dependence of the degradation rate constant on the temperature as represented by Equation 4.2.5.5.	89
Figure 4.3.4.1.1. Carotene degradation data at 180 °C: prediction of Loncin [9] data (□); prediction of Jideani [8] data (○); experimental data provided by Loncin [9] (■); experimental data provided by Jideani [8] (●).	91
Figure 4.3.4.1.2. Carotene degradation data at 200 °C: prediction of Loncin [9] data (Δ); prediction of Jideani [8] data (◇); experimental data provided by Loncin [9] (▲); experimental data provided by Jideani [8] (◆).	93
Figure 5.3.3.1. Response surface and contour curves as a function of temperature (°C) and steam (%) for final FFA (a, b), neutral oil loss (c, d), and tocopherols retention (e, f).	113
Figure 6.3.1.1. Extra produced and total FFA-concentration in the RBD palm oil while keeping constant temperature and pressure on the physical refining.	127
Figure 6.3.2.1. FFA-concentration in the oil and total FFA-concentration formed during the physical refining process of RBD palm oil.	128
Figure 6.3.3.1. FFA-concentration in the oil and total FFA-concentration formed during the physical refining process of RBD palm oil at different temperatures and constant stripping time (2.5 h).	130
Figure 6.3.4.1. First order plots for the hydrolysis of triacylglycerols in RBD palm oil at four temperatures: 230 °C (◆), 240 °C (●), 250 °C (▲) and 260 °C (■).	132
Figure 6.3.4.2. Arrhenius plot for the hydrolysis of neutral oil in RBD palm oil.	133
Figura A1. Análise de tocois (Det. A Ch1) e carotenóides (PDA Multi 1) por HPLC para amostra de óleo de palma tratada á 170 °C/100 min.	139
Figura A2. Análise de tocois (Det. A Ch1) e carotenóides (PDA Multi 1) por HPLC para amostra de óleo de palma tratada a 190 °C/60 min.	140
Figura A3. Análise de tocois (Det. A Ch1) e carotenóides (PDA Multi 1) por HPLC para amostra de óleo de palma tratada a 210 °C/20 min.	141
Figura A4. Análise de tocois (Det. A Ch1) e carotenóides (PDA Multi 1) por HPLC para amostra de óleo de palma tratada a 230 °C/80 min.	142
Figura A5. Fração insaponificável no óleo de palma: esqualeno (Esq); fitosteróis (1 - campesterol; 2 - estigmasterol; 3 - β - sitosterol); padrão interno (PI - colesterol) por cromatografia gasosa.	143

Figura A6. Identificação da matéria insaponificável presente no óleo de palma por cromatografia gasosa associada com espectrômetro de massas: esqualeno (Esq); fitosteróis (1-campesterol; 2 – estigmasterol; 3 – β – sitosterol) padrão interno (PI – colesterol). 144

Resumo

Os parâmetros ótimos de desodorização (temperatura, porcentagem de vapor e pressão de operação) são determinados de acordo com o tipo de óleo e o processo de refino selecionado. O refino do óleo de palma é realizado preferencialmente através do refino físico, pois sua elevada acidez pode provocar uma perda excessiva de óleo neutro no caso da utilização do refino químico. O refino físico de óleos vegetais consiste num processo de esgotamento ou *stripping*, no qual sob pressões reduzidas e elevadas temperaturas os compostos voláteis são removidos do óleo neutro através da utilização de um agente de arraste, que pode ser um gás ou vapor. No entanto, estas condições de processo também facilitam a ocorrência de volatilização de valiosos compostos minoritários como esqualeno, tocoferóis, tocotrienóis, fitoesteróis, bem como uma pequena porção dos acilgliceróis. Desta forma, este trabalho apresenta a aplicação da metodologia de superfície de resposta (MSR) no estudo dos efeitos de três variáveis de processo (temperatura, porcentagem de vapor e fração estearina/oleína), sobre a perda/transferência de compostos graxos durante a desacidificação física. As respostas de interesse foram acidez final do óleo e perda de óleo neutro (PON). Os resultados revelaram que a composição do óleo é um fator importante e estatisticamente significativo a ser considerado na seleção de variáveis de processo mais adequadas, além da temperatura e da porcentagem de vapor. Na segunda etapa, foi realizado um estudo detalhado da degradação térmica dos carotenóides no óleo de palma considerando-se temperaturas variando na faixa de 170 °C a 230 °C. O processo de aquecimento foi realizado com injeção de nitrogênio e a coleta de amostra foi feita a cada 20 min durante um período de aquecimento total de 140 min. Os dados experimentais foram então comparados com dados da literatura relacionados à degradação de carotenóides. A degradação térmica dos carotenóides mostrou uma melhor adequação a uma ordem de reação superior a 1. Em uma etapa posterior, a metodologia de superfície de resposta (MSR) foi aplicada para o refino físico de amostras de óleo de palma de diferentes qualidades, medidas através de sua acidez inicial. Foram consideradas a influência de duas condições de operação e um terceiro parâmetro de qualidade, sendo estes: temperatura, porcentagem de vapor e acidez inicial das amostras. As respostas de interesse foram acidez final do óleo, retenção de tocóis, perda de óleo neutro (PON) e retenção de carotenóides. Os resultados mostraram que a acidez inicial é um parâmetro estatisticamente importante para a obtenção de valores aceitáveis de acidez final. Este parâmetro está diretamente relacionado à concentração de componentes minoritários no óleo, pois caso o valor de acidez final não tenha atendido aos padrões pré-determinados, o óleo deve ser submetido a tratamentos subsequentes utilizando-se temperaturas mais elevadas ou maiores tempo de processo, portanto, acarretando a redução dos compostos minoritários. Para finalizar este trabalho foi avaliada a ocorrência da reação de hidrólise de óleo neutro durante o processo de desacidificação física. Os resultados revelaram que as maiores concentrações de ácidos graxos livres (AGL) no óleo e as menores concentrações de AGL no destilado foram obtidas para as maiores vazões de vapor e menores tempos de processo. Observou-se também, que a geração de AGL aumenta com o aumento da porcentagem de vapor e da temperatura do processo. Através da análise da cinética da hidrólise de óleo neutro, foi possível verificar uma boa adequação dos dados à equação de primeira-ordem.

Abstract

Optimal deodorizing parameters (temperature, steam percentage, and operating pressure) are determined by the type of oil and the selected refining process. Refining of palm oil is preferably performed by physical means since its high acidity can lead to excessive losses of neutral oil in case of the caustic refining process. Physical refining of vegetable oils is a stripping process in which, under low absolute pressure and high temperatures, the accompanying lower boiling compounds are distilled off from neutral oil, by using gas or steam, as effective stripping agent. However, these processing conditions also increase the occurrence of volatilization of the valuable minor components present in the oil such as squalene, tocopherols, phytosterols, as well as some portion of acylglycerols. Thus, this work presents the application of response surface methodology (RSM) to the study of the effects of three factors (temperature, percentage of stripping steam and the stearin/olein ratio) on the losses/transfer of fatty compounds during the steam deacidification. The responses of interest were the final oil acidity and the loss of neutral oil (NOL). The results revealed that the oil composition was an important and statistically significant factor in the selection of more suitable processing variables, besides temperature and steam. In the second step, a detailed study was performed for carotene thermal degradation in palm oil at four temperatures ranging from 170 °C to 230 °C. The heating process was carried out with injection of nitrogen and the samples were collected every 20 min during a total heating period of 140 min. The experimental data were then compared to literature data concerning carotenoids thermal degradation. The thermal degradation kinetics of carotenoids in palm oil followed an order superior to 1. In the next step of this work, response surface methodology (RSM) was applied to study the physical refining process of palm oil samples of different qualities, measured by their initial acidity. The influence of two operative conditions and a third quality parameter are considered: the temperature, the steam percentage, and the initial FFA. Their effect on the final FFA, tocopherol retention, neutral oil loss (NOL), and carotene retention was investigated. The results revealed that the initial FFA is a statistically important parameter to obtain acceptable values for final FFA, which has directly relation with the concentration of minor components in the oil by the submission to higher temperatures or longer refining periods, in order to reach the standard values. To end this work, it was evaluated the occurrence of hydrolysis of neutral oil during the steam deacidification. The results revealed that the highest percentages of FFA into the oil and the lowest percentages of FFA on the distillate were obtained when applying high steam flow rates associated with reduced stripping times. It was also observed that the generation of free fatty acids increases with the increasing of the percent of steam injected into the oil as well as with the increasing of the process temperature. The kinetic investigation revealed that the hydrolysis of neutral oil follows a first-order reaction.

Capítulo 1. Introdução Geral

Os óleos vegetais são importantes componentes nutricionais da dieta humana, fornecendo energia, ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis. Estes também conferem características de sabor, aroma e textura aos alimentos e promovem a sensação de saciedade pós-ingestão. Os principais constituintes dos óleos e gorduras são os triacilgliceróis. Acilgliceróis parciais (mono e diacilgliceróis) podem estar presentes em pequenas concentrações. Além dos triacilgliceróis e acilgliceróis parciais, uma grande variedade de componentes minoritários incluindo ácidos graxos livres (AGL), fosfolipídios, fitoesteróis, tocoferóis, ceras, esqualeno, alcoóis triterpênicos, pigmentos e metais estão presentes nos óleos e gorduras (HOFFMANN, 1989).

Para o consumo humano, o óleo bruto deve passar por um processo de refino, cujo objetivo é remover as impurezas e compostos indesejáveis, com menor dano possível aos triacilgliceróis e compostos minoritários. O refino de óleos vegetais pode seguir duas vias distintas: química ou física. Estes processos diferem basicamente na maneira em que os AGL são removidos, podendo ser respectivamente por neutralização ou por destilação (esgotamento) (KELLENS e DE GREYT, 2000). A degomagem pode ser considerada a primeira etapa do refino. Nesta etapa, ocorre a remoção dos fosfolipídios hidratáveis e não-hidratáveis através de precipitação. A neutralização é a etapa de desacidificação efetuada no refino químico. Esta é realizada através da adição de solução alcalina (soda cáustica) ocasionando a conversão dos AGL em sabões, os quais são removidos do óleo através de sucessivas lavagens. Durante o processo de branqueamento ocorre a adsorção de compostos como pigmentos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, sabões, produtos secundários de oxidação e metais em uma terra de branqueamento ativada. A última etapa do refino de óleos é a desodorização, que é um processo de destilação a vácuo no qual geralmente se faz o uso de vapor como agente de arraste, tendo como objetivo a remoção de compostos odoríferos e dos AGL. De acordo com Mayamol et al. (2007), durante o processo de desodorização grande parte dos valiosos micronutrientes presentes no óleo de palma também são reduzidos. Os carotenóides são praticamente destruídos, enquanto os tocoferóis e esteróis são reduzidos numa faixa de 10 – 35 %. Estes compostos são recolhidos no

destilado após a condensação dos vapores (CARLSON, 1996).

O óleo de palma é extraído do fruto da palmeira oleaginosa (*Elaes guineensis*) e é conhecido no Brasil na sua forma bruta como azeite de dendê. Entre as oleaginosas cultivadas, a palma ou dendezeiro, como é conhecido, é a planta que apresenta a maior produtividade por área cultivada. Produz, em média, 10 vezes mais óleo do que a soja. O óleo de palma é único em termos de sua composição em ácidos graxos, sendo rico em ácido palmítico (40,9 – 47,5 %), ácido oléico (36,4 – 41,2 %) e ácido linoléico (9,2 – 11,6 %) (GEE, 2007). Devido a sua peculiar composição o óleo de palma pode ser fracionado de forma natural em uma fração líquida (oleína), e uma fração sólida (estearina). A composição típica do óleo de palma em acilgliceróis é de 87 a 92 % de triacilgliceróis (TAG), 3 a 8 % de diacilgliceróis (DAG), 0 a 0,5 % de monoacilgliceróis (MAG). A sazonalidade das culturas e da maturação dos frutos é responsável por essas variações na composição do óleo de palma e respectivas frações (BASIRON, 2005).

O óleo de palma é a mais rica fonte natural de carotenóides (500 – 1500 ppm) e uma rica fonte de tocóis (tocoferóis e tocotrienóis) (600 – 1000 ppm). Este possui ainda, quantidades significantes de esqualeno (200 – 500 ppm) e esteróis (362 – 627 ppm), os quais são conhecidos devido as suas atividades biológicas como redução de colesterol no plasma sanguíneo, produção de hormônios e ação antioxidante. Devido à presença da enzima triacilglicerol acilhidrolase, o óleo de palma possui elevada acidez (em média 3,5 %), sendo refinado na maioria dos casos através do refino físico (GIBON et al., 2007).

As características de qualidade tradicionais para óleos refinados focam principalmente na obtenção de um óleo de cor clara, com sabor mais suave e boa estabilidade oxidativa. Atualmente os aspectos de qualidade dos óleos comestíveis estão sendo colocados de forma a abordar uma perspectiva mais ampla. Além das características de qualidade tradicionais, existe um crescente interesse nos componentes minoritários presentes nos óleos e gorduras comestíveis. Este fenômeno se deve ao fato de alguns compostos naturalmente presentes nos óleos vegetais, como é o caso dos tocóis, carotenóides, fitosteróis, esqualeno, etc., terem se tornado cada vez mais conhecidos devido às suas propriedades biológicas.

Este trabalho teve como objetivo o estudo do processo de desacidificação física do óleo de palma, tendo em vista as variações de composição nas frações sólida (estearina) e

líquida (oleína), nas condições de processo, na qualidade do óleo e as reações térmicas que podem ocorrer com os principais componentes nutracêuticos. O estudo foi desenvolvido com a utilização tanto de sistemas modelos, formados a partir das frações individuais refinadas (estearina/oleína + ácido oléico), como também com a utilização de óleo de palma refinado. Em uma etapa posterior utilizou-se óleo de palma branqueado adicionado de acidez (ácido oléico) e óleo de palma branqueado com alto teor de minoritários. Esta tese foi organizada na forma de artigos, que individualmente abrangem cada um dos objetivos estabelecidos.

O **Capítulo 1 (Introdução Geral)** insere o leitor ao tema central da tese, mostrando de forma sucinta os pontos mais relevantes.

O **Capítulo 2 (Revisão Bibliográfica)** contextualiza o leitor nos tópicos referentes a este trabalho de tese.

O **Capítulo 3** traz o artigo intitulado “Steam Deacidification of Palm Oil” que apresenta um estudo do processo de desacidificação por via física, utilizando sistemas-modelo formados a partir de misturas de frações do óleo de palma (estearina/oleína), adicionadas de ácido oléico comercial. Para isso, realizou-se um planejamento experimental completo ²³, totalizando 17 experimentos, com o intuito de avaliar o efeito das variáveis temperatura (200 a 260 °C), porcentagem de vapor (0,5 a 6,5 %) e fração de estearina/oleína (0,1 a 0,9 m/m) em relação às respostas acidez final do óleo e perda de óleo neutro. Os experimentos conduzidos nesta etapa do estudo foram sem precedentes em termos do monitoramento e controle das variáveis de processo, considerando-se um desodorizador em batelada em escala laboratorial.

O etapa seguinte verificou a ocorrência de reações de degradação térmicas no óleo de palma, tendo em vista a grande importância dos componentes minoritários presentes no óleo. Nesse contexto, o artigo apresentado no **Capítulo 4** intitulado “Thermal Degradation Kinetics of Palm Oil” apresenta um estudo detalhado da degradação térmica de carotenóides no óleo de palma para uma faixa de temperatura entre 170 °C – 230 °C. A injeção de nitrogênio foi realizada durante todas as etapas do processo. Amostras foram recolhidas a cada 20 min, por um período de 140 min. As análises da variação do conteúdo de carotenóides e tocoferóis durante o aquecimento foram realizadas através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Os dados experimentais obtidos foram

então comparados com dados da literatura relacionados à degradação térmica de carotenóides.

O artigo descrito no **Capítulo 5**, intitulado “Influence of the Oil Quality on the Refining Conditions”, traz os resultados obtidos quando aplicado o refino físico a amostras de óleo de palma de qualidades diferentes, medidas a partir de sua acidez inicial. O óleo bruto foi inicialmente submetido a uma etapa de pré-tratamento (degomagem/branqueamento) e posteriormente a etapa de desacidificação. A influência de dois parâmetros de operação e um parâmetro de qualidade foram considerados, sendo estes: temperatura (200 – 260 °C), porcentagem de vapor (0,5 – 3,5 %), e acidez inicial (2,22 – 6,00 %). Foram investigados os efeitos dos parâmetros mencionados na acidez final do óleo, retenção de tocóis, perda de óleo e degradação de carotenóides. Avaliou-se também a retenção de esqualeno e esteróis durante o processo de refino físico do óleo de palma.

O artigo apresentado no **Capítulo 6**, intitulado “Free Fatty Acid Formation during Steam Deacidification”, avalia o efeito de diferentes variáveis de processo, sendo essas: temperatura, vazão de vapor, tempo de *stripping* e porcentagem de vapor na hidrólise do óleo neutro durante o refino físico do óleo de palma. Para a realização do estudo, foi utilizado óleo de palma refinado, branqueado e desodorizado (RBD), pois a taxa de formação de AGL durante o refino é baixa sendo, portanto, mais fácil a quantificação da ocorrência de hidrólise em um óleo com baixa acidez. Neste trabalho, avaliou-se ainda os parâmetros cinéticos da reação de hidrólise do óleo neutro e a adequação dos dados a uma equação de primeira ordem.

O **Capítulo 7 (Conclusões Gerais)** discorre sobre os principais resultados obtidos em cada um dos artigos apresentados na tese.

Capítulo 2. Revisão Bibliográfica

2.1 Óleos Vegetais

A importância do Brasil no setor de oleaginosas é evidenciada pelos números do mercado de grãos. Segundo a Associação Brasileira de Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE, 2011), as exportações de soja no ano de 2010 atingiram cerca de US\$ 17,3 bilhões. Além disso, espera-se que com a implantação do Programa Nacional de Uso do Biodiesel (BIODIESEL, 2011), o crescimento deste importante setor da economia brasileira seja ainda mais evidente, devido ao estabelecimento de percentuais mínimos (2 % e 5 % em v/v) de mistura do biodiesel ao óleo diesel.

Os óleos vegetais são as fontes mais concentradas de energia de todas as substâncias alimentares. Estes são compostos basicamente por ácidos graxos esterificados em glicerol, conhecidos como triacilgliceróis (TAG) (HARTMAN e ESTEVES, 1982). No contexto atual, uma dieta adequadamente balanceada deve conter aproximadamente 25 % das calorias fornecidas por lipídios. Além disso, de acordo com O'brien (2004), a importância nutricional dos lipídios se deve à presença de ácidos graxos essenciais, antioxidantes naturais e vitaminas lipossolúveis, como A, D, E e K.

Os óleos vegetais são ingredientes essenciais de inúmeros produtos processados industrialmente como margarinas, cremes vegetais, óleos para saladas, maioneses e também alimentos manualmente preparados (O'BRIEN, 1998). O processamento de óleos mais usual consiste, basicamente, da preparação dos grãos, extração mecânica e/ou com solvente, degomagem, branqueamento, desacidificação por via física (refino físico) ou por adição de soda cáustica (refino químico) e desodorização (FAO, 2011).

Para que se atinja o grau comestível, o óleo bruto, resultado do processo de extração, deve ser submetido ao processo de refino, cujo objetivo é remover impurezas e compostos indesejáveis. As condições operacionais das etapas de refino são decisivas na qualidade, funcionalidade e no custo do produto final (BASIRON, 2005).

Devido a existência de uma grande demanda por produtos nutricionais contendo constituintes bioativos adicionados ou preservados através de processos modificados, além

da necessidade de um maior rendimento de óleo vegetal por área cultivada, vêm-se utilizando o óleo de palma nos segmentos alimentício, cosmético e oleoquímico, como alternativa a outros óleos vegetais. A seguir serão apresentadas algumas características desse óleo que foi objeto de estudo deste projeto.

2.2 Óleo de Palma

A palma (*Elaes guineensis*) é uma palmeira oleaginosa (Figura 2.2.1) de origem africana (Golfo da Guiné). Foi introduzida no Brasil no século XVI, provavelmente, junto com os escravos vindos da África (CRAVEIRO e CRAVEIRO, 2003).



Figura 2.2.1. Palmeira oleaginosa (USDA, 2011a).

Entre as oleaginosas cultivadas, a palma ou dendezeiro como é conhecido é a planta que apresenta a maior produtividade por área cultivada. Produz, em média, 10 vezes mais óleo do que a soja. Em condições ecológicas excelentes, pode produzir até 8 toneladas de óleo por ha/ano (REVISTA BIODIESEL, 2008).

As primeiras sementes foram plantadas no recôncavo baiano onde encontraram as condições ideais de solo e clima para seu desenvolvimento. Durante séculos foi cultivada apenas para atender às necessidades da culinária regional. Porém, a cultura da palma vem

ganhando espaço no mercado de óleos e gorduras, devido a sua alta produtividade e versatilidade, sendo dela aproveitado os óleos (amêndoa e mesocarpo), os cachos e os resíduos do processo de extração (glicerina) (ANUÁRIO BIODIESEL, 2007).

Dos frutos da palmeira oleaginosa se obtém dois tipos de óleo: o óleo de palma (mesocarpo) e o óleo de palmiste (amêndoa). Ambos com composições e características diferentes (QUIJANO, 1997).

O óleo de palma apresenta coloração avermelhada, devido ao seu alto teor natural de carotenóides. Estes componentes encontrados em sua composição são a principal característica funcional, pois trazem importantes benefícios à saúde. É também rico em tocoferóis e tocotrienóis, sendo a maior parte composta de γ -tocotrienol, α -tocotrienol e δ -tocotrienol (MPOC, 2011). Em consequência disso, o óleo de palma é altamente estável a oxidação.

O palmiste é um óleo láurico, com alta concentração de ácidos graxos saturados e com coloração variando do amarelo-claro ao amarelo-pardo. Gorduras láuricas são derivadas de frutos de algumas palmeiras, sendo o coco e o palmiste as fontes comercialmente mais importantes. Estas gorduras se diferenciam das outras pelo seu alto teor de ácidos graxos saturados (cerca de 90 %), sendo 40 – 50 % de ácido láurico. O óleo de palmiste é utilizado como matéria-prima na fabricação chocolates, sabonetes finos e cosméticos (VIEIRA et al., 1997).

A atual produção brasileira de óleo de palma é de 230 mil toneladas anuais, colocando o país como 11º nesse *ranking*, porém a sua área potencial para cultivo da palma é a maior do mundo (BIODIESELBR, 2011a). De acordo com a Agência Estado (2011), a companhia norte-americana de agronegócios *Archer Daniels Midland* (ADM) anunciou que pretende investir na produção sustentável de palma no Brasil. Com duração de cinco anos, o investimento deve incluir cerca de 12 mil hectares no Estado do Pará e envolver a construção de uma fábrica de processamento de palma.

No Brasil, os maiores produtores de óleo de palma são Pará, Amazônia, Bahia e Amapá (ABOISSA, 2011). A Indonésia e a Malásia são os maiores produtores mundiais deste produto, somando cerca de 90 % das exportações (BASIRON, 2005).

Nos últimos anos, o óleo de palma tem ocupado um lugar de destaque na produção mundial de óleos e gorduras. Esse fato é resultado do incremento no preço do óleo de soja

desde os anos de 2001/02, aumentando a diferença entre os preços dos dois produtos e conseqüentemente a competitividade do óleo de palma no mercado mundial.

A palmeira produz frutos em forma de cachos (Figura 2.2.2), sendo que cada cacho contém cerca de 2000 frutos e apresenta período de maior produção, entre outubro e fevereiro (ABOISSA, 2011).

O fruto maduro tem cor amarelo dourado/ vermelho, forma oval, possui massa de cerca de 10 g e produz em torno de 22 % de óleo/cacho, o que equivale de 5 a 8 ton/ha/ano. Este rendimento representa de 5 a 10 vezes mais que qualquer outro cultivo comercial de óleo vegetal (ABOISSA, 2011).



Figura 2.2.2. Cachos e frutos da palmeira oleaginosa (ANUÁRIO BIODIESEL, 2007).

O processo de extração do óleo de palma difere da maioria dos óleos de grãos por ser extraído por prensagem, dispensando o uso de solventes. Isso eleva o óleo de palma a categoria de óleo natural, igual ao azeite extra-virgem. As principais etapas para obtenção do óleo de palma consistem em: esterilização dos cachos, debulhamento, digestão e prensagem, clarificação e purificação, recuperação das amêndoas e refino (pré-tratamento ácido, desodorização/desacidificação) (QUIJANO, 1999).

O óleo de palma é rapidamente absorvido pelo organismo humano e mostra uma digestibilidade de 97 % ou maior, similar aos outros óleos vegetais (QUIJANO, 1999).

2.2.1 Composição do Fruto da Palmeira

O óleo de palma é produzido a partir do mesocarpo dos frutos da palmeira oleaginosa. Este representa 60 % da composição total do fruto da palmeira. Figura 2.2.1.1 apresenta a composição global do fruto da palmeira oleaginosa.

A Figura 2.2.1.2 apresenta a composição global do mesocarpo, onde o óleo representa cerca de 39 % desta. O óleo de palma bruto é obtido a partir do mesocarpo do fruto da palmeira, depois de passar por diversos processos como: esterilização, extração, *stripping* e purificação.

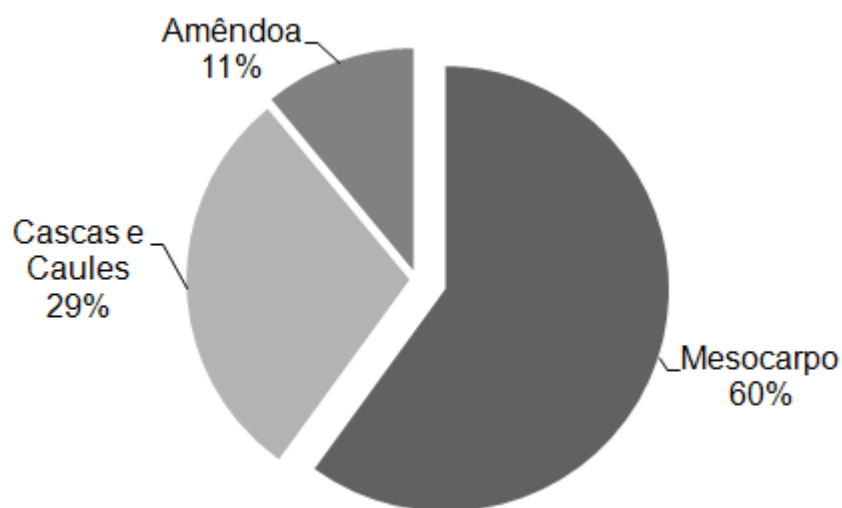


Figura 2.2.1.1. Composição global do fruto da palmeira oleaginosa (BOCKISH, 1998).

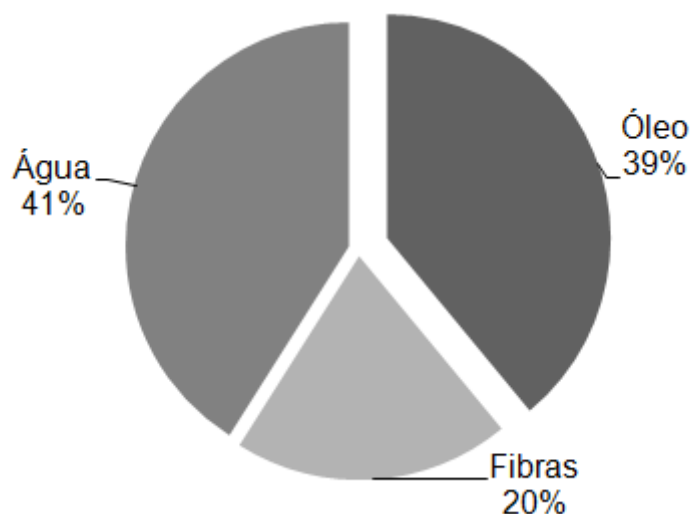


Figura 2.2.1.2. Composição do mesocarpo do fruto da palmeira (BOCKISH, 1998).

2.2.2 Composição e Constituintes do Óleo de Palma Bruto

De acordo com Sambanthamurthi et al. (2000), o óleo de palma cru ou bruto, consiste basicamente em acilgliceróis, matéria insaponificável e uma pequena quantidade de impurezas. A maioria dessas impurezas produz efeitos indesejáveis no óleo, os quais podem ser: diferença de coloração, sabor e odor. Dessa forma, devem ser removidas durante o processo de purificação, para obtenção de um óleo refinado de boa qualidade, tendo em vista mínimas perdas ou danos ao óleo e aos componentes desejáveis.

A composição do óleo de palma bruto pode ser classificada como uma mistura de cinco grupos químicos principais. A Tabela 2.2.2.1 apresenta os diferentes grupos nos quais o óleo foi dividido e os seus respectivos componentes (ZIN, 2006).

Tabela 2.2.2.1. Composição geral do óleo de palma bruto (ZIN, 2006).

Grupo	Componentes do grupo
Óleo	Triacilgliceróis, diacilgliceróis, monoacilgliceróis Fosfolipídios, glicolipídios, lipoproteínas Ácidos graxos livres
Produtos de oxidação	Peróxidos, aldeídos, cetonas e furfurais (de açúcar)
Componentes Insaponificáveis	Carotenos Tocoferóis Esqualeno Esteróis
Impurezas	Partículas metálicas Íons metálicos Complexos com metais
Componentes Saponificáveis	Água (umidade) Glicerol Pigmentos de clorofila Fenóis Açúcares (carboidratos solúveis)

A composição típica do óleo de palma é de 87 a 92 % de triacilgliceróis (TAG), 3 a 8 % de diacilgliceróis (DAG), 0 a 0,5 % de monoacilgliceróis (MAG) e 1 a 5 % de ácidos graxos livres (AGL). A sazonalidade das culturas e da maturação dos frutos é responsável por essas variações na composição do óleo de palma e respectivas frações (BASIRON,

2005). Baseado nesses fatos estudou-se a influência da composição do óleo de palma como uma variável independente durante o processo de desacidificação do óleo de palma.

2.2.3 Usos do Óleo de Palma

Vários estudos nutricionais têm mostrado que os ácidos graxos *trans* e *cis* em posições não naturais (formados na hidrogenação parcial ou total do óleo) podem apresentar efeitos adversos à saúde humana (EBONG et al., 1999; MARTIN et al., 2007). Devido a isso existe um crescente interesse em reduzir ou eliminar estes ácidos graxos em produtos alimentícios.

As alternativas hoje existentes são a hidrogenação total combinada com a interesterificação ou o uso de frações naturalmente semi-sólidas à temperatura ambiente. O óleo de palma e suas frações em proporções adequadas para cada aplicação são uma alternativa natural e saudável às gorduras parcialmente hidrogenadas.

O óleo de palma tem larga utilização na indústria alimentícia, podendo ser utilizado como gordura para panificação, margarinas, gorduras para biscoitos, frituras, sorvetes, chocolates e produtos extrusados. Pode ainda ser utilizado nas indústrias saboeira e oleoquímica, fazendo parte da composição de tintas, vernizes, sabões e sabonetes (CRAVEIRO e CRAVEIRO, 2003; EDEM, 2002).

O óleo de palma, por ser um óleo abundante e com alta produtividade pode ainda ser usado na produção do biodiesel, combustível renovável formado por monoésteres de ácidos graxos não tóxicos e biodegradáveis, sendo uma alternativa para o petróleo (RAMOS et al., 2003).

Os produtos mais recentes obtidos a partir do óleo de palma são o óleo vermelho de palma e a oleína vermelha de palma, que retém mais de 80 % dos carotenóides e também mantém um alto nível de vitamina E, originalmente presentes no óleo de palma bruto, e que são destruídos durante o processo de refino tradicional (MAYAMOL et al., 2007).

2.2.4 A Palma e a Produção de Biodiesel

O óleo de palma juntamente com o óleo de palmiste ocupa no cenário atual o 1º lugar na produção mundial de óleos vegetais (USDA, 2011b). Esta posição foi alcançada

graças a sua alta produtividade, boa qualidade, ampla utilização e baixo custo de produção sendo, portanto, o principal óleo para a produção de biodiesel num futuro próximo.

De acordo com Biodieselbr (2011b), cerca de 80 % da produção mundial de óleo de palma é destinada ao uso alimentar, sob diferentes formas, desde óleo para salada até óleos para frituras industriais. Os demais 20 % podem ser divididos em 10 % para a produção de bicomcombustíveis e 10 % para utilização na indústria química.

O Brasil possui o maior potencial mundial para a produção do óleo de palma, dado os 29 milhões de hectares de terras aptas à dendeicultura. Atualmente, o Brasil é responsável por apenas 0,1 % da produção mundial com 80 mil hectares plantados. No entanto, projetos como o Programa Nacional de Óleo de Palma e o Programa de Produção Sustentável da Palma de Óleo no Brasil, desenvolvidos pelo Ministério da Agricultura prevêem a ampliação da área destinada à plantação do vegetal para a produção de combustíveis a partir de energias renováveis (AMBIENTE BRASIL, 2011).

O Programa Nacional de Óleo de Palma que visa aumentar a produção para 130 mil hectares até 2014, vai ser aplicado em 44 municípios das regiões Norte e Nordeste. O aumento de área plantada não será feito com desmatamento, mas aproveitando áreas já degradadas, segundo o Ministério do Meio Ambiente (AMBIENTE BRASIL, 2011).

O biodiesel, fonte renovável de energia, proporciona elevadas reduções na emissão de poluentes, quando comparado com o diesel de petróleo. É produzido a partir de uma reação de transesterificação, onde um triacilglicerol reage com um álcool na presença de um ácido forte ou base, produzindo uma mistura de ésteres de alquila de ácidos graxos e glicerol (REIS et al., 2011).

O biodiesel pode ser usado como combustível misturado ao óleo diesel em proporções de até 20 % do total, sem a necessidade de alterações nas estruturas do motor. Sendo um combustível renovável, produzido a partir de insumos amplamente disponíveis no País, o uso de biodiesel possibilita a economia de divisas, geração de emprego e a redução da emissão de gases que provocam o efeito estufa (PINTO et al., 2005).

2.3 Componentes Majoritários: Triacilgliceróis e Ácidos Graxos

Os triacilgliceróis (TAG) são compostos por uma molécula de glicerol, na qual três moléculas de ácidos graxos (AG) são esterificadas. As principais propriedades dos lipídios ingeridos na dieta humana são determinadas de acordo com o perfil e a posição dos ácidos graxos na molécula do triacilglicerol.

Os óleos vegetais são substâncias insolúveis em água, que na temperatura ambiente exibem aspecto líquido. As gorduras distinguem-se dos óleos por apresentar um aspecto sólido a temperatura de 20 °C. Alguns dos diferentes óleos vegetais incluem o óleo de canola, girassol, milho e o óleo de oliva. O óleo de palma, o qual se destaca pelo elevado conteúdo de ácido palmítico (C16:0), é líquido nas regiões tropicais e sólido nas regiões temperadas.

2.3.1 Perfil em Ácidos Graxos

O perfil em ácidos graxos de um óleo ou gordura é determinado de acordo com o comprimento da cadeia, grau e tipo de insaturação na cadeia de ácido graxo (SCRIMGEOUR e HARWOOD, 2007).

2.3.1.1 Comprimento da Cadeia de Ácidos Graxos

Em geral, os ácidos graxos encontrados nos óleos vegetais são ácidos carboxílicos com um número par de átomos de carbono. De acordo com Van Hoed (2010), os ácidos graxos mais comuns em óleos vegetais variam entre C12 – C22, enquanto os ácidos graxos de cadeias mais longas ou mais curtas são usualmente encontrados em óleo de peixe e gordura de leite, respectivamente. O ácido graxo de cadeia longa mais abundante em óleos vegetais contém 18 carbonos (C18).

O comprimento da cadeia de ácido graxo presente em um triacilglicerol de óleo de palma varia numa faixa relativamente ampla, desde 12 até 20 carbonos.

2.3.1.2 Ácidos Graxos Saturados

Os óleos saturados e as gorduras contêm somente ligações simples carbono-carbono de cadeia curta, enquanto nos ácidos graxos insaturados uma ou mais duplas ligações carbono-carbono ($C = C$) estão presentes. O óleo de palma (C16:0), o óleo de palmiste e o óleo de coco (para ambos principalmente C12:0) são relativamente ricos em ácidos graxos saturados e, portanto, são sólidos à temperatura ambiente em regiões temperadas.

2.3.1.3 Ácidos Graxos Insaturados

A maioria dos óleos vegetais apresenta em sua configuração ácidos graxos insaturados. Na maioria dos casos as duplas ligações estão presentes em configuração *cis*, não-conjugada. Os ácidos graxos podem ser monoinsaturados ou poliinsaturados. Uma dupla ligação está presente em ácidos graxos monoinsaturados, como é o caso do ácido oléico (C18:1). Os ácidos graxos poliinsaturados contêm duas ou mais duplas ligações, como é o caso dos ácidos linoléico e linolênico (C18:2 e C18:3), respectivamente (SCRIMGEOUR e HARWOOD, 2007). O óleo de palma apresenta em sua composição cerca de 50 % de ácidos graxos insaturados, sendo estes representados basicamente por C18:1 e C18:2 (EDEM, 2002). A posição da primeira dupla ligação contando a partir do último grupo metil determina a classificação nutricional conhecida como ômega (ω) ω 3, ω 6 e ω 9.

A Tabela 2.3.1.3.1 apresenta a composição em ácidos graxos para diferentes óleos e gorduras vegetais. A comparação entre as composições de ácidos graxos para o óleo de palma, estearina de palma, óleo de palmiste, oleína de palmiste e óleo de coco, indica que os três primeiros são ricos em ácidos graxos dos grupos C16–C18, enquanto que o óleo de palmiste e o óleo de coco são ricos em ácidos graxos dos grupos C12 – C14.

Tabela 2.3.3.1. Composição em massa dos ácidos graxos de alguns óleos/gorduras selecionados.

Ácidos graxos	Óleos e gorduras (% ácido graxo, m/m)					
	Óleo de palma	Estearina de palma	Óleo de palmiste	Óleína de palmiste	Óleo de Coco	Óleína de palma
Capróico (C6:0)	—	—	0,3	0,4	0,2	—
Caprilíco (C8:0)	—	—	4,4	5,4	8,0	—
Capríco (C10:0)	—	—	3,7	3,9	7,0	—
Laúrico (C12:0)	0,2	0,3	48,3	41,5	48,2	0,2
Mirístico (C14:0)	1,1	1,3	15,6	11,8	18,0	1,0
Palmitíco (C16:0)	44,0	55,0	7,8	8,4	8,5	39,8
Esteárico (C18:0)	4,5	5,1	2,0	2,4	2,3	4,4
Oléico (C18:1)	39,2	29,5	15,1	22,8	5,7	42,5
Linoléico (C18:2)	10,1	7,4	2,7	3,3	2,1	11,2
Outros	0,8	0,7	0,1	0,1	—	0,9

FONTE: BASIRON, 2005.

2.3.2 Perfil em Triacilgliceróis

Os ácidos graxos estão ligados aos triacilgliceróis nas posições *sn-1*, *sn-2* e *sn-3*. Triacilgliceróis simples contêm três ácidos graxos idênticos, enquanto os triacilgliceróis mistos contêm dois ou três ácidos graxos diferentes esterificados nas três posições. Em óleos vegetais, a posição *sn-2* é esterificada principalmente com ácidos graxos poliinsaturados, enquanto os ácidos graxos saturados ocorrem quase exclusivamente através de distribuição randômica entre as posições *sn-1* e *sn-3* (O'BRIEN, 2000).

Os triacilgliceróis formam a maior parte do material glicerídico presente no óleo de palma, o qual apresenta ainda pequenas quantidades de monoacilgliceróis (MAG) e diacilgliceróis (DAG), gerados durante o processo de extração do óleo. De acordo com Basiron (2005), o conhecimento detalhado da estrutura dos triacilgliceróis presentes no óleo de palma é de grande importância, pois estes compostos definem algumas das características físicas do óleo.

O ponto de fusão dos triacilgliceróis é altamente dependente da estrutura e da posição do ácido graxo presente. Além disso, a composição dos triacilgliceróis também pode afetar o comportamento de cristalização do óleo.

2.3.3 Importância dos Ácidos Graxos e Triacilgliceróis

Segundo Scrimgeour e Harwood (2007), o número e a posição das duplas ligações nos ácidos graxos, e sua posição no triacilglicerol, influenciam a funcionalidade dos lipídios para sua aplicação em alimentos, bem como estabilidade oxidativa e valor nutricional.

2.3.3.1 Funcionalidade dos Lipídios

A estrutura dos ácidos graxos e sua posição na molécula de triacilglicerol são responsáveis pela determinação das propriedades físicas do lipídio. O ponto de fusão dos ácidos graxos aumenta com o aumento do comprimento da cadeia, e com a redução do número de insaturações (SCRIMGEOUR e HARWOOD, 2007).

As propriedades físicas dos lipídios determinam suas aplicações técnicas e propriedades sensoriais como liberação de sabor (O'BRIEN, 2000). As características necessárias a serem obtidas para determinada aplicação podem ser adquiridas através de seleção ou mistura de lipídios provenientes de fontes apropriadas, ou ainda mudando-se as propriedades do lipídio através de métodos como fracionamento, hidrogenação ou interesterificação.

2.3.3.2 Valor Nutricional

Além de atuarem como fonte de energia ($9 \text{ kcal} \cdot \text{g}^{-1}$) ao corpo humano, os lipídios também fornecem nutrientes essenciais. Os ácidos linoléico e linolênico não podem ser sintetizados pelo organismo humano sendo, portanto, ácidos graxos essenciais. O ácido linoléico é precursor do ácido linoléico gama (GLA, C18:3), do ácido linoléico diômega gama (DGLA, C20:3) e do ácido araquidônico (AA, C20:4). O ácido linolênico é precursor de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, especialmente do ácido docosahexanóico (DHA, C22:6) e do ácido eicosapentanóico (EPA, C20:5) (VAN HOED, 2010).

Os efeitos benéficos atribuídos aos ácidos graxos poliinsaturados (EPA, DHA), estão relacionados ao desenvolvimento cognitivo e visual, a função de imunidade, a função cardiovascular e ao bom funcionamento do coração, pele, cabelo e prevenção de artrites

(VAN HOED, 2010).

2.3.4 Fracionamento do Óleo de Palma

A maioria dos óleos e gorduras na sua forma natural tem uma limitada aplicação em alimentos e na indústria química, como consequência de suas composições químicas específicas. Para ampliar sua utilização, os óleos são freqüentemente submetidos a modificações físicas ou químicas.

Atualmente os processos mais conhecidos de modificação química e física aplicados a óleos comestíveis são: hidrogenação, interesterificação (química ou enzimática) e o fracionamento. Os dois primeiros processos são baseados em mudanças irreversíveis na composição da matéria graxa, enquanto que no fracionamento ocorre apenas uma separação física dos triacilgliceróis (KELLENS et al., 2007).

O fracionamento é um processo de modificação completamente reversível. É basicamente um processo de separação termomecânica no qual uma mistura multicomponente é fisicamente separada em duas ou mais frações com propriedades físicas e químicas distintas. A separação pode ser baseada em diferenças no ponto de solidificação, solubilidade ou volatilidade dos diferentes componentes (KELLENS et al., 2007).

O método mais comum de fracionamento do óleo de palma é a cristalização fracionada, a qual é baseada na diferença de solubilidade dos TAG sólidos na fase líquida, dependendo da sua massa molar e de seu grau de insaturação. Dessa forma, a fase líquida é separada da fase sólida (KELLENS et al., 2007).

Devido a sua composição, o óleo de palma pode ser fracionado de forma natural em uma fração líquida (65 – 70 %), conhecida como oleína de palma e uma fração sólida (30 – 35 %), conhecida como estearina de palma (SZULCZEWSKA-REMI et al., 2004; FAO, 2011).

As oleínas se caracterizam por seu baixo ponto de fusão e por serem mais insaturadas. Durante o processo de cristalização ocorrem nas oleínas um decréscimo em ácidos graxos saturados (palmítico e esteárico) e um aumento dos ácidos graxos insaturados (oléico e linoléico). As estearinas são mais saturadas, devido a maiores concentrações dos ácidos graxos palmítico e esteárico e em consequência apresentam altos pontos de fusão

(ZALIHA et al., 2004)

2.4 Componentes Minoritários

Além dos triacilgliceróis, diacilgliceróis e monoacilgliceróis, os óleos vegetais são constituídos pelos componentes minoritários. Em média, os óleos vegetais brutos contêm 5% de material não-glicerídico, formado por diferentes quantidades de ácidos graxos livres, fosfolipídios, carotenóides, tocoferóis, esteróis, esqualeno, fenóis, traços de metais, bem como produtos de reação de oxidação (O'BRIEN, 1998).

Os compostos minoritários desempenham um importante papel na estabilidade e no curso do processamento do óleo. Alguns deles podem afetar as características do produto final em termos de cor, sabor e odor quando não retirados.

2.4.1 Ácidos Graxos Livres

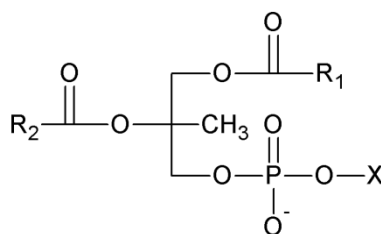
Os ácidos graxos livres (AGL) são ácidos carboxílicos ($R-COOH$) alifáticos saturados ou insaturados com cadeia carbônica entre C_6 e C_{24} (BROCKMANN et al., 1987). Estes são formados a partir da hidrólise dos triacilgliceróis através de via química ou enzimática.

A concentração de ácidos graxos livres no óleo bruto pode variar dependendo da fonte e das técnicas de extração utilizadas. Segundo Gibon et al. (2007), o fruto da palma possui uma enzima endógena, conhecida como triacilglicerol acilhidrolase, a qual é responsável pela rápida degradação dos triacilgliceróis em acilgliceróis parciais e posteriormente em ácidos graxos livres.

A ação enzimática é favorecida pelo teor de água presente no fruto da palma, desta forma o óleo bruto obtido no processo de extração deve ser rapidamente submetido à secagem e resfriamento, aumentando o rendimento do óleo e reduzindo o teor de AGL formado. De acordo com Saad et al. (2006), o teor de AGL no óleo de palma pode variar entre 2,3 – 6,7 %.

O teor de ácidos graxos livres é um dos índices de qualidade mais frequentemente utilizados durante a produção, armazenamento e comercialização dos produtos obtidos a

Table 1

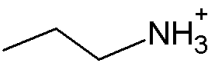
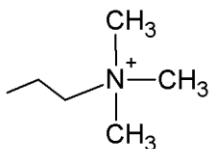
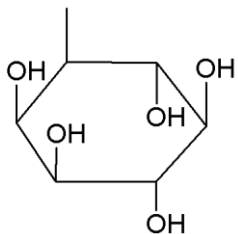


0 1 1

9 1 \ , ,

Dentre os fosfolipídios, os que mais se destacam são: ácido fosfatídico, fosfatidil colina, fosfatidil inositol e fosfatidil etanolamina (Tabela 2.4.2.1).

Tabela 2.4.2.1. Estrutura e nome dos fosfolipídios mais importantes.

Estrutura de X	Nome OH-X	Nome do Fosfolipídio
—H	Água	Ácido fosfatídico
	Etanolamina	Fosfatidil etanolamina
	Colina	Fosfatidil colina
	Mioinositol	Fosfatidil inositol

O ácido fosfatídico e a fosfatidil etanolamina são parcialmente hidratáveis, e se tornam não-hidratáveis quando formam cátions com sais divalentes (cálcio ou magnésio) ou quando estão em sua forma não dissociada (HVOLBY, 1971; SCHNEIDER, 1997). A fosfatidil colina e o fosfatidil inositol são completamente hidratáveis mesmo que ligados a sais divalentes e durante o processo de degomagem estes fosfolipídios podem se ligar a fosfolipídios não-hidratáveis, tornando-os assim hidratáveis (DIJKSTRA e SEGERS, 2007).

2.4.3 Carotenóides

Os carotenóides são pigmentos amplamente distribuídos na natureza, sendo encontrados em fungos, bactérias, animais, plantas, frutas, flores, sementes e raízes. Proporcionam a cor amarela, laranja e vermelha a vários alimentos (SIMPSON e

CHICHESTER, 1981). Classificam-se como terpenos e constituem-se de uma cadeia de hidrocarbonetos contendo tipicamente de 9 a 13 ligações conjugadas compostas por unidades denominadas isoprênicas. Seus isômeros mais comuns são: α -caroteno, γ -caroteno, criptoxantina e β -caroteno. O β -caroteno é o carotenóide de maior mérito, pois pode ser clivado em duas moléculas de vitamina A (MARINHO e CASTRO, 2002).

Considerando-se a presença ou não de oxigênio em sua estrutura, os carotenóides podem ser classificados em dois grandes grupos, os carotenos, que não contém oxigênio e as xantofilas, que contém oxigênio na sua estrutura. As formas mais frequentes de grupos oxigenados em carotenóides são os grupos hidroxila (zeaxantina, lactucaxantina), metoxila (esfereidona, espiriloxantina), epóxido (anteroxantina, licopeno-1, 2-epóxido), carbonila (capsantina, esferoidenona) e carboxila (norbixantina) (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2007).

Estes compostos têm sua principal função atribuída à capacidade de conversão em vitamina A, cujas funções no organismo estão relacionadas à visão, ao crescimento ósseo e a dissociação de tecidos (CAMPOS et al., 2006). Esta função adquire maior importância nos países do terceiro mundo, onde os vegetais e frutos ricos em carotenóides constituem as principais fontes de vitamina A (SILVA, 2002). Os dados dos últimos 20 anos indicam que a deficiência de vitamina A é um problema de saúde pública no Brasil, principalmente nas regiões Norte, Nordeste e Sudeste. Regiões, como o norte de Minas Gerais e o Nordeste do País, apresentam casos de deficiência de vitamina A, que podem levar até a perda completa da visão (CAMPOS et al., 2006).

Carotenóides são amplamente utilizados na indústria de alimentos, como em corantes ou como fonte de pró-vitamina A, sendo comercializados como carotenóides sintéticos ou extratos naturais.

O α e o β -caroteno são os principais carotenóides presentes no óleo de palma bruto (Figura 2.4.3.1), constituindo cerca de 90 % do total (GIBON et al., 2007). Sua ocorrência varia na faixa de 500 – 700 mg.kg⁻¹ (BASIRON, 2005), dependendo do grau de maturação, origem e variedade dos frutos e das condições de extração e estocagem do óleo. Porém, de acordo com Nagendran et al. (2000) algumas espécies de palma como a *Elaes Oleifera*, proveniente da América do Sul, podem apresentar altos níveis de carotenóides, podendo atingir 4000 ppm.

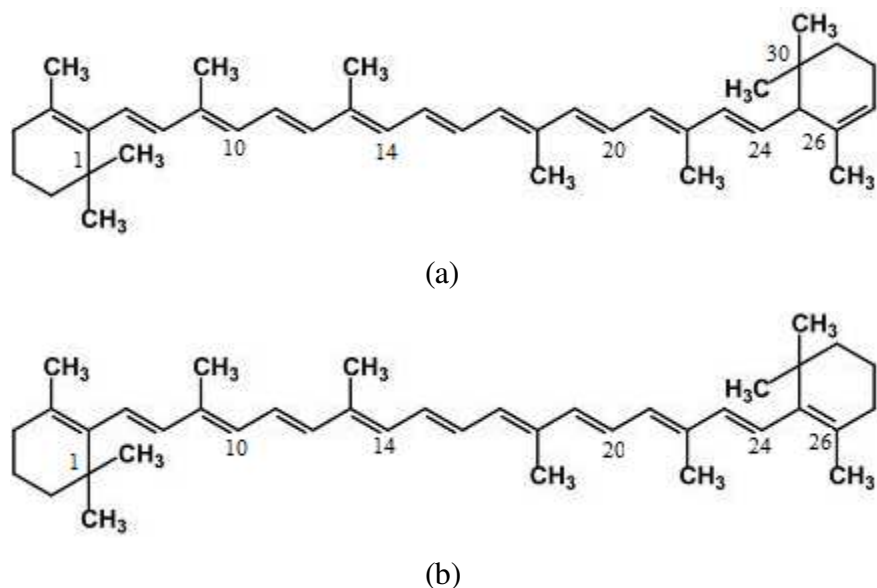
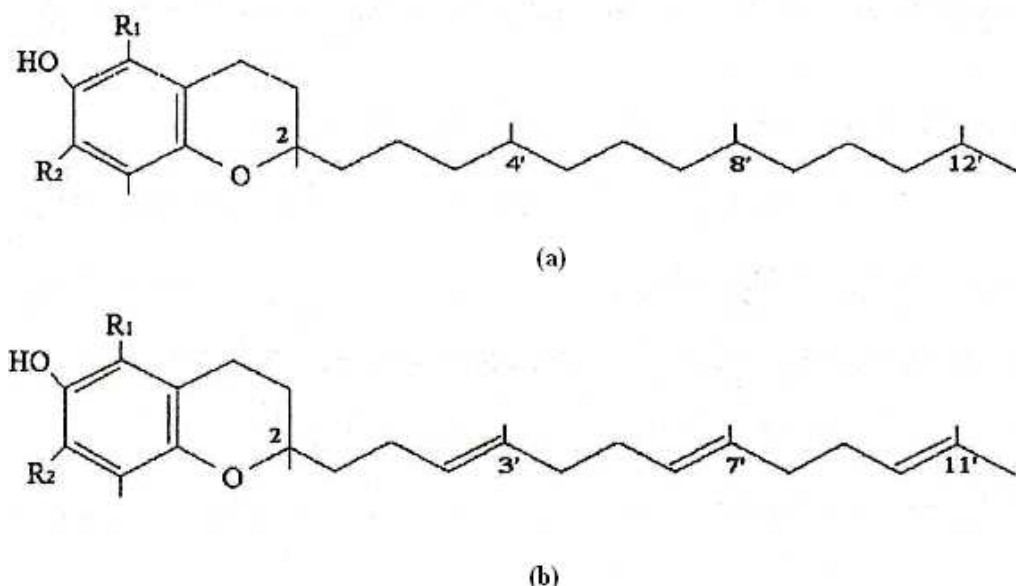


Figura 2.4.3.1. Estrutura química: (a) α -caroteno e (b) β -caroteno.

No óleo refinado, porém, estes compostos são destruídos para obtenção de um óleo de cor clara (QUIJANO, 1999). Estima-se que atualmente é destruída no processo de refino do óleo de palma uma quantidade de β -caroteno suficiente para suprir as necessidades de vitamina A da população mundial (MAYAMOL et al., 2007).

2.4.4 Tocoferóis e Tocotrienóis

Os tocoferóis são homólogos derivados da estrutura 6-hidroxicromanol e são classificados em dois grupos: tocoferóis e tocotrienóis, os dois com diferentes atividades biológicas. Os tocoferóis caracterizam-se pela saturação da sua cadeia lateral, que consiste em três unidades isoprenóides, enquanto os tocotrienóis possuem duplas ligações nas posições 3, 7 e 11 da cadeia de isoprenóides lateral (QUIJANO, 1999). Variações no grau de metilação do núcleo cromanol originam as formas α -, β -, γ - e δ - tocoferol ou tocotrienol (Figura 2.4.4.1) (SCHNEIDER, 2005).



ISÔMEROS	R ₁	R ₂	R ₃
Alfa (α-)	CH ₃	CH ₃	CH ₃
Beta (β-)	CH ₃	H	CH ₃
Gama (γ-)	H	CH ₃	CH ₃
Delta (δ-)	H	H	CH ₃

Figura 2.4.4.1. Estrutura química dos tocoferóis (a) e tocotrienóis (b).

A vitamina E é exclusivamente sintetizada por plantas e organismos fotossintetizantes, por isso é amplamente encontrada em alimentos de origem vegetal. Todavia, a forma do tococromanol difere de acordo com a parte da planta. Nas folhas das plantas, o α-tocoferol é a forma primária tipicamente encontrada, enquanto que γ- e δ-tocoferol são comumente encontrados em sementes (DELLAPENNA e POGSON, 2006).

A ocorrência de tocotrienóis em plantas é mais limitada. Estes são encontrados, principalmente, no endosperma de sementes de monocotiledôneas, incluindo vários cereais, como trigo, arroz e cevada, assim como de dicotiledôneas, como algumas espécies da família Apiaceae (HUNTER e CAHOON, 2007) e no óleo de palma.

A importância dos tocóis nas indústrias de cosméticos, farmacêutica e de alimentos tem aumentado em função de suas propriedades nutracêuticas, sendo aplicados em xampus, cremes para pele, tabletes vitamínicos e em produtos alimentícios (EMBRAPA, 2007).

O óleo de palma é também uma fonte significativa de tocóis, sendo constituído por cerca de 30 % de tocoferóis e 70 % de tocotrienóis (VIEIRA et al., 1997). Estes compostos

estão presentes no óleo de palma bruto em níveis de 600 – 1000 mg/kg. São antioxidantes naturais e apresentam alto valor de vitamina E. São formados em sua maior parte por α -tocoferol, α -tocotrienol, γ -tocotrienol e δ -tocotrienol (GIBON et al., 2007). O termo vitamina E é utilizado para denotar qualquer mistura de tocoferóis biologicamente ativos, potentes inibidores da oxidação lipídica (CRAVEIRO e CRAVEIRO, 2003).

Além da atividade antioxidante, os tocoferóis também apresentam atividade de vitamina E, especialmente o α -tocoferol (DE GREYT e KELLEN, 2005). Já os tocotrienóis possuem potentes propriedades de proteção do sistema nervoso, diminuindo as concentrações séricas de colesterol e prevenindo o câncer (SEN et al., 2006).

A ação antioxidante dos tocóis ocorre atrasando o tempo de início do processo de oxidação de óleos vegetais, basicamente interrompendo a reação em cadeia dos radicais livres pela doação de um átomo de seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos. O radical resultante é relativamente estável e cessa a reação em cadeia, dessa forma evitando a formação de compostos como aldeídos, cetonas e alcoóis que conferem sabor e odor desagradáveis ao alimento e pode tornar o produto inaceitável ao consumo (RAMALHO e JORGE, 2006).

2.4.5 Fitosteróis

Os fitosteróis são uma importante classe de componentes presentes em óleos vegetais. Possuem estrutura química semelhante ao colesterol (Figura 2.4.5.1), porém ao contrário deste tem origem vegetal e não é produzido pelo corpo humano. Os fitoesteróis consistem em quatro anéis na sua estrutura básica, e uma cadeia lateral flexível acoplada no final do quarto anel. A cadeia lateral ramificada pode ser saturada ou insaturada. De acordo com a substituição no grupo hidroxila, os fitoesteróis são classificados como esteróis livres, esteróis esterificados, γ -orizanol e estéril glicosídios, os quais podem ser livres ou esterificados (VAN HOED, 2010).

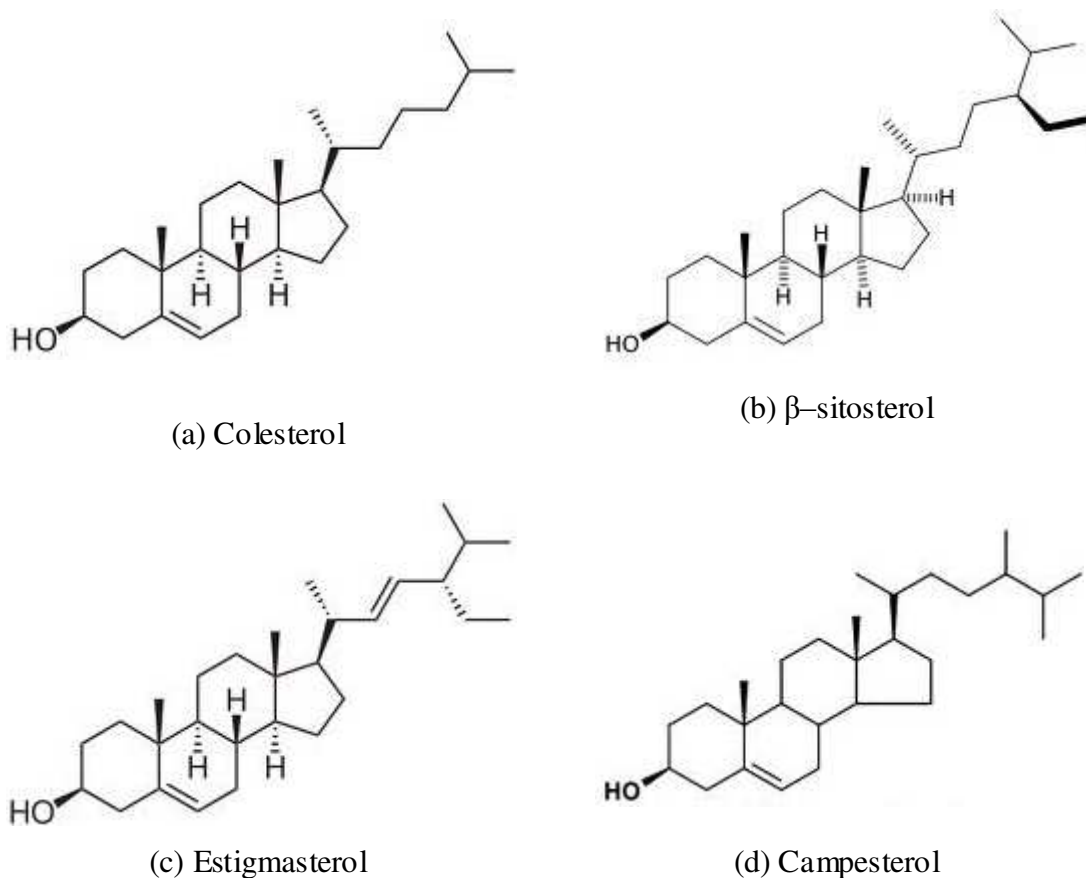


Figura 2.4.5.1. Estrutura química de esteróis de origem animal, (a) colesterol, e vegetal: (b) β -sitosterol, (c) estigmasterol e (d) campesterol.

Os fitosteróis são substâncias naturais encontradas em alimentos de origem vegetal, como nozes, semente de girassol, soja, canola, trigo, milho, feijões, abacate, legumes e verduras. Também podem ser encontrados em produtos como o creme vegetal, iogurtes e leite. O principal esteroi encontrado em óleos vegetais é o β -sitosterol, porém a concentração deste varia em função da fonte de obtenção. Por outro lado, a taxa de esteróis livres/esterificados varia de acordo com os diferentes esteróis e óleos vegetais.

Os fitosteróis são substâncias naturais encontradas em alimentos de origem vegetal, como nozes, semente de girassol, soja, canola, trigo, milho, feijões, abacate, legumes e verduras. Também podem ser encontrados em produtos como o creme vegetal, iogurtes e leite. O principal esteroi encontrado em óleos vegetais é o β -sitosterol, porém a concentração deste varia em função da fonte de obtenção. Por outro lado, a taxa de esteróis

livres/esterificados varia de acordo com os diferentes esteróis e óleos vegetais.

No óleo de palma bruto a concentração de esteróis varia entre 200 – 600 ppm, sendo que os principais esteróis são: β -sitosterol, campesterol e estigmasterol. Estes compostos também se encontram na oleína e estearina de palma, porém seus níveis são reduzidos durante o refino. De acordo com Bonnie e Choo (2000), o conteúdo de esteróis na oleína vermelha de palma varia numa faixa de 325 – 365 ppm consistindo basicamente em β -sitosterol (59 %), campesterol (22 %), estigmasterol (17 %) e colesterol (2.6 %). Altos níveis de esteróis (1500 – 20000 ppm) são encontrados no destilado de óleo de palma (GUNSTONE e HARWOOD, 2007).

Os fitosteróis promovem a redução do colesterol do plasma sanguíneo e do colesterol LDL, através da redução da absorção de colesterol (PIIRONEN et al., 2000). Os fitoesteróis são adicionados como ingrediente funcional a uma grande variedade de produtos alimentícios. Entretanto, as pequenas quantidades encontradas em produtos naturais como os óleos vegetais também são de grande importância (OSTLUND et al., 2002).

2.4.6 Esqualeno

O esqualeno é um hidrocarboneto hexasaturado composto por 30 átomos de carbono (Figura 2.4.6.1). É geralmente encontrado distribuído nas gorduras vegetais e animais.

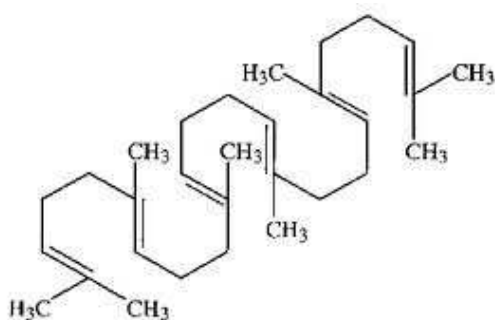


Figura 2.4.6.1. Estrutura química da molécula de esqualeno.

O esqualeno é precursor da biosíntese de colesterol em animais e de fitoesteróis em organismos vegetais (SAMBANTHAMURTHI et al., 2000). É o maior constituinte da

matéria insaponificável no óleo de oliva extra-virgem, e também apresenta grande representatividade em outros óleos, como semente de abóbora e palma. Na maioria dos óleos, o esqualeno está presente em níveis relativamente baixos (Tabela 2.4.6.1).

O esqualeno é descrito como um potencial agente quimiopreventivo do câncer (SMITH et al., 2000) e é capaz de extinguir o oxigênio *singlet*, agindo como um antioxidante (KOHNO et al., 1995).

Tabela 2.4.6.1. Conteúdo de esqualeno em óleos vegetais selecionados.

Óleo vegetal	Esqualeno (mg·kg ⁻¹)	Referências
Óleo de oliva	800–1200	GRIGORIADOU et al., 2007
Óleo de palma	200–500	GEE, 2007
Óleo de semente de abóbora	353	TUBEROSO et al., 2007
Óleo de arroz	120	KRISHNA et al., 2003
Óleo de canola	44	TUBEROSO et al., 2007
Óleo de milho	34	TUBEROSO et al., 2007
Óleo de girassol	17	TUBEROSO et al., 2007
Óleo de soja	–	TUBEROSO et al., 2007

2.4.7 Componentes de Odor

O óleo de palma bruto possui odor característico de amêndoa. Kuntom (1982) caracterizou o odor natural e rancificado do óleo de palma através de análises cromatográficas. Foram encontradas pequenas quantidades de aldeídos com hidrocarbonetos terpênicos e monoxigenados predominantes no odor do óleo de palma fresco. Os terpenos incluem linol, trans-allo-ocimeno e β -ciclocitral. Além dos terpenos, o naftaleno e seus derivados também foram detectados.

Os componentes de odor do óleo de palma rancificado são principalmente aldeídos e cetonas. Isto inclui os aldeídos alifáticos, C₄–C₁₀, e os insaturados trans-2-alcenais, C₆–C₉. Foram detectados também outros aldeídos como o trans-2-nonenal, trans,cis-2-4-decadienal, trans,trans-2,4-hexadienal e trans,cis-2,4-hexadienal. Entre as cetonas presentes estão: 2-alkanona, 2,2,6-trimetilciclohexanona e γ -heptalactona.

2.4.8 Traços de Metais

Os metais podem estar presentes no óleo bruto ou serem incorporados durante o processamento. Traços de metais de transição como o cobre, ferro, manganês e níquel agem como pró-oxidantes e devem ser removidos durante a etapa de refino (O'BRIEN, 2000).

Os traços de metais podem formar complexos com proteínas, lipídios, fosfolipídios ou carreadores não lipídicos. No óleo de palma bruto, os metais podem ser provenientes do solo, fertilizantes, do processo de fabricação, tanques de armazenamento e tubulação. Para reduzir a contaminação por metais no processo de produção do óleo de palma sugere-se a utilização de equipamentos de aço inoxidável (SAMBANTHAMURTHI et al., 2000).

A presença de ferro e cobre no óleo de palma deve ser evitada. Estes metais catalisam a decomposição dos hidroperóxidos em radicais livres, promovendo assim a degradação do óleo. O cobre é 10 vezes mais ativo que o ferro. Este acelera a taxa de destruição dos hidroperóxidos, aumentando a produção de produtos secundários de oxidação, enquanto o ferro aumenta a taxa de formação de peróxido. O valor médio encontrado para o ferro no óleo de palma bruto é de 4,4 ppm, enquanto para o cobre é de 0,06 ppm. Estes valores devem ser reduzidos durante o refino para 0,5 – 1,0 ppm e < 0,1 ppm, respectivamente (SAMBANTHAMURTHI et al., 2000).

2.5 Técnicas utilizadas na redução da perda dos componentes minoritários

A qualidade final dos óleos vegetais é em grande parte determinada pelo processo de desacidificação/desodorização aplicado. Atualmente existe uma grande demanda por produtos nutricionais contendo constituintes bioativos, os quais podem ser adicionados ou de preferência preservados através de técnicas de purificação adequadas. A indústria de óleos vegetais tem incorporado cada vez mais os anseios dos consumidores por um produto com maior valor nutricional, implicando em níveis mais elevados de tocoferóis, esteróis, carotenóides, dentre outros. Dessa forma, investindo mais intensamente no uso de ferramentas computacionais (CERIANI e MEIRELLES, 2004a, 2006, 2007), bem como na

inovação dos métodos de desacidificação de óleos previamente utilizados.

Várias técnicas tem sido estudadas visando a obtenção de óleos vegetais ricos em componentes minoritários naturalmente preservados. De Greyt et al. (1999) desenvolveu o processo denominado *DUAL TEMP^o*, onde durante o processo de desodorização o óleo é submetido inicialmente a uma temperatura moderada (230 °C) para remoção da maior parte dos AGL e posteriormente é submetido a altas temperaturas (250 °C) por um período curto, dessa forma reduzindo a perda de compostos como tocopherols e esteróis e mantendo a concentração de AGL dentro dos valores desejados. Mayamol et al. (2007) estudou o uso combinado de neutralização, cristalização controlada, winterização e desodorização em temperaturas reduzidas (130 – 150 °C) obtendo teores de retenção em torno de 85 % para os carotenóides, 80 % para os tocóis e 65 % para os esteróis presentes no óleo de palma. Gonçalves et al. (2007) realizou o estudo de processo de desacidificação do óleo de palma utilizando extração por solvente e obteve valores de retenção de carotenóides e tocoferóis no óleo refinado em torno de 99 % e 80 % (m/m), respectivamente. Existem ainda outras técnicas menos utilizadas industrialmente como é o caso da destilação molecular e resinas de iônica. A reduzida utilização dessas técnicas no meio industrial se justifica pelo elevado preço do processo (destilação molecular) ou pela ausência de interesse das indústrias para aplicação de forma contínua. No entanto, a desodorização física de uma forma geral ainda é a técnica mais utilizada para indústria de óleo de palma a nível mundial.

É importante salientar que a indústria de óleo de palma no Brasil tem optado por investir na produção de um óleo de melhor qualidade (baixa acidez), dessa forma reduzindo o tempo e a temperatura de processo com o conseqüente aumento nos níveis de minoritários presentes no óleo refinado.

2.6 Processamento de Óleos Vegetais

A maioria dos óleos e gorduras usados para fins alimentícios devem ser processados até determinado estágio. Inicialmente os lipídios são separados das amêndoas ou dos frutos de maneira a maximizar o rendimento e garantir a produção de um lipídio de boa qualidade (O'BRIEN, 2000). No caso do óleo de oliva, o produto de melhor qualidade é vendido como óleo de oliva extra-virgem e não precisa ser refinado, seguindo unicamente o

processo de filtração para obtenção do produto final. Porém, a maioria dos óleos vegetais devem ser refinados para obtenção de um produto aplicável para usos alimentícios. O refino deve remover os componentes indesejáveis (AGL, produtos de oxidação, compostos odoríferos) com a retenção dos triacilgliceróis em sua forma original. As diferentes etapas realizadas no processamento de óleos são discutidas nos parágrafos seguintes.

2.6.1 Isolamento do Óleo a partir de Material Oleaginoso

Óleos e/ou gorduras vegetais podem ser obtidos a partir de sementes oleaginosas (algodão, girassol, etc.) ou da polpa de alguns frutos (oliva e palma) através de três maneiras distintas: extração mecânica, extração por solvente ou a combinação das duas. O objetivo do tratamento aplicado através dos dois métodos é separar o óleo da matéria sólida naturalmente associada a ele (WILLIAMS, 1966).

No processo de extração mecânica, o material oleaginoso é submetido a altas temperaturas e altas pressões, dessa forma forçando o óleo para fora das células. O rendimento da extração é menor quando comparado à extração por solvente, porém o óleo geralmente possui maior qualidade devido a não retenção de componentes como os fosfolipídios. Além disso, a torta originada da prensagem pode ainda seguir para a extração por solvente, aumentando assim o rendimento da extração, ou pode ser ainda destinada à ração animal (ANDERSON, 2005).

Na extração por solvente, o óleo é lixiviado do material oleaginoso por meio de um solvente aquecido. Após a extração, ocorre a evaporação do solvente para recuperação do óleo dissolvido. O óleo e o solvente são separados por destilação, até que o óleo esteja totalmente livre do solvente. O solvente recuperado pode então ser purificado e utilizado para uma próxima extração (WILLIAMS, 1966).

No processo de extração combinada, o material sólido move-se em sentido contrário à miscela (óleo + solvente), de forma que, ao entrar no equipamento, contata uma miscela rica em óleo. Após esta primeira lavagem, a miscela, que contém cerca de 25 a 30 % de óleo, deixa o extrator para ser destilada e recuperada. Após passar através dos vários estágios de lavagem e, finalmente, entrar em contato com o solvente puro, o material sólido é destinado à etapa de desolventização (ANDERSON, 2005).

A extração por solvente não é adequada para processamento em pequena escala, devido ao alto capital, custos de operação, risco de incêndio, explosões e também devido a complexidade do processo (WILLIAMS, 1966).

O controle da temperatura é extremamente importante durante o processo de extração. Isso ocorre porque o processo de extração é melhorado a altas temperaturas, devido à diminuição da viscosidade do óleo e aumento da difusão. Dessa forma, as temperaturas devem ser mantidas tão altas quanto possível sem volatilização do solvente ou pressão excessiva dentro do extrator (WILLIAMS, 1966).

Ao deixar o extrator, a miscela é previamente concentrada em evaporadores, chegando a cerca de 90 % ou mais de óleo em solvente, sendo então destinada à coluna de destilação ou *stripping* (MILLIGAN e TANDY, 1974).

A partir da miscela, podem-se obter dois produtos em duas correntes distintas: uma de solvente e outra de óleo. O solvente é recuperado e o óleo é destinado às etapas subsequentes do seu processamento.

2.6.2 Refino

O refino é o processo de remoção das impurezas presentes naturalmente nos óleos ou formadas em etapas anteriores do processamento. O refino de óleos vegetais pode seguir duas vias distintas: química ou física (Figura 2.6.2.1). Ambos os processos consistem na degomagem (opcional para o refino químico), desacidificação, branqueamento e desodorização. Winterização e pré-branqueamento podem ser necessários para certos óleos ou aplicações.

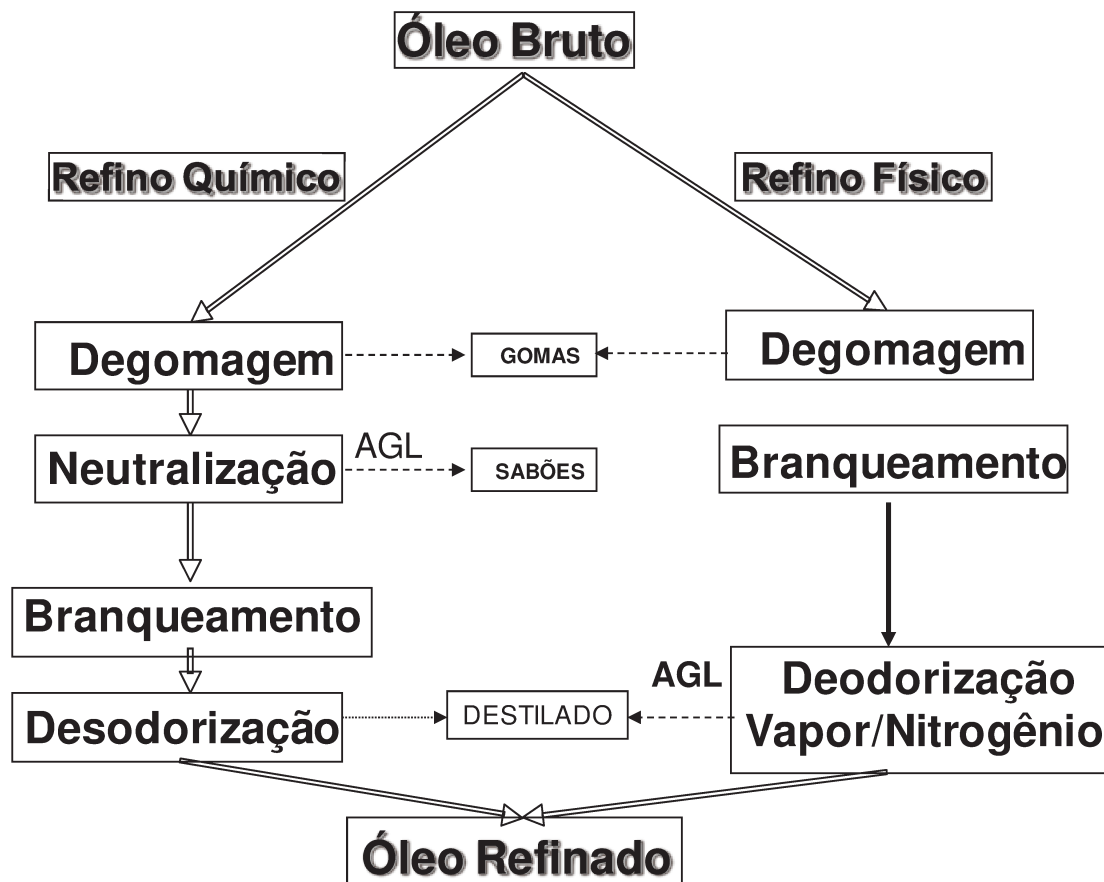


Figura 2.6.2.1. Etapas do refino químico e físico (Adaptado de Kellens e De Greyt, 2000).

A principal diferença entre os dois tipos de refino está na remoção dos ácidos graxos livres (AGL). Enquanto no refino químico os AGL são removidos pela adição de soda cáustica, no refino físico a remoção é feita através do processo de destilação durante a etapa de desodorização/desacidificação que ocorrem conjuntamente (KELLENS e DE GREYT, 2000).

2.6.2.1 Degomagem

Alguns óleos vegetais como óleo de soja, canola e farelo de arroz contêm relativamente altos níveis de impurezas, incluindo os fosfolipídios. Segundo Sambanthamurthi et al. (2000), o óleo de palma contém níveis relativamente baixos de fosfolipídios (5 – 130 ppm) comparado a outros óleos vegetais. Embora seja possível

remover os fosfolipídios através de neutralização alcalina, a etapa de degomagem aplicada separadamente apresenta uma maior eficiência e melhor relação custo benefício. A partir do óleo de soja, pode ser obtida uma lecitina de alta qualidade, a qual pode ser usada em aplicações alimentícias (FARR, 2000).

Dependendo do conteúdo e das propriedades dos fosfolipídios, estes podem ser removidos por degomagem com água, degomagem ácida (usando ácido fosfórico ou cítrico) ou degomagem enzimática. Degomagem por membranas está sendo extensivamente estudada, porém ainda não é industrialmente aplicada (CARR, 1978; DIJKSTRA e SEGERS, 2007).

Esta etapa de degomagem deve ser realizada antes do refino, assim evitando a fixação de cor escura no produto final. Neste processo o óleo é degomado para separar os fosfolipídios hidratáveis e não-hidratáveis através de precipitação. A degomagem pode ser considerada a primeira etapa do refino (ANDERSON, 2005).

2.6.2.2 Neutralização

No refino químico, a etapa de desacidificação é efetuada por neutralização com soda cáustica, ocasionando a conversão dos AGL em sabões, que são removidos posteriormente por meio de centrifugação ou decantação. Além disso, o tratamento alcalino remove parte dos pigmentos presentes no óleo (FARR, 2000), o que é de grande importância em óleos difíceis de serem branqueados. O principal problema associado à etapa de neutralização é a perda de óleo neutro devido à saponificação e ao arraste mecânico do mesmo na emulsão, principalmente em óleos com alto teor de AGL, como é o caso do óleo de palma.

De acordo com Antoniassi et al. (1998) as perdas no processo de neutralização podem ser de até 14 % de óleo neutro para o óleo de milho com 4 % de acidez. O óleo refinado quimicamente deve seguir para uma etapa subsequente, denominada de desodorização, onde ocorre a eliminação de odores indesejáveis.

2.6.2.3 Branqueamento

Geralmente o óleo bruto é rico em pigmentos os quais precisam ser removidos não somente devido à necessidade de uma boa aparência para o produto como também para

aumentar a estabilidade do óleo. No processo, o óleo é misturado com terra de branqueamento ativada, aquecido (geralmente 90 – 100 °C) e filtrado (ZSCHAU, 2000). O processo remove pigmentos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e produtos secundários de oxidação (KELLENS e DE GREYT, 2000).

Para o óleo de palma, o qual contém elevada acidez e posteriormente seguirá o processo de refino físico, as etapas de degomagem e branqueamento são condensadas em uma única etapa chamada de pré-tratamento. Nesta etapa, o óleo recebe todo o tratamento (adição de terra diatomácea, ácidos cítrico ou fosfórico, água, aquecimento e filtração), para seguir para etapa subsequente denominada desodorização (BASIRON, 2005).

2.6.2.4 Desodorização

A desodorização é a etapa final após o branqueamento do óleo. Este processo está baseado na grande diferença de volatilidade entre o óleo e a maioria das substâncias indesejáveis que afetam o sabor, odor, cor e a estabilidade dos óleos (KELLENS e DE GREYT, 2000).

Nos desodorizadores, o vapor de arraste é utilizado para facilitar a mistura, de forma que todo o óleo fique exposto às condições de superfície, onde a vaporização acontece. Na prática, para que a diferença entre a pressão de vapor dos TAG e dos componentes indesejáveis seja suficientemente grande, a temperatura do óleo deve chegar a valores entre 240 – 265 °C (BASIRON, 2005), e a pressão estar na faixa de 2 – 5 mmHg.

De acordo com Kellens e De Greyt (2000), os componentes removidos ou inativados durante a desodorização são aldeídos, cetonas, alcoóis, esteróis, hidrocarbonetos, diversas substâncias formadas pela degradação térmica de peróxidos e pigmentos, além de compostos odoríferos causados por hidrogenação. Estes compostos são recolhidos no destilado após a condensação dos vapores.

Durante o processo de desodorização, grande parte dos valiosos micronutrientes presentes no óleo de palma também são reduzidos. Os carotenóides são praticamente destruídos, enquanto os tocoferóis e esteróis são reduzidos em cerca de 10 – 35 % (MAYAMOL et al., 2007). As elevadas temperaturas de desodorização podem também induzir a formação de pequenas quantidades de ácidos graxos *trans*, os quais devem ser evitados. As condições de desodorização podem ser mais brandas para óleos obtidos a

partir do refino químico, pois os AGL já foram removidos durante a neutralização.

2.6.2.5 Princípios da Desodorização

A desacidificação por via física é uma das etapas do refino físico, na qual o principal objetivo é a retirada da acidez, relacionada à digestibilidade do óleo. É realizada no mesmo tipo de equipamento utilizado para a desodorização, que recebe a denominação comercial de “desodorizador”.

A desacidificação pode ser vista como uma operação de esgotamento ou *stripping*, onde a purificação da fase líquida graxa ocorre pela mistura com um gás de arraste, que facilita a transferência de massa das impurezas voláteis para a fase gasosa (GIBON et al., 2007). Esta operação é continuamente realizada no equipamento, evitando que parte dos voláteis retorne ao líquido (BALCHEN et al., 1999).

Praticamente todas as suas aplicações comerciais utilizam vapor como o agente de arraste, devido à habilidade deste gás de se condensar em condições moderadas, diminuindo, desta forma o custo do sistema de vácuo (BALCHEN et al., 1999). No entanto, a utilização do gás nitrogênio vem sendo estudada como uma alternativa capaz de gerar um óleo vegetal mais estável, uma melhor qualidade do destilado e menor perda de óleo neutro (DECAP et al., 2004).

A desodorização por via física pode ser realizada de forma contínua, semi-contínua ou em batelada. O processo em batelada é adequado para pequena escala e tem como maiores vantagens sua construção simples e seu baixo custo de operação. Este processo possui execução experimental mais simples, além de incluir os principais fenômenos que ocorrem no processo contínuo. Dessa forma, tem sido objeto de estudo de vários trabalhos na literatura (DECAP et al., 2004; PRIETO GONZALEZ et al., 2007; PETRAUSKAITÈ et al., 2000; SAMPAIO et al., 2010).

No desodorizador em batelada, o óleo é previamente aquecido até que seja atingida a temperatura requerida para a desacidificação, quando passa a haver a injeção do agente de arraste. Após certo período de tempo, quando o teor de acidez estabelecido pela legislação é atingido (0,3 %, expresso em ácido oléico; ANVISA, 2005), o óleo é resfriado sob vácuo e destinado ao estoque (ANDERSON, 2005).

No processo de refino físico são necessárias condições de altas temperaturas (240 –

265 °C) e baixas pressões (2 – 5 mmHg). Estas extremas condições de processo promovem não somente a remoção das impurezas presentes no óleo, como também a perda de óleo neutro (principalmente MAG e DAG) e a formação de ácidos graxos livres (AGL) na faixa de 0,015 – 0,02 % (GIBON et al., 2007).

2.7 Refino Físico versus Refino Químico

Os maiores inconvenientes na utilização do refino químico são os problemas relacionados à poluição ambiental, número de etapas do processo (perdas no processo) e conseqüentemente as desvantagens relacionadas aos custos (CARR, 1978; HARALDSSON, 1983).

2.7.1 Poluição Ambiental

No período inicial de desenvolvimento da indústria de óleos, a poluição ambiental e o uso de produtos químicos em alimentos não eram assuntos de grande relevância e, portanto, as etapas envolvidas no refino químico foram plenamente aceitas. No entanto, como os consumidores estão cada vez mais preocupados com a ingestão de produtos tratados quimicamente e as agências reguladoras estão cada vez mais rigorosas, o refino físico se tornou uma valiosa alternativa podendo ser aplicado à maioria dos óleos vegetais.

2.7.2 Número de Estágios

O refino químico requer mais etapas para a obtenção do produto final, quando comparado ao refino físico onde os processos são mais simples, pois envolvem menor número de estágios. A partir da Figura 2.5.2.1 pode-se verificar claramente que o refino químico requer 4 etapas para a obtenção do produto final enquanto no refino físico são necessárias apenas 3 etapas. A diferença básica entre os dois processos é a etapa de neutralização da acidez, na qual existe considerável perda de óleo neutro nas mistelas formadas pelo sabão e a formação de grande parte dos efluentes.

2.7.3 Vantagens Relacionadas aos Custos

Menor número de etapas de processamento indica que o custo operacional é consideravelmente minimizado. Além disso, o refino químico tem de lidar com o problema da borra de escoamento, que envolve um alto custo no tratamento de efluentes. Dessa forma, a escolha das refinarias de óleo de palma pelo refino físico é justificada.

2.8 Perdas durante o Processamento de Óleos

Durante o processo de desodorização existe a remoção dos compostos odoríferos, porém esta quantidade é pequena e raramente excede 1 % em massa do óleo. No entanto, existe uma perda indesejável de óleo neutro e outros compostos que torna a perda total muito maior. A composição do destilado não depende somente da composição do óleo, mas da técnica de refino aplicada (físico ou químico) e das condições de operação utilizadas durante o processo de desodorização. No caso do refino físico de óleo de palma, o destilado consiste em AGL (83 – 88 %) com somente pequenas quantidades de componentes insaponificáveis (2 – 4 %) e óleo neutro (8 – 13 %) (GIBON et al., 2007). Enquanto o destilado proveniente do refino químico é rico em tocoferóis (9.2 % – 15 %), esteróis (9.0 – 17.6 %) e contém pequenas quantidades de ácidos graxos livres (10 % – 24 %) (VERHÉ et al., 2006).

O óleo neutro é formado por triacilgliceróis (TAG), diacilgliceróis (DAG) e monoacilgliceróis (MAG). A presença de óleo neutro no destilado ocorre principalmente pelo arraste mecânico de gotas de óleo pelo vapor e, em menor escala, pela volatilização dos acilgliceróis de menor massa molar (MAG) (DE GREYT e KELLEN, 2005).

As perdas geradas nas etapas de desodorização e refino físico de óleos vegetais podem ser divididas em duas formas: perdas por volatilização e perdas por arraste mecânico (CARLSON, 1996).

2.8.1 Perdas por Volatilização

Dentre os compostos glicerídicos encontrados em quantidades relevantes nos óleos vegetais, os ácidos graxos livres (AGL) são os mais facilmente evaporados durante a

desacidificação por via física (Tabela 2.8.1.1). Geralmente esses compostos estão na alimentação do equipamento, porém também podem ser formados durante o processamento por hidrólise dos triacilgliceróis (SZABO SARKADI, 1959; PETRAUSKAITÈ et al., 2000).

Tabela 2.8.1.1. Volatilidade relativa dos principais componentes dos óleos vegetais em relação ao tocoferol (WOERFEL, 1995).

Componentes	Massa molar ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	Volatilidade Relativa
Ácidos Graxos	280	2,5
Esqualeno	411	5,0
Tocoferóis	415	1,0
Esteróis	410	0,6
Ésteres de Esteróis	675	0,038
Óleo	885	pequena

Conforme pode ser observado os esteróis e outros componentes da matéria insaponificável são menos voláteis que os AGL. Porém, dependendo do tipo de óleo e da temperatura de operação, até 60 % da concentração dos componentes minoritários presentes da alimentação pode ser perdida (CARLSON, 1996).

A porção glicerídica é menos volátil que os demais componentes do óleo, mas existe alguma perda por evaporação (em torno de 0,1 %). A perda de óleo neutro é aumentada em processos realizados com altas temperaturas, alto vácuo e grandes quantidades de agente de arraste. Para óleos láuricos, caso do óleo de coco, parte da perda de óleo neutro é uma consequência da evaporação efetiva dos componentes voláteis de cadeia curta (MAG e DAG), logo não sendo afetados pelo desenho do desodorizador (DE GREYT e KELLEN, 2005).

Os acilgliceróis parciais (MAG e DAG), por terem uma massa molar menor, são mais voláteis que os TAG e constituem grande parte do total do óleo neutro. Geralmente os acilgliceróis parciais não ocorrem naturalmente em quantidades significativas, exceto em óleo de palma obtido a partir de frutos danificados. O conteúdo de MAG's no óleo de palma é baixo e está usualmente abaixo de 1 % (SAMBANTHAMURTHI et al., 2000).

2.8.2 Perdas por Arraste Mecânico

O arraste mecânico pode ser definido como o arraste de partículas de líquido ocasionado pelo escoamento do vapor. As bolhas de vapor do arraste desprendem considerável quantidade de energia cinética atravessando a superfície do óleo e desta forma carregando as gotas de líquido até a saída do equipamento (CARLSON, 1996).

As perdas de óleo neutro causadas por arraste mecânico são altamente indesejáveis nos processos de desodorização e desacidificação por via física, principalmente porque podem ser evitadas com um projeto apropriado do desodorizador. A perda de óleo neutro na maioria dos óleos (como o de soja e palma) é ocasionada principalmente por arraste mecânico.

2.9 Reações de Degradação Térmica

2.9.1 Degradação de Carotenóides

Os carotenóides são moléculas altamente insaturadas, que incluem ligações duplas conjugadas, sendo dessa forma suscetíveis à degradação durante o processamento e armazenamento. A degradação ocorre geralmente como resultado da exposição à alta temperatura, luz ou moléculas pró-oxidantes (ACHIR et al., 2010).

A natureza das diferentes matrizes alimentares, bem como a concentração, o tipo de carotenóide envolvido e as condições ambientais determinarão o comportamento cinético de degradação. Alguns autores estudaram a degradação térmica dos carotenóides em diferentes meios e para diferentes temperaturas. A maioria dos autores atribuem o processo de degradação ao modelo de primeira ordem (HENRY et al., 1998; AHMED et al., 2002), porém em alguns casos equações de ordem zero (MÍNGUEZ-MOSQUERA et al., 1994) ou ainda de terceira ordem (ACHIR et al., 2010) parecem descrever melhor o processo.

Para o óleo de palma poucos pesquisadores tem se aprofundado num estudo detalhado com o requerido controle das condições de processo. Jideani (1992) investigou a degradação térmica do β -caroteno para diferentes temperaturas (160 °C, 180 °C e 200 °C), sob condições isotérmicas, num período de 60 min. Loncin (1962) enquanto estudando o processo de desacidificação física do óleo de palma para diferentes temperaturas (180 °C,

200 °C, 220 °C e 240 °C) também verificou a ocorrência do processo de degradação de carotenóides para um período de 60 min. Ambos os autores observaram uma maior degradação dos carotenóides para maiores temperaturas de processo, resultando portanto em uma menor retenção destes compostos no óleo final. É importante ressaltar, que os estudos mencionados acima referentes a degradação dos carotenóides no óleo de palma são de grande importância para uma análise qualitativa do comportamento dos carotenóides, porém não fornece os dados necessários para uma análise quantitativa, o que possibilitaria um estudo de comparação dos dados cinéticos obtidos neste trabalho.

A equação geral atribuída ao processo de degradação dos carotenóides é descrita como:

$$\frac{dC}{dt} = -\kappa C^n \quad (2.9.1.1)$$

A Equação 2.8.1.1 mencionada acima mostra que a taxa de degradação dC/dt é proporcional a n -ésima (n^{th}) potência da concentração de carotenóides (C em $mg \cdot kg^{-1}$ de óleo) para qualquer tempo, enquanto n é a ordem da reação e κ (min^{-1}) é a constante da reação. Integrando a Equação 2.8.1.1 entre C e C_0 em um intervalo de tempo zero (0) até t , tem-se:

$$\int_{C_0}^C C^{-n} dC = -\kappa \int_0^t dt \quad (2.9.1.2)$$

A Equação 2.8.1.2 mencionada acima não se aplica para $n = 1$, pois o termo $1/(1-n)$ se tornaria uma indeterminação, desta forma:

$$C = [C_0^{1-n} - (1-n)\kappa t]^{1/(1-n)} \quad (n \neq 1) \quad (2.9.1.3)$$

$$C = C_0 \exp(-\kappa t) \quad (n = 1) \quad (2.9.1.4)$$

A ordem da reação (n) e a constante da reação κ podem ser determinadas através do emprego de um *software* computacional básico. Considerando-se que a constante da reação

varia com a temperatura absoluta (K) de acordo com a equação de Arrhenius é possível calcular o fator pré-exponencial e a energia de ativação:

$$\kappa = \kappa_0 \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (2.9.1.5)$$

onde, κ_0 , E_a , R , e T são respectivamente, o fator pré-exponencial (min^{-1}), a energia de ativação ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$), a constante dos gases ideais ($8,314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) e a temperatura (K), a qual é considerada constante durante o tratamento térmico.

O estudo dos parâmetros cinéticos como a ordem da reação, a constante da reação e a energia de ativação fornecem valiosas informações relacionadas às mudanças nos parâmetros de qualidade que ocorrem durante o processamento térmico. No entanto, até o presente momento não foi possível encontrar na literatura dados referentes à cinética de degradação destes valiosos compostos no óleo de palma. Desta forma, um dos objetivos deste trabalho de tese foi o estudo da cinética de degradação dos carotenóides no óleo de palma, o que possibilita a predição das mudanças na concentração deste composto durante o processamento.

2.9.2 Hidrólise de Triacilgliceróis

A hidrólise é uma reação na qual os triacilgliceróis são hidrolisados em compostos menores como diacilgliceróis (DAG), monoacilgliceróis (MAG) e ácidos graxos livres (AGL). Este processo geralmente ocorre devido às elevadas condições de temperatura associadas com a presença de vapor presentes no processo de desodorização (DE GREY e KELLEN, 2005). As etapas da reação são dadas de acordo com a Figura 2.9.2.1.

De acordo com Petrauskaitė et al. (2000), durante o refino físico de óleo de coco a quantidade de AGL produzido no óleo devido a reação de hidrólise varia entre 0,015 – 0,020 %.

A reação de hidrólise é tão importante, que na fase final do processo de desacidificação por via física, chega a igualar a volatilização de ácidos graxos. Como ressaltado por Carlson (1996), a acidez final de óleos desodorizados não é inferior a 0,005 %, devido à hidrólise do óleo causada pelo vapor de arraste. Szabo Sarkadi (1959)

ênfatizou também a ação catalítica de ácidos graxos na reação de hidrólise quando estudando a ocorrência de hidrólise em óleos com elevada acidez.

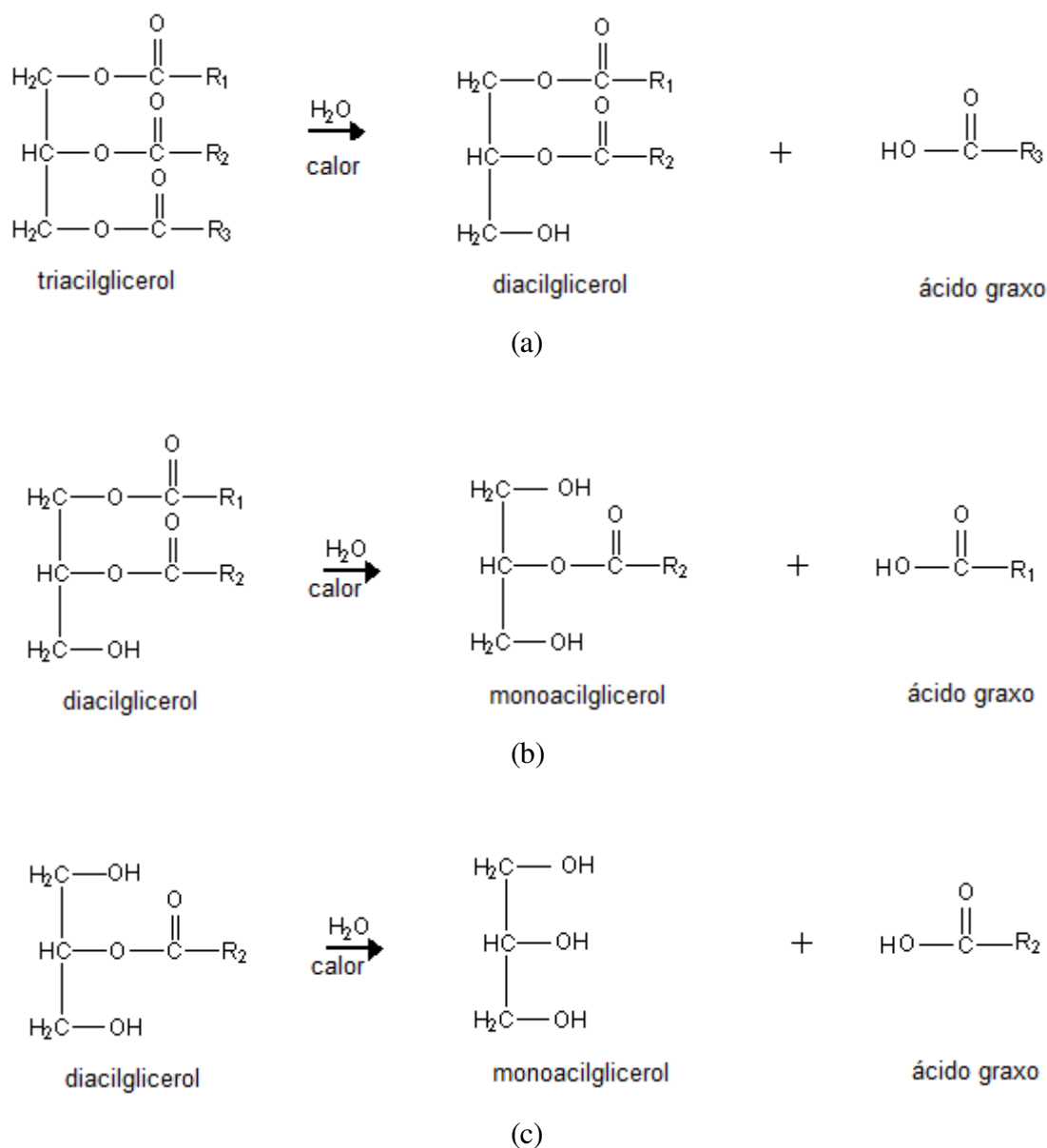


Figura 2.9.2.1. Etapas do processo de degradação dos triacilgliceróis.

De acordo com Brockmann et al. (1987) a reação de hidrólise segue uma cinética de primeira ordem em relação a concentração dos triacilgliceróis e o fator pré-exponencial é altamente dependente da temperatura.

Neste trabalho de tese foi investigada a ocorrência da reação de hidrólise para a temperatura de 260 °C mantendo-se constante a porcentagem de vapor injetada (1 % de vapor). O tempo de análise variou entre 0,5 – 2,5 h, resultando, portanto numa variação de fluxo entre 0,1 – 0,017 ml·min⁻¹. Analisou-se também a execução dos experimentos na temperatura de 260 °C com a manutenção do fluxo de vapor constante (0,1 ml·min⁻¹), para um mesmo intervalo de tempo de análise (0,5 – 2,5 h). Adicionalmente avaliou-se a ocorrência de hidrólise para diferentes temperaturas (230, 240 e 250 °C) mantendo-se constante o tempo de *stripping* (1 h e 2,5 h).

Referências Bibliográficas

ABIOVE, Complexo Soja – Exportações. Disponível na internet: <http://www.abiove.com.br>. Acesso em Fevereiro de 2011.

ABOISSA, A Palma Maravilhosa. Disponível na internet: www.aboissa.com.br/palma. Acesso em Janeiro de 2011.

ACHIR, N.; RANDRIANATOANDRO, V. A.; BOHOUN, P.; LAFFARGUE, A.; AVALONE, S. Kinetic study of β -carotene and lutein degradation in oils during heat treatment. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, vol. 112, pp. 349-361, 2010.

AGÊNCIA ESTADO, ADM vai investir em produção de palma no Brasil. Disponível em: <http://economia.ig.com.br/empresas/agronegocio/adm+vai+investir+em+producao+de+palma+no+brasil/n1237995833307.html>. Acesso em Fevereiro de 2011.

AHMED, J.; SHIVARE, U. S.; SANDHU, K. S. Thermal Degradation Kinetics of Carotenoids and Visual Color of Papaya Puree. *Journal of Food Science*, vol. 67, pp. 2692 – 2695, 2002.

AMBIENTE BRASIL, Governo Lança Programa Nacional do Óleo de Palma. Disponível na internet: <http://noticias.ambientebrasil.com.br/clipping/2010/05/07/54727>

-governo-lanca-programa-nacional-de-oleo-de-palma.html. Acesso em Março de 2011.

ANUÁRIO BIODIESEL, Matérias-primas para produção de biodiesel. Disponível na internet: <http://www.anuariobiodiesel.com.br/materias-primas>. Acesso em Agosto de 2007.

ANDERSON, D. A. Primer on Oils Processing Technology. In: SHAHIDI, F. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. 6 ed., vol. 5, pp. 1-56, John Wiley & Sons, New Jersey, 2005.

ANTONIASSI, R., ESTEVES, W., MEIRELLES, A.J.A. Pretreatment of corn oil for physical refining. *J. Am.Oil.Chem.Soc.*, vol. 75, pp. 1411-1415, 1998.

ANVISA. Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o “REGULAMENTO TÉCNICO PARA ÓLEOS VEGETAIS, GORDURAS VEGETAIS E CREME VEGETAL”. Diário Oficial da União, Brasília, 23 de Setembro de 2005.

BALCHEN, S.; GANI, R.; ADLER-NISSEN, J. Deodorization Principles, Inform, vol. 10, pp. 245 – 262, 1999.

BASIRON, Y. Palm oil, vol. 2, 6th ed., John Wiley and Sons, pp. 333 – 429, 2005.

BIODIESEL, Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel. Disponível na internet: <http://www.biodiesel.gov.br>. Acesso em Fevereiro de 2011.

BIODIESELBR, Produção brasileira de óleo de palma. Disponível na internet em: <http://www.biodieselbr.com/noticias/em-foco/palma-gera-oportunidades-sustentabilidade-lula-151010.htm>. Acesso em Março de 2011a.

BIODIESELBR, Palma gera oportunidade e sustentabilidade, diz Lula. Disponível na internet em: <http://www.biodieselbr.com/noticias/em-foco/palma-gera-oportunidade->

sustentabilidade -lula-151010.htm, Acesso em Fevereiro de 2011b.

BOCKISH M. Fats and Oils Handbook. Illinois – USA, AOCS Press. 1998.

BONNIE, T. Y. P.; CHOO, Y. M. Valuable minor constituents of commercial red palm olein: carotenoids, vitamin E, ubiquinones and sterols. *Journal of Oil Palm Research*, vol. 12, pp. 14 – 24, 2000.

BROCKMANN, R.; DEMMERING, G.; KREUTZER, U. Fatty acids. In: KAUDY, L., ROUNSAVILLE, J.F., SCHULZ, A. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Weinheim: Verlag Chemie, v. A10, pp. 245 – 275, 1987.

CAMPOS, F. M.; PINHEIRO-SANTANA, H. M.; SOUZA, P. M. de . Provitamins A in vegetables marketed in formal and free market at Viçosa (MG), Brazil, during three seasons of the year. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, vol. 26, pp. 33 – 40, 2006.

CARR., R. A., Refining and degumming systems for edible fats and oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55, 765 – 771, 1978.

CARLSON, K.F. Deodorization. In: HUI, Y.H. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. 5 ed., vol.4, pp. 339 – 391, John Wiley & Sons, New York, 1996.

CERIANI, R., MEIRELLES, A.J.A. Simulation of Batch Physical Refining and Deodorization Processes, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 81, pp. 305 – 312, 2004.

CERIANI, R., MEIRELLES, A.J.A. Simulation of physical refiners for edible oil deacidification. *J. Food Engi.* vol. 76, pp. 261 – 271, 2006.

CERIANI, R., MEIRELLES, A.J.A. Formation of trans PUFA during Deodorization of Canola Oil: A Study through Computational Simulation. *Chem. Eng. Proc.*, vol. 46, pp. 375 – 385, 2007.

CRAVEIRO, A. C.; CRAVEIRO, A. A. Alimentos Funcionais: A Nova Revolução. Fortaleza: PADETEC/UFC, pp.113 – 116, 2003.

DECAP, P.; BRAIPSON-DANTHINE, S.; VANBRABANT, B.; DE GREYT, W.; DEROANNE, C. Comparison of Steam and Nitrogen in the Physical Deacidification of Soybean Oil. *J. Am.Oil.Chem.Soc.*, vol. 81, pp. 611 – 617, 2004.

DE GREYT, W.; KELLENS, M., Deodorization. In: SHAHIDI, F. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. 6 ed., v. 5, New Jersey: John Wiley & Sons, pp. 341 – 383, 2005.

DELLAPENNA, D.; POGSON, B. J. Vitamin Synthesis in Plants: Tocopherols and Carotenoids. *Annual Review of Plant Biology*. vol. 57, pp. 711 – 38, 2006.

DIJKSTRA, A. J.; SEGERS, J. C. Production and refining of oils and fats. In: GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L.; DIJKSTRA, A. J. The Lipid Handbook. USA: CRC Press, 3th edition, 143 – 262, 2007.

EBONG, P.E.; OWU, D. U.; ISONG, E.U. Influence of palm oil (*Elaes guineensis*) on health, *Plant Foods for Human Nutrition*, pp. 209 – 222, 1999.

EDEM, D. O. Palm oil Biochemical, physiological, nutritional, hematological, and toxicological aspects: A review. *Plant Foods for Human Nutrition*. vol. 57, pp. 319 – 341, 2002.

EMBRAPA, Principais usos do dendê. Disponível na internet: <http://www.cpa.embrapa.br>. Acesso em Setembro de 2007.

FAO, Palm Oil Processing. Disponível na internet em: <http://www.fao.org>. Acesso em Fevereiro de 2011.

FARR, W.E. Refining of fats and oils. In: O'Brien, R. D.; FARR, W.E.; WAN, P.J. (eds.), Introduction to fats and oil technology. 2nd edition. AOCS press, Champaign, Illinois, pp. 618, 2000.

GEE, P. T. Analytical characteristics of crude and refined palm oil fractions. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109, pp. 373 – 379. 2007.

GIBON, V.; DE GREYT, W.; KELLENS, M. Palm Oil Refining. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* v. 109, pp. 315 – 335, 2007.

GONÇALVES, C. B.; PESSÔA FILHO, P. A.; MEIRELLES, A. J. A. Partition of nutraceutical compounds in deacidification of palm oil by solvent extraction. *J. Food Eng.* vol. 81, pp. 21 – 26, 2007.

GRIGORIADOU, T.; ANDROULAKI, A.; PSOMIADOU, E.; TSIMIDOU, M. Z. Solid phase extraction of squalene and tocopherols in olive oil. *Food Chemistry*, vol. 51, pp. 675 – 680, 2007.

GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L. Occurrence and characterization of oils and fats. In: GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L.; DIJKSTRA, A. J. The Lipid Handbook. USA: CRC Press, 3th edition, pp. 52, 2007.

HARALDSSON, G. Degumming, Dewaxing and Refining, *Ibid.* 60: 203A–208A, 1983.

HARTMAN, L.; ESTEVES, W. Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais. Governo do Estado de São Paulo, 1982.

HENRY, L. K.; CATIGNANI, G. L.; SCHWARTZ, S. J. Oxidative Degradation Kinetics of Lycopene, Lutein and 9-cis and All-trans β -carotene. *J Am Oil Chem Soc.*, vol. 75, pp. 823 – 829, 1998.

HOFFMANN, G. The Chemistry and Technology of Edible Oils and Fats and their high Fat Products, Academic Press, New York, pp. 384, 1989.

HUNTER, S. C.; CAHOON, A. E. B. Enhancing Vitamin E in Oilseeds: Unraveling Tocopherol and Tocotrienol Biosynthesis. *Lipids*, pp. 97 – 108, 2007.

HVOLBY, A. Removal of nonhydratable phospholipids from soybean oil. *J Am Oil Chem Soc.*, vol. 48, pp. 503-509, 1971.

IUPAC. Compendium of chemical terminology, 2nd ed. (the "gold book"). compiled by a. d. mcnaught and a.wilkinson. blackwell scientic publications, oxford (1997). xml on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org>, 2006.

JIDEANI, V. A. E., Carotene Retention in Palm Oil by Mechanised and Traditional Process, *J. Fd. Sci. Technol.*, vol. 29, pp. 68-69, 1992.

KELLENS, M.; DE GREYT, W. Deodorization. In: O'Brien, R. D.; FARR, W.E.; WAN, P.J. (eds.), Introduction to fats and oil technology. 2nd edition. AOCS press, Champaign, Illinois, pp. 618, 2000.

KELLENS, M.; GIBON, V.; HENDRIX, M.; DE GREYT, W. Palm Oil Fractionation, *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, vol. 109, p.339 – 349, 2007.

KOHNO, Y.; EGAWA, Y.; ITOH, S.; NAGOAKA, S.; TAKAHASHI, M.; MUKAI, K. Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. *Biochimica and Biophysica Acta*, pp. 52 – 56, 1995.

KRISHNA, A. G. G.; PRASHANTH, P. A.; PRAGHASAM, A.; VENDRA, K. V. R.; KHANTOON, S. Unsaponifiable matter and oxidative stability of commercially produced Indian rice bran oils. *J. Food Lipids*, vol. 10, pp. 329 – 340, 2003.

KUNTOM, A. PhD Thesis – Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Belgium, 1982.

LONCIN, M., Palmöl und seine Verarbeitung für die Margarine-Industrie, *Fette Seifen Anstrichmittel*, 64, pp. 531 – 535, 1962.

MARINHO, H. A.; CASTRO, J. S. Carotenóides e Valor de Pró-Vitamina A em Frutos da Região Amazônica: Pajurá, Piquiá, Tucumã e Umari. Anais do Congresso Brasileiro de Fruticultura. Disponível em: http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cb/tecnologia_de_alimentos/301.htm. Acesso em Setembro de 2007.

MAYAMOL, P.N.; BALACHANDRAN, C.; SAMUEL, T.; SUNDARESAN, A.; ARUMUGHAN, C. Process Technology for the Production of Micronutrient Rich Red Palm Olein. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, vol. 84, pp. 587 – 596, 2007.

MARTIN, C. A.; MILINSK, M. C.; VISENTAINER, J. V.; MATSUSHITA, M.; DE-SOUZA, N. E. Trans fatty acid – forming processes in foods: a review, *A. Acad. Bras. Ciênc.* vol. 79, pp. 18 – 27 Rio de Janeiro, 2007.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos Latino Americanos de Nutricion.* vol. 57, pp. 34 – 47 2007.

MILLIGAN, E.D., TANDY, D.C. Distillation and Solvent Recovery, *J. Am. Oil. Chem. Soc.* vol. 51, pp. 347 – 350, 1974.

MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I.; JARÉN-GALÁN, M.; GARRIDO-FERNANDEZ, J. Competition between the process of biosynthesis and degradation of carotenoids during the drying and peppers. *J. Agri. Food Chem.*, vol. 42, pp. 645 – 648, 1994.

MPOC. Processamento do Óleo de Palma. Disponível na internet: Disponível em:

www.mpoc.org.my. Acesso em Janeiro de 2011.

NAGENDRAN, B.; UNNITHAN, U.R.; CHOO, Y.M.; SUNDRAM, K. Characteristics of red palm oil, a carotene and vitamin E – rich refined oil for food uses. *Food and Nutrition Bulletin*, vol. 21, pp. 189 – 194, 2000.

O'BRIEN, R. D. *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*, 1 ed., Technomic Publishing Company, 1998.

O'BRIEN, R. D. *Fats and Oils: An Overview*. Chapter 1: Introduction to fat and oils Technology. Second edition. AOCS press, Champaign, Illinois, pp. 618, 2000.

O'BRIEN, R. D. *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*, 2 ed., New York: CRC Press, 2004.

OSTLUND, R. E.; RACETTE, S. B.; STENSON, W. F. Effects of trace components of dietary fat on cholesterol metabolism: phytosterols, oxysterols, and squalene. *Nutrition Reviews*, vol. 60, pp. 349 – 359, 2002.

PETRAUSKAITÈ, V.; DE GREYT, W. F.; KELLENS, M. J. Physical Refining of Coconut Oil: Effect of Crude Oil Quality and Deodorization Conditions on Neutral Oil Loss. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 77, pp. 581 – 586, 2000.

PINTO, A. C.; GUARIERO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C., Biodiesel: An Overview. *Journal. Braz. Chem. Soc.*, vol. 16, pp. 1313 – 1330, 2005.

PIIRONEN, V.; LINDSAY, D. G.; MIETTINEN, T. A.; TOIVO, J.; LAMPI, A-M. Plant Sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *J. Scien. Food and Agric.*, vol. 80, pp. 939 – 966, 2000.

PRIETO GONZÁLEZ, M. M.; BADA, J.C.; GRACIANI, E. Temperature Effects on the

Deacidification of Mixtures of Sunflower Oil and Oleic Acid. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* vol. 84, pp. 473 – 478, 2007.

QUIJANO, J. A. T. Óleo de Palma: Um produto Natural. *Revista Óleos & Grãos*, Mar/Abr. pp. 19 – 23, 1997.

QUIJANO, J. A. T. Óleo de Palma. *Revista Óleos & Grãos*, Jul/Ago. p. 30-39, 1999.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Quim. Nova*, vol. 29, pp. 755 – 760, 2006.

RAMOS, L.P.; KUCEK, K.T.; DOMINGOS, A. K.; WILHEM, H. M. Um Projeto de Sustentabilidade Econômica e Sócio-ambiental para o Brasil. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, vol. 26, pp. 28 – 37, 2003.

REIS, M. de C.; LACHTER, E. R.; SAN GIL, R. A. da S. Transesterificação do Óleo de Palma e Soja Catalisada por Ácido. II Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, 2007.

REVISTA BIOEDIESEL, Biodiesel de dendê, uma alternativa ecológica. Disponível na internet: <http://www.revistabiodiesel.com.br/noticias/biodiesel-de-dende-uma-alternativa-ecologica>. Acesso em Janeiro de 2008.

SAAD, B.; LING, C. W.; JAB, M. S.; LIM, B. P.; ALI, A. S. M.; WAI, W. T. Determination of free fatty acids in palm oil samples using non-aqueous flow injection titrimetric method. *Food Chemistry*, vol. 102, pp. 1407 – 1414, 2006.

SAMBANTHAMURTHI, R.; SUNDRAM, K., TAN, Yew-Ai. Chemistry and biochemistry of palm oil, *Progress in Lipid Research*, vol. 39, 507 – 558, 2000.

SCHNEIDER, M. *Lipid Technologies and Applications*, Chapter 5: Phospholipids, Marcel Dekkers Inc., pp. 51 – 78, 1997.

SCHNEIDER, C. Chemistry and biology of vitamin E. *Molecular Nutrition & Food Research*, vol. 49, pp. 7 – 30, 2005.

SCRIMGEOUR, C. M.; HARWOOD, J. L. Fatty acid and lipid structure. In: GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L.; DIJKSTRA, A. J. *The Lipid Handbook*, USA: CRC Press, 3th edition, pp. 1–36, 2007.

SEN, C. K.; KHANNA, S.; ROY, S. Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. *Life Sciences*, vol. 78, pp. 2088 – 2098, 2006.

SILVA, S. R. da; MERCADANTE, A. Z. Composição de carotenóides de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*) in natura. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, vol. 22, pp. 254 – 258, 2002.

SIMPSON, K. L.; CHICHESTER, C. O. Metabolism and Nutritional Significance of Carotenoids. *Annual Review of Nutrition*, vol. 1, pp. 351 – 374, 1981.

SMITH, T. J. Squalene: potential chemopreventive agent. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, vol. 9, pp. 1841 – 1848, 2000.

SZABO SARKADI, D. Hydrolysis during Deodorization of Fatty Oils. Catalytic Action of Fatty Acids. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, vol. 36, pp. 143 – 145, 1959.

SZULCZEWSKA-REMI, A., NOGALA-KALUCKA, M., KWIATKOWSKI, J., LAMPART-SZCZAPA, E., RUDZINSKA, M., Preparation of tocopherol concentrate from red palm oil, *J. Food Lip*, vol. 12, pp. 112 – 123, 2004.

TUBEROSO, C. I. G.; KOWALCZYK, A.; SARRITZU, E.; CABRAS, P. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds or food use, *Food Chemistry*, vol. 103, pp. 1494 – 1501, 2007.

USDA, Indonesia: Palm oil Production Prospects Continue to Grow. Disponível na internet: http://www.pecad.fas.usda.gov/highlights/2007/12/Indonesia_palmoil/. Acesso em Fevereiro de 2011a.

USDA, World Vegetable Oil. Disponível na internet em: <http://www.gtz.de/de/dokumente/en-boonyaprateeprat-thai-oil-palm-2010.pdf>, Acesso em Fevereiro de 2011b.

VAN HOED, V., Quality assessment of the high value vegetable oils by characterization of minor components. Ghent, 2010. 326 pp. PhD Thesis – Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University – Belgium.

VERHÉ, R.; VERLEYEN, T.; VAN HOED, V.; DE GREYT, W. Influence of Refining of Vegetable oils on minor components. *J. Oil Palm Res.* Special Issue, pp. 168 – 179, 2006.

VIEIRA, T. M. F. S; REGISTANO, D; OETTERER, M. Uso do Óleo de Palma em Alimentos. *Boletim SBCTA*, vol. 31 (2), pp. 186 – 191, 1997.

WILLIAMS, K. A. Oils, Fats and Fatty Foods: Their Practical examination, 4 ed., J & A. Churchill LTD, LONDON, 1966.

WOERFEL, J. B. Soybean Oil Processing Byproducts and their Utilization. In: ERICKSON, D.R., Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization, Champaign: AOCS Books, pp. 306 – 313, 1995.

ZALIHA, O.; CHONG, C. L., CHEOW, C. S.; NORIZZAH, A. R.; KELLENS, M. J. Cristalization Properties of palm oil by dry fractionation, *Food Chemistry*, vol. 86, pp. 245 – 250, 2004.

ZSCHAU, W. Bleaching. Chapter 9 in: O'Brien, R. D., FARR, W.E. & WAN, P.J. (eds.),

Introduction to fats and oil technology. Second edition. AOCS press, Champaign, Illinois, pp. 618, 2000.

ZIN, R. B. M., Process Design in Degumming and Bleaching of Palm Oil. Malaysia, 2006. 239 pp. PhD Thesis – Center of Lipids Engineering and Applied Research – Instituti Teknologi Malaysia.

Capítulo 3. Steam Deacidification of Palm Oil

Klicia A. Sampaio¹, Roberta Ceriani², Simone M. Silva¹, Thiago Taham¹, and
Antonio J. A. Meirelles^{1*}

¹ Faculty of Food Engineering, University of Campinas (UNICAMP), Rua Monteiro
Lobato, 80, 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil

² Faculty of Applied Sciences, University of Campinas (UNICAMP), 13484-350, Limeira,
São Paulo, Brazil

Trabalho publicado na revista **Food and Bioproducts Processing** (2010), DOI:
10.1016/j.fbp.2010.11.012.

Keywords

Steam deacidification, Free fatty acids, Palm stearin, Palm olein, Neutral oil loss.

Abstract

This work presents the application of response surface methodology (RSM) to the study of the effects of three factors (temperature, percent stripping steam and the stearin/olein ratio) on the losses/transfer of fatty compounds during the steam deacidification of blends of palm oil fractions (stearin and olein) as model systems. The responses of interest were the final oil acidity and the loss of neutral oil (NOL). These experiments were unprecedented in terms of the monitoring and controlling of the process variables during the heating and stripping periods in a laboratory scale batch deodorizer. The results revealed that the oil composition was an important and statistically significant factor in the selection of more suitable processing variables, besides temperature and steam.

3.1 Introduction

Refining of palm oil is preferably performed by physical means (Gibon et al., 2007), since its high acidity can lead to excessive losses of neutral oil in case of the caustic refining process (Rossi et al., 2001). Steam deacidification is a mass transfer purification process based on the large difference in volatility between the neutral oil and the free fatty acids (FFA) at high temperatures and low pressures. Some papers found in the literature (Petrauskaitė et al., 2000; Ceriani and Meirelles, 2004) have provided evidence that these processing conditions also increase the occurrence of acylglycerol volatilization (mainly of monoacylglycerols, MAG and diacylglycerols, DAG). As highlighted by Prieto González et al. (2007a, 2007b), temperature is one of the most important parameters in the refining of edible oils, affecting the FFA content of the refined edible oil, the time required to complete the operation and the final quality of the oil.

Palm oil is unique in terms of its fatty acid composition, rich in palmitic acid (40.9 – 47.5 %), oleic acid (36.4 – 41.2 %) and linoleic acid (9.2 – 11.6 %). By fractionation, one

liquid fraction (palm olein, rich in unsaturated compounds) and one more solid fraction (palm stearin, rich in saturated compounds) can be obtained and used for different purposes in the food industry. Besides triacylglycerols (TAG) and FFA, crude palm oil also contains partial acylglycerols (0.21 % to 0.34 % of MAG and 5.3 % to 7.7 % of DAG) according to Gee (2007). Crop seasonality and fruit ripeness are responsible for these fluctuations in the composition of palm oil and its fractions (Basiron, 2005). Using a computational simulation tool, Ceriani and Meirelles (2004, 2006) found evidence that the effects of processing variables such as the temperature, percent of stripping steam and pressure on the volatility of the fatty compounds (acylglycerols and fatty acids), and consequently on the final oil acidity and neutral oil loss (NOL), depended on the fatty acid composition of the oil (more/less volatile). The authors estimated that the average values for DAG's and FFA relative volatility are at most 50 and 9000 higher than the TAG's volatility, respectively, for the processing conditions of steam deacidification. Based on these facts, the palm oil composition could be an independent variable in the study of steam deacidification by response surface methodology. In the factorial design, the different compositions of palm oil can be represented by varying the stearin/olein ratio.

The present work reports on the influences of the process variables on the losses of neutral oil and on the final oil acidity during the steam deacidification of palm oil, represented by model systems. The temperature, percent of live steam and stearin/olein ratio were selected as the independent variables in the factorial design. Each model system (total of five) was composed of different amounts of refined palm stearin and refined palm olein and commercial oleic acid.

According to Firestone (1999), the composition related to the main fatty acids of palm oil, oleic and palmitic acids, varies within the ranges of 36 – 44 % and 40 – 48 %, respectively. It is interesting to emphasize that by changing stearin/olein ratio a similar range of composition was covered. This work was unprecedented in terms of the monitoring and controlling of the main variables in the steam deacidification process carried out in a laboratory scale batch deodorizer.

3.2 Experimental Procedure

3.2.1 Material

Refined palm olein and stearin fractions were kindly supplied by Agropalma S/A, Amazon Company of Refinement, Brazil. Their initial acidities were 0.220 % and 0.193 % (expressed as oleic acid), respectively. Commercial oleic acid (Merck, USA) was added to adjust the acidity of each model system.

3.2.2 Methods

The palm oil fractions (olein and stearin) and the commercial fatty acid were analyzed by gas chromatography of the fatty acid methyl esters to determine their fatty acid compositions according to the AOCS official method (1 – 62) (AOCS, 1998). The fatty samples were prepared in the form of their methyl esters according to the official AOCS method (2 – 66) (AOCS, 1998). The analytical conditions were as follows: CGC Agilent 6850 GC System; DB – 23, Agilent (50 % cyanopropyl–methylpolysiloxane) column, 60 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m; helium as the carrier gas at a rate of 1.0 ml.min⁻¹; injection temperature of 250 °C; column temperature of 110 °C for 5min, 110 to 215 °C (rate of 5 °C·min⁻¹), 215 °C for 24 min; detector temperature of 280 °C. The fatty acid methyl esters were identified by comparison with external standards purchased from Nu Check Inc. (Elysian, IL) and quantified by internal normalization.

The triacylglycerols (TAG), diacylglycerols (DAG), and free fatty acids (FFA) for palm oil fractions (olein and stearin) and for the distillates obtained as a product of trials 13 and 14 were separated by size exclusion chromatography according to the AOCS official method Cd 11c–93 (AOCS, 1998). Samples were dissolved in tetrahydrofuran (THF) to a concentration of 1 %, and eluted using THF at a flow rate of 1 ml min⁻¹ in a size-exclusion high performance liquid chromatography system (Perkin Elmer 250), equipped with a refractive index detector (Sicon Analytic) and a size exclusion column (Jordi Gel DVB 300 mm $\times$ 7.8 mm, 500 Å and 100 Å).

In all the trials, samples of the deacidified model system and of the distillate (aqueous phase and oily phase) were analyzed. The water contents in the oily phase of the

distillate and in the deacidified oil were determined by Karl Fischer titration according to the AOCS method Ca 2e–84 (AOCS, 1998). The water content in the aqueous phase of the distillate was determined using the official method (2c – 25) of the AOCS (AOCS, 1998). The FFA content was determined by titration, and expressed as % oleic acid according to the IUPAC official method 2201 (IUPAC, 1979) for the liquid samples, and to the AOCS official method Ca 5a–40 (AOCS, 1998) for the solid samples. The acylglycerol concentration was determined by difference. In the present work, all measurements were performed at least in triplicate.

3.2.3 Deacidification Method

The steam deacidification experiments were carried out in a laboratory-scale batch deodorizer (Figure 3.2.3.1). The equipment design included some features depicted by Decap et al. (2004), but some relevant improvements were included. Different proportions of refined palm stearin and olein (Table 3.2.3.1) were blended, and oleic acid was added to obtain 1000 g of the model system with an initial acidity of 3.0 %. The batch deodorizer (3000 mL) was loaded with the model system (blend) and placed in an electric aluminum mantle with controlled and monitored temperature. The model system occupied about one third of the volume of the glass flask, and the oil layer was about 5.3 cm thick.

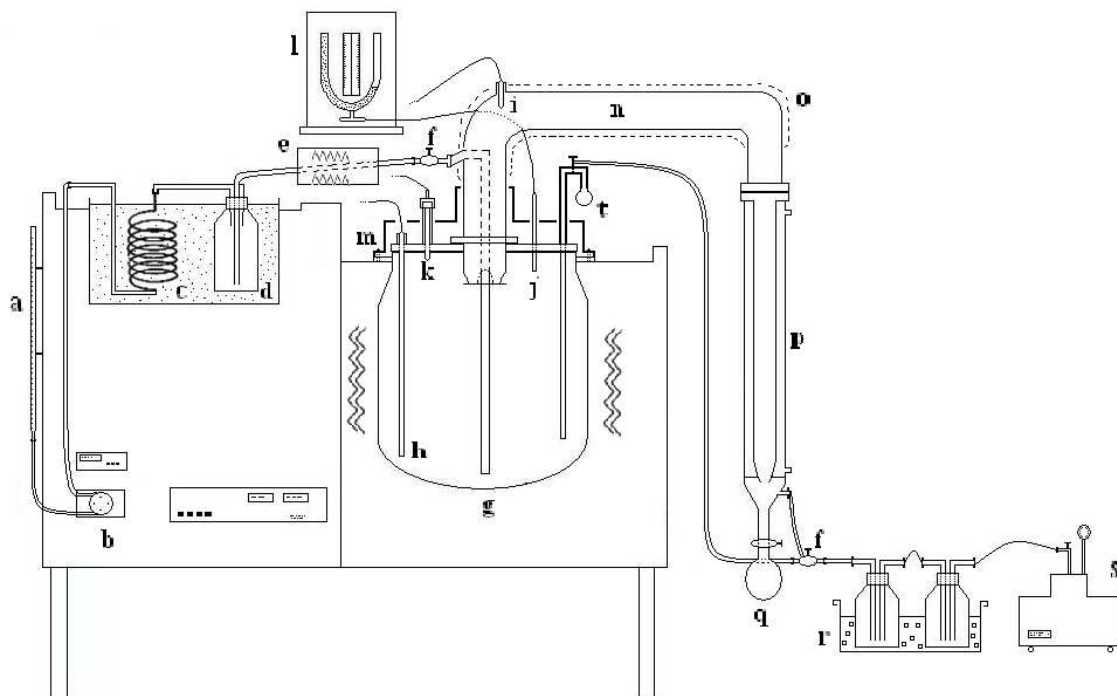


Figure 3.2.3.1. Scheme of the lab-scale batch deodorizer: **a.** burette; **b.** microperistaltic pump; **c.** heating glass coil; **d.** heating trap; **e.** ceramic jacket; **f.** three way valve; **g.** glass batch deodorizer; **h.** thermocouple 1 (T_o); **i.** thermocouple 2 (T_{ov}); **j.** thermocouple 3 (T_g); **k.** digital vacuum intensity meter; **l.** mercury column manometer; **m.** aluminum jacket; **n.** gas outlet; **o.** Kevlar insulation; **p.** glass condenser; **q.** distillate recovery; **r.** cooling trap; **s.** vacuum pump; **t.** glass sampler.

After degassing (with a three-way valve), the oil was heated under a very low absolute pressure (1 – 5 mmHg), which was provided by a vacuum pump (model 56, Kohl Bach, Brazil) connected to the condenser. Three thermocouples (Figure 3.2.3.1) placed inside the glass deodorizer flask, allowed for a precise control of the temperature. The first one was completely covered by the oil layer (3.5 cm from the bottom) and measured the oil temperature (T_o). The second one was placed 26.5 cm from the bottom, and measured the temperature of the gas phase (T_g), while the third thermocouple was placed at the outlet of volatiles (T_{ov}). Initially, all the thermocouples were used, and the three temperature profiles were measured at five minute intervals (trials 4 and 13 in Table 3.2.3.1). In the other experiments, the third thermocouple was replaced by a mercury column manometer (model

Table 3.2.3.1. Factorial design: coded variables, real variables, and experimental results.

Trial	Coded Variables			Real Variables			Oil Code	Responses				
	X ₁	X ₂	X ₃	T(°C)	%	Stearin/olein		Oil Acidity (%)		NOL (%)		
								Exp. ^a	Equation 3.4.1	Exp.	Equation 3.4.2	
1	-1	-1	-1	212.1	1.71	0.262/0.738	SOR02	2.46 ± 0.02	2.58	0.036	0.034	
2	1	-1	-1	247.9	1.71			0.68 ± 0.01	0.80	0.051	0.116	
3	-1	1	-1	212.1	5.29			1.21 ± 0.02	1.30	0.164	0.102	
4	1	1	-1	247.9	5.29			0.35 ± 0.01	0.34	0.286	0.303	
5	-1	-1	1	212.1	1.71	0.738/0.262	SOR04	2.16 ± 0.02	2.30	0.061	0.085	
6	1	-1	1	247.9	1.71			0.43 ± 0.02	0.52	0.148	0.168	
7	-1	1	1	212.1	5.29			1.13 ± 0.07	1.02	0.172	0.154	
8	1	1	1	247.9	5.29			0.10 ± 0.01	0.06	0.388	0.354	
9	-1.68	0	0	200.0	3.50	0.500/0.500	SOR03	2.45 ± 0.03	2.35	0.057	0.078	
10	1.68	0	0	260.0	3.50			0.11 ± 0.03	0.06	0.370	0.315	
11	0	-1.68	0	230.0	0.50			2.20 ± 0.02	1.97	0.158	0.090	
12	0	1.68	0	230.0	6.50			0.42 ± 0.02	0.51	0.250	0.304	
13	0	0	-1.68	230.0	3.50	0.100/0.900	SOR01	1.37 ± 0.01	1.09	0.073	0.063	
14	0	0	1.68	230.0	3.50	0.900/0.100	SOR05	0.75 ± 0.01	0.62	0.143	0.149	
15	0	0	0	230.0	3.50			0.74 ± 0.02	0.86	0.196	0.197	
16	0	0	0	230.0	3.50	0.500/0.500	SOR03	0.79 ± 0.01	0.86	0.185	0.197	
17	0	0	0	230.0	3.50			0.75 ± 0.02	0.86	0.169	0.197	
ARD ^b									16.10		23.91	

^a Values expressed as % of oleic acid.^b Calculated using Equation 3.3.1.

MCU–100, Salvicas, Brazil). In this way, the absolute pressure inside the deodorizer was measured in addition to the vacuum intensity (digital vacuum meter, model 5436, Huba Control CE, Switzerland). When the oil temperature reached the given value of the factorial design (Table 3.2.3.1), the flow rate of the stripping gas was started at the desired value.

The stripping gas injector was a 5-mm inlet diameter stainless steel tube, and was introduced into the oil layer as illustrated in Figure 3.2.3.1. The burette was filled with 50 ml of water (after degassing under vacuum). The steam injection was set by adjusting the water flow rate via a microperistaltic pump. Water was vaporized in a glass heating coil submerged in synthetic oil (Thermal Fluid – Paratherm NF, Brazil) at 90 °C and heated by electrical resistances placed in a ceramic jacket. To prevent fluctuations in the flow rate and the mechanical carry-over of water droplets, a heated glass trap was placed after the heating coil. It should be observed that the whole water and the steam live, after the microperistaltic pump, are under the same vacuum prevailing inside the deodorizer flask. In each experiment, the stripping time was fixed at 60 min.

As pointed out by Prieto González et al. (2007a), as the differences between the oil and gas temperatures increase, so the reflux of volatiles may increase the deacidification time, the amount of stripping gas required and the final free fatty acid content, what may compromise the final quality of the deacidified oil. In the present equipment, the top part of the deodorizer was protected by an aluminum jacket to prevent refluxing of the volatiles and the gas outlet was covered with Kevlar insulation. The vapor phase (distillate) leaving the batch deodorizer was condensed by indirect contact with cold water, collected in a glass vessel, weighed, separated into the component oily and aqueous phases, and stored in a freezer until further analysis.

One important feature of this equipment was the sampler, which allowed for the removal of small samples of the model system inside the deodorizer at any time during the deacidification process, under reduced pressure. In the present work, one sample was removed at the exact moment the stripping step ended, and was rapidly cooled by indirect contact with cold water, avoiding possible reactions (hydrolysis of TAG, for example) during the cooling period of the deacidified oil inside the equipment. This sample was weighed and stored in a freezer until further analysis. The deacidified oil was weighed to allow for the calculation of NOL by difference. Mass balances guaranteed the accuracy of

the results.

3.3 Experimental Design

Experiments were carried out using a 2^3 full-factorial design with three central points to estimate the reproducibility of the trials (Box and Hunter, 1978). The variables selected were temperature, percent of steam and the palm stearin/olein ratio. The goal of the present work was to investigate the effects of changes in the volatility of the model system in the two responses of interest (oil acidity and neutral oil loss). For this purpose, broad ranges of the independent variables were considered, as shown in Table 3.2.3.1, with no intention to deacidify the model system strictly according to the standards of commercial edible oil refining. Note that it was necessary to estimate five different oil compositions with different stearin/olein ratios (SOR01 – 0.10; SOR02 – 0.262; SOR03 – 0.5; SOR04 – 0.738; SOR05 – 0.9) to cover all the combinations of the coded variable X_3 .

The experimental results were analyzed using the software Statistica® (Statsoft, v.5.5) to establish the effects of the process variables on the responses of interest. Surfaces were then built using the models for the statistically significant variables.

To test the predictive capacity of the statistical models, the average relative deviations (ARD) were calculated according to Equation 3.3.1:

$$ARD (\%) = 100 \times \frac{\sum_n (|Y_{\text{exp}} - Y_{\text{est}}| / Y_{\text{exp}})_n}{N} \quad (3.3.1)$$

where Y is the response, n the number of trials, N total number of trials, and the subscripts “exp” and “est” refer to the values obtained experimentally and by estimation using the RSM models, respectively.

As a further analysis, an attempt was made to verify the occurrence of hydrolysis of the TAG by collecting samples after the cooling of the deacidified oil inside the deodorizer (between 3h and 4h after the end of the experiment).

3.4 Results and Discussion

The fatty acid profile of the refined palm oil fractions (palm stearin and palm olein) and the commercial oleic acid are shown in Table 3.4.1. The refined palm stearin and palm olein were essentially composed of TAG (93.11 % and 92.04 %, respectively), although relevant levels of partial acylglycerols (DAG) were also detected (6.68 % and 7.77 %, respectively). No monoacylglycerols were present in either of the fractions, which is in agreement with previous results (Gee, 2007).

Table 3.4.1. Fatty acid compositions of palm olein, palm stearin, and oleic acid.

FA (abbreviation)	Palm Olein		Palm Stearin		Oleic acid	
	Mass (%)	Mole (%)	Mass (%)	Mole (%)	Mass (%)	Mole (%)
C6:0 (Co)	0.13	0.30	0.13	0.30	---	---
C8:0 (Cp)	0.04	0.08	0.06	0.11	---	---
C10:0 (C)	0.04	0.06	0.06	0.09	---	---
C12:0 (L)	0.50	0.68	0.87	1.16	0.23	0.32
C14:0 (M)	0.92	1.09	1.22	1.43	0.38	0.47
C16:0 (P)	36.84	38.87	46.14	48.14	6.41	7.00
C16:1 (Po)	0.16	0.17	0.13	0.14	0.1	0.11
C18:0 (S)	4.77	4.53	5.07	4.76	1.08	1.06
C18:1 (O)	44.51	42.64	36.03	34.12	75.74	75.05
C18:2 (Li)	11.12	10.73	9.41	8.98	15.53	15.50
C18:3 (Ln)	0.24	0.23	0.20	0.19	0.15	0.15
C20:0 (A)	0.39	0.34	0.38	0.33	0.09	0.08
C20:1 (G)	0.16	0.14	0.12	0.10	0.29	0.26
C22:0 (Be)	0.08	0.06	0.09	0.07	---	---
C24:0 (Lg)	0.10	0.07	0.09	0.07	---	---

Table 3.4.2 shows the estimated compositions of palm stearin, palm olein and each model system in terms of their TAG and DAG, following the methodologies suggested by Ceriani and Meirelles (2008) based on statistical procedures that consider the lipase hydrolysis characteristics. It is important to emphasize that by changing stearin/olein ratio, the composition of oleic and palmitic acids in the model systems varied within the ranges of 37 – 44 % and 38 – 45 %, respectively, values that are similar to those reported by Firestone (1999) for fatty acid composition of palm oil.

Table 3.4.2. Composition of the acylglycerol fractions and free fatty acids of the palm stearin, palm olein and the model systems (mass %) ^a.

Compounds ^b	M.W. ^d	SOR	SOR	SOR	SOR	SOR	Stearin	Olein
TAG		01	02	03	04	05		
PLP	751.23	0.00	0.00	0.00	0.52	0.63	0.72	0.00
LOP	777.27	0.79	0.83	0.90	0.96	1.01	1.07	0.77
PMP	779.29	0.00	0.00	0.49	0.73	0.88	1.01	0.00
MLiP	803.31	0.68	0.69	0.71	0.72	0.72	0.75	0.69
MOP	805.32	1.39	1.42	1.44	1.46	1.46	1.52	1.42
PPP	807.34	2.36	3.74	5.77	7.78	9.12	10.28	1.55
PLnP	829.35	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.46
PLiP	831.36	6.39	6.43	6.45	6.47	6.46	6.67	6.53
POP	833.38	22.46	22.55	22.56	22.51	22.42	23.12	22.99
PPS	835.39	0.80	1.20	1.80	2.39	2.78	3.12	0.56
PLiO	857.40	10.51	10.21	9.70	9.15	8.76	8.81	10.99
OOP	859.42	22.04	21.29	20.06	18.78	17.86	17.89	23.09
POS	861.43	5.38	5.27	5.08	4.87	4.72	4.78	5.59
SSP	863.45	0.00	0.00	0.00	0.00	0.47	0.54	0.00
LiLiO	881.42	1.05	1.02	0.97	0.91	0.88	0.88	1.10
OLiO	883.44	4.01	3.86	3.63	3.39	3.20	3.20	4.21
LiLiP	883.44	1.62	1.58	1.52	1.44	1.39	1.36	1.69
OOO	885.45	6.34	6.07	5.63	5.18	4.85	4.82	6.68
OOS	887.47	2.79	2.64	2.41	2.16	1.99	1.96	2.95
POA	889.49	0.74	0.71	0.67	0.62	0.60	0.59	0.78
DAG								
LP	512.81	0.00	0.00	0.04	0.05	0.06	0.05	0.00
MP	540.87	0.06	0.07	0.08	0.09	0.10	0.10	0.06
MO	566.90	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
PP	568.92	1.06	1.16	1.31	1.44	1.52	1.50	1.07
LiP	592.94	0.78	0.76	0.71	0.67	0.64	0.63	0.80
OP	594.96	3.12	2.99	2.78	2.60	2.47	2.43	3.16
PS	596.97	0.20	0.22	0.25	0.27	0.29	0.28	0.21
LiLi	616.96	0.08	0.07	0.07	0.06	0.06	0.06	0.08
LiO	618.98	0.61	0.57	0.52	0.47	0.44	0.43	0.61
OO	621.00	1.40	1.31	1.17	1.05	0.97	0.95	1.42
OS	623.01	0.32	0.30	0.27	0.24	0.22	0.22	0.33
FFA								
C16:0	256.43	0.19	----	----	----	----	0.11	0.07
C18:2	280.45	0.47	----	----	----	----	0.02	0.02
C18:1	282.47	2.30	----	----	----	----	0.08	0.09
C18:0	284.49	0.03	----	----	----	----	0.01	0.01
IV ^c		55.07	53.36	50.85	48.35	46.65	45.61	56.14

^a Triacylglycerols plus diacylglycerols sum up to 97 % (w/w) for the model systems, 99.78 (w/w) for stearin and 99.81 for olein. Free fatty acids represent 3 % (w/w) for the model systems, 0.22 (w/w) for stearin and 0.19 (w/w) for olein; ^b Isomer set including different TAG, but all with the same number of FA carbons and double bonds; ^c Iodine Value (IV). The IV range for palm oil and its fractions is 46–56 (Firestone, 1999).

^d Molecular Weight (g/gmol). Groups with total TAG concentrations below 0.05% were ignored. For other abbreviations, see Table 3.4.1.

The experimental results shown in Table 3.2.3.1 revealed that the final oil acidity and NOL were a function of the three variables studied. Comparing trials 9 and 10 (X_1 varying from $-\alpha$ to $+\alpha$), one can see the effect of increasing temperature (T) from 200 °C to 260 °C on the decrease in the final oil acidity and on the increase in NOL, due to volatilization of fatty compounds at higher temperatures. A comparison of trials 11 and 12 (X_2 varying from $-\alpha$ to $+\alpha$) showed that an increase in the percent of stripping steam from 0.50 % to 6.5 %, promoted a decrease in the final oil acidity and an increase in the neutral oil loss, since it reduced the required partial pressure of the volatiles. The positive effect of increasing the stearin/olein ratio from 0.1 to 0.9 (X_3 varying from $-\alpha$ to $+\alpha$) on the removal of FFA and on the NOL can be seen by comparing trials 13 and 14.

To better show this influence, the distillates formed during experiments 13 and 14 were analytically analyzed for their acylglycerol fractions and acidity. Note that these two trials represent the axial points of the factorial design for the stearin/olein ratio, i.e., trial 13 has a stearin/olein ratio of 0.1/0.9 while trial 14 has a stearin/olein ratio of 0.9/0.1. The chromatography analysis revealed that the distillate of trial 13 presented a higher concentration of DAG and FFA (0.8% and 97.2 %, respectively), in comparison with the distillate of trial 14 (0.7 % and 97 %, respectively). This fact occurred mainly as a consequence of the higher presence of components with intermediate volatility, namely diacylglycerols (DAG's), in trial 13. As one can see, the DAG's concentration in olein (7.77 %) is higher compared with stearin (6.68 %), which increases the concentration of intermediate volatility components in the model system of trial 13.

On the other hand, the concentration of TAG in the distillates was 2.0 % and 2.3 %, respectively, for trials 13 and 14. In this case, the increase in the stearin/olein ratio increased the concentration of the saturated and lower carbon chain TAG's (PLP, PMP, SSP, PPP and PPS), whose volatility is slightly higher than the volatility of the TAGs containing C_{18} fatty acids (OOO, OOS, OLiO, LiLiO). By far, the most relevant effect was exerted by the oil temperature (T_o , thermocouple 1).

Figure 3.4.1 shows the profiles of the three temperatures measured by the thermocouples during steam deacidification trials 4 ($T = 247.9$ °C) and 13 ($T = 230$ °C). Thermocouples 1, 2, and 3 (Figure 3.2.3.1) quantified, respectively, the oil temperature (T_o), the temperature of the gas phase (T_g) and the temperature of the outlet of volatiles

(T_{ov}).

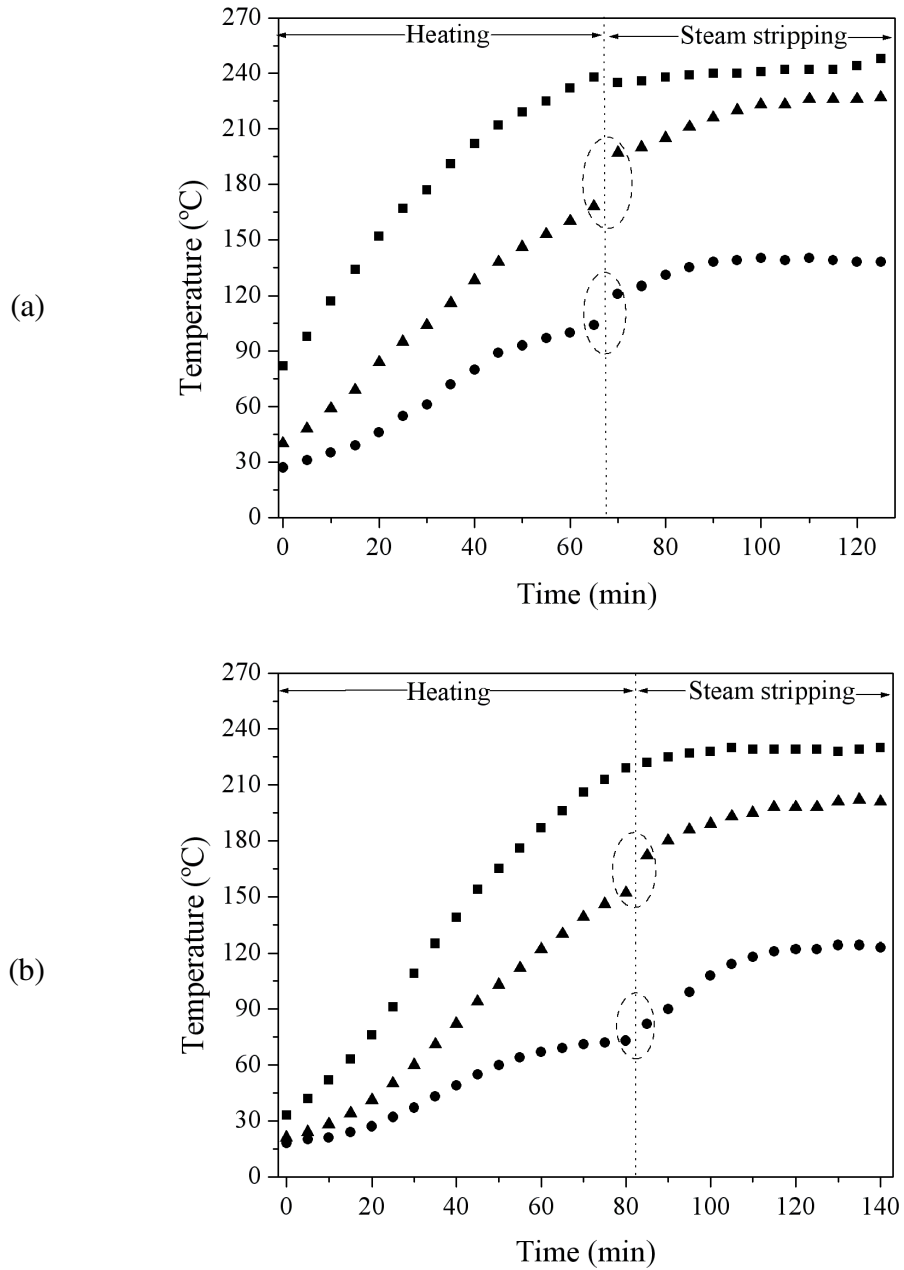


Figure 3.4.1. Temperature profile for (a) trial 4 at 247.9 °C and (b) trial 13 at 230 °C: T_o

(■), T_g (▲) and T_{ov} (●).

It can be observed in Figure 3.4.1 that the oil temperature (T_o) increased steadily during the heating period and remained practically constant during the stripping period, with only slight variations. As pointed out by Ceriani and Meirelles (2004), small amounts

of water that dissolve in the oil are capable of maintaining the oil temperature at an almost invariant value. The temperatures of the gas phase (T_g) and the outlet of volatiles (T_{ov}) increased steadily during the heating period, but showed an abrupt increase just after the start of the injection of stripping steam, followed by gradual increases of their values at different rates. These two factors indicated that the flow of stripping steam plus volatiles caused heating of the volume of the equipment that was not filled with the liquid, and that part of the heat supplied to the system was used in the vaporization process. Note also that in trial 4, T_g was closer to T_o in the stripping period than it was in trial 13, due to the larger amounts of stripping steam injected in this case (5.29 % for trial 4 and 3.50 % for trial 13).

As pointed out by Prieto González et al. (2007a), as the difference between the oil temperature (T_o) and the temperatures above the oil layer (T_g and T_{ov}) reduces, reflux can be avoided and the deacidification ratio increased. The reflux process causes condensation of volatilized compounds coming from the oil, resulting in a longer deacidification process time. Trials 15, 16 and 17 reproduced the repeatability of the central point, and their results will be discussed considering the facts highlighted by Prieto González et al. (2007a). Looking at Table 3.2.3.1, one can see that the final oil acidity for trial 16 was 0.05 % higher than the values obtained for trials 15 and 17 (0.74 % and 0.75 %, respectively). This was probably caused by a partial condensation of volatilized fatty acids occurring in the free volume above the oil layer and/or at the outlet of volatiles. As can be seen in Figure 3.4.2, the difference ($T_o - T_{ov}$) was higher for trial 16, and thus the reflux was probably more intense in this case. It is of note that the equipment used only had an aluminum jacket that covered the upper part of the glass flask (Figure 3.2.3.1). Overheating of the outlet of volatiles would be necessary to decrease the difference ($T_o - T_{ov}$) and avoid reflux. As highlighted by Prieto González et al. (2007a), the difference between the temperatures of the oil layer and of the gas is a consequence of the high vacuum, which affects the heat transfer mechanisms by convection and conduction, and of the desirable saving of energy in the cooling of the exiting gases (prior cooling by loss of heat in the deodorizer head).

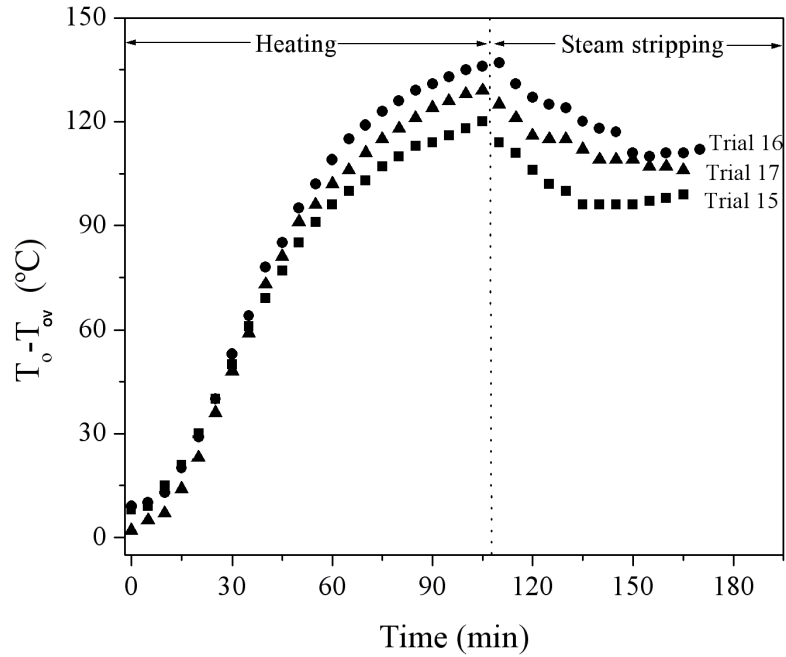


Figure 3.4.2. Differences between the oil temperature (T_o) and the outlet of volatiles temperature (T_{ov}) for trials 15 (■), 16 (●) and 17 (▲).

The statistical analysis of the experimental results shown in Table 3.2.3.1 revealed significant effects ($p = 0.95$) for the temperature, percent stripping of steam and the stearin/olein ratio in the model system. Equations 3.4.1 and 3.4.2 represent the oil acidity and the loss of neutral oil, respectively, as a function of the statistically significant variables.

$$\begin{aligned} \text{Oil Acidity (\%)} = & 0.855 - 0.684 \cdot X_1 - 0.435 \cdot X_2 - 0.14 \cdot X_3 \\ & + 0.124 \cdot X_1^2 + 0.135 \cdot X_2^2 + 0.203 \cdot X_1 \cdot X_2 \end{aligned} \quad (3.4.1)$$

$$\begin{aligned} \text{NOL (\%)} = & 0.1967 + 0.0707 \cdot X_1 + 0.0637 \cdot X_2 + 0.0256 \cdot X_3 \\ & - 0.0321 \cdot X_3^2 + 0.0296 \cdot X_1 \cdot X_2 \end{aligned} \quad (3.4.2)$$

where X_1 , X_2 and X_3 are the coded variables for T ($^{\circ}\text{C}$), % stripping steam and the stearin/olein ratio, respectively.

The statistical models revealed that the effect of temperature was predominant in both responses, followed by the percent of stripping steam and the interaction between

these two processing variables. Nevertheless, it should be emphasized that the influence of the stearin/olein ratio used in the model systems was also statistically significant.

This fact highlights once again the importance of considering the variability in the oil composition as an input in the selection of the best processing conditions. Previous studies using simulation tools (Ceriani and Meirelles, 2004; 2006) have already indicated a correlation between composition and oil quality. Nevertheless, this is the first time that an experimental work especially designed for this purpose was able to generate an equation to represent such an influence.

Table 3.4.3 shows the analysis of variance (ANOVA) for these responses at 95.0 % of confidence. The two responses presented high correlation coefficients. In addition, the F-test showed that the models were reliable, since the calculated F values were at least four times greater than the listed values (Box and Hunter, 1978).

Table 3.4.3. Analysis of variance (ANOVA).

Source of variation	Oil Acidity (%)				Neutral Oil Loss			
	SS ^a	MS ^b	DF ^c	F-value ^d	SS ^a	MS ^b	DF ^c	F-value ^e
Regression	9.9032	1.6505	6	59.371	0.153	0.0306	5	14.571
Residual	0.2781	0.0278	10		0.023	0.0021	11	
Total	10.1813		16		0.176		16	
R ²	0.973				0.869			

^a Sum of squares.

^b Mean squares.

^c Degrees of freedom.

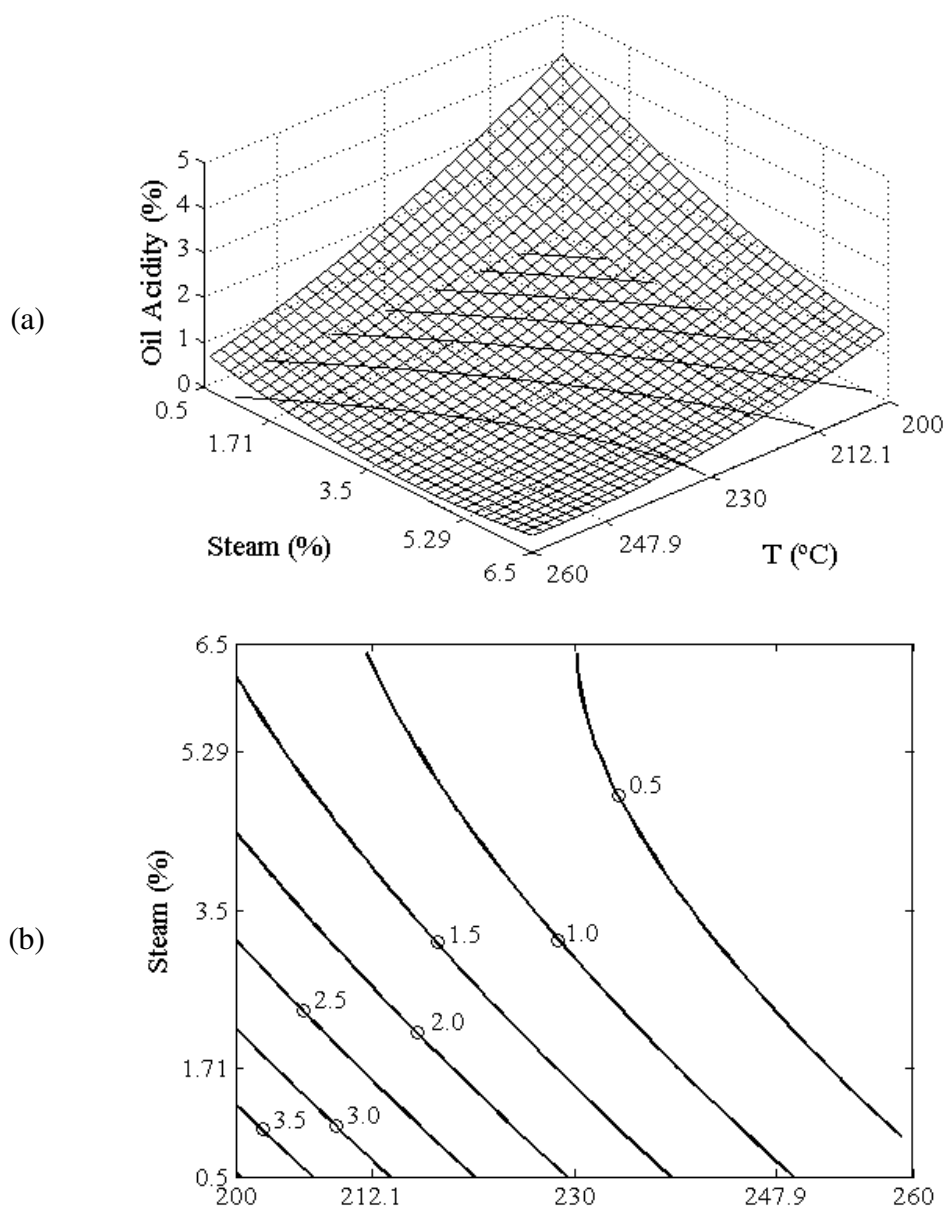
^d F_{0.95,6,10} = 3.22.

^e F_{0.95,5,11} = 3.20.

Using these models it was possible to draw surfaces that represented the influence of different temperatures, steam percentages and oil compositions on the final oil acidity value (Figure 3.4.3 (a), (b)) and neutral oil loss (Figure 3.4.3 (c), (d)).

Figure 3.4.3 (a) and (b) show that by increasing the process temperature and percent stripping steam, a significant reduction in the final oil acidity can be achieved, providing evidence of the synergetic effect between these variables. Figure 3.4.3 (c) and (d) show that, in general, the neutral oil loss was low for the range of variables studied. It is

important to remember that the model systems used were composed of refined stearin and refined olein, containing no monoacylglycerols, and thus in real systems, higher values may be obtained for neutral oil loss. As pointed out by Gee (2007), the concentration of monoacylglycerols in crude palm oil (0.21 – 0.34 %) is reduced after refining, but diacylglycerols are not strongly affected by the refining processes.



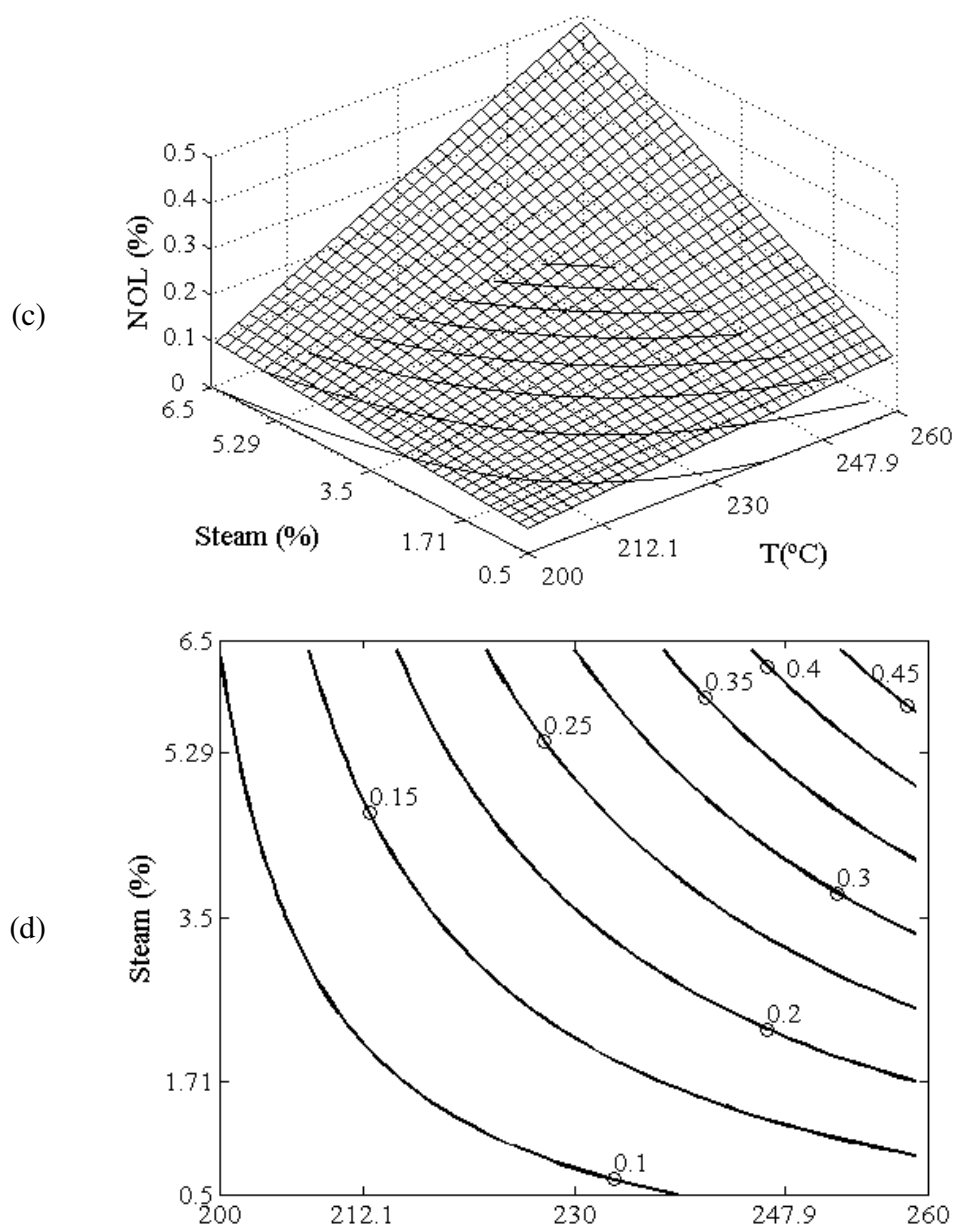


Figure 3.4.3. Response surface and contour curves as a function of temperature ($^{\circ}\text{C}$) and steam (%) for (a and b) final oil acidity and (c and d) neutral oil loss.

To finalize this work, the occurrence of the hydrolysis of TAG during the cooling of the oil batch after the experiments was investigated. The refined oil batches were removed 3 – 4h after heating ceased and the equipment was allowed to cool down. The objective was to show that if the hydrolysis reaction occurred during cooling, it probably also occurred during the stripping period. The increase in oil acidity ranged from 0.009 % to 0.166 %,

expressed as oleic acid. Although these values were low, they could be relevant in relation to the final oil acidity. For example, for trial 8, the final oil acidity at the end of the heating period was 0.10 %, and after a period of 3h – 4h, in which the temperature decreased from 247.9 °C to 90 °C, the oil acidity increased to 0.266 %. In addition, an important variation was found for trial 2, for example, from 0.68 % to 0.813 %.

3.5 Conclusion

Besides the positive effects of temperature and percent of stripping steam, the results highlighted the fact that in terms of its volatility, the effect of the composition of the model system was also statistically significant. In fact, this corroborated with other findings achieved via computational simulation (Ceriani and Meirelles, 2004; 2006). This work also provided evidence of the need for maintenance of the gas temperature close to that of the oil, in order to reduce reflux inside the deodorizer.

Nomenclature

ARD	Average Relative Deviation (%)
DAG	Diacylglycerols
FFA	Free Fatty Acids
MAG	Monoacylglycerols
n	Index for number of trials
N	Total number of trials
NOL	Neutral Oil Loss (%)
RSM	Response Surface Methodology
TAG	Triacylglycerols
X ₁	temperature (°C)
X ₂	steam percentage (%)
X ₃	stearin/olein ratio
Y _{exp}	Experimental response (%)
Y _{est}	Estimated response (%)

Acknowledgments

The authors wish to acknowledge FAPESP (05/02079–7, 06/60053–7, 08/56258–8) and CNPq (303649/2004–6, 471880/2007–8) for their financial support, and Agropalma S/A, Companhia Refinadora da Amazônia, for kindly supplying the samples of palm olein and palm stearin.

References

A.O.C.S., Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 1998, AOCS Press: Champaign, USA.

Basiron, Y., 2005, Palm Oil, in Bailey's industrial oil & fat products, 6th end. (John Wiley & Sons, New York, USA), vol 3, pp. 333–419.

Box, G.E.P., Hunter, J.S., 1978, Statistic for experiments – An introduction to design, data analysis and model building, John Wiley & Sons, New York, USA.

Ceriani, R. and Meirelles, A.J. A., 2004, Simulation of Batch Physical Refining and Deodorization Processes. J Am Oil Chem Soc, 81:305–312.

Ceriani, R. and Meirelles, A.J.A., 2008, Optimization of the Physical Refining of Sunflower Oil Concerning the Final Contents of trans Fatty Acids. Industrial & Engineering Chemistry Research, 47:681–692.

Decap, P., Braipson-Danthine, S., Vanbrabant, B., De Greyt, W. and Deroanne, C., 2004, Comparison of steam and Nitrogen in the Physical Deacidification of soybean oil. J Am Oil Chem Soc, 81:611–617.

Firestone, D., 1999, Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats and Waxes, AOCS Press: Champaign, USA, pp. 70-72.

Gee, P.T., 2007, Analytical characteristics of crude and refined palm oil fractions. *Eur J Lipid Sci Technol*, 109:373–379.

Gibon, V., De Greyt, W. and Kellens, M., 2007, Palm oil refining. *Eur J Lipid Sci Technol*, 109:315-335.

IUPAC, 1979, Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, 1979, 6th end, Pergamon Press, (Part 1, sections I and II).

Petrauskaitė, V., De Greyt, W. and Kellens, M. J., 2000, Physical Refining of Coconut Oil: Effect of Crude Oil Quality and Deodorization Conditions on Neutral Oil Loss. *J Am Oil Chem Soc*, 77:581–586.

Prieto González, M. M., Bada, J. C. and Graciani, E., 2007a, Temperature Effects on the Deacidification of Mixtures of Sunflower Oil and Oleic Acid. *J Am Oil Chem Soc*, 84:473–478.

Prieto González, M. M., Bada, J. C., León, M. and Graciani, E., 2007b, Optimization of deacidification of mixtures of sunflower oil and oleic acid in continuous process. *J Am Oil Chem Soc*, 84:479–487.

Rossi, M., Gianazza, M., Alamprese, C. and Stang, F., 2001, The Effects of Bleaching and Physical Refining on Color and Minor Components of Palm Oil. *J Am Oil Chem Soc*, 78:1051–1055.

Capítulo 4. Thermal Degradation Kinetics of Carotenoids in Palm Oil

Klicia A. Sampaio¹, Jose V. Ayala², Simone M. Silva¹, Roberta Ceriani³,
Roland Verhé⁴ and Antonio J. A. Meirelles^{1*}

¹ Faculty of Food Engineering, University of Campinas (UNICAMP), Rua Monteiro
Lobato, 80, 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil (tomze@fea.unicamp.br)*

² Desmet Ballestra, R & D Center, 1935, Zaventem, Belgium

³ Faculty of Chemical Engineering, University of Campinas (UNICAMP), Avenida Albert
Einstein, 500, 13083-852, Campinas, São Paulo, Brazil

⁴ Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University (UGENT), Coupure Links, 653,
9000, Ghent – Belgium

Trabalho submetido à revista **Journal of the American Oil Chemists' Society**
(**JAOCs**), ISSN: 0003-021X.

Keywords

Carotene, Activation Energy, Reaction Order, Heat Treatment, Vegetable Oil.

Abstract

Information on the kinetics of reactions occurring in food systems is important for predicting the changes of the corresponding components during food processing. In fact, such information is particularly relevant for evaluation losses of nutraceutical and antioxidant components. But, the complex nature of food systems, due to the presence of several compounds that may act as co-oxidants or may have protective effect, can make the correct understanding of those kinetic behaviors a difficult task. Thus, highlights the importance of investigating reactions kinetics in the real system of interest. In the present study, a detailed study was performed for carotene thermal degradation in palm oil at four temperatures ranging from 170 °C to 230 °C. The heating process was carried out with injection of nitrogen and the samples were collected every 20 min during a total heating period of 140 min. HPLC-DAD analysis was conducted to monitor the carotenoids variations over the heating time at each temperature. The experimental data were then compared to literature data concerning carotenoids thermal degradation. The thermal degradation kinetics of carotenoids in palm oil followed an order superior to 1. The dependence of constant rates with temperature obeyed Arrhenius relationship. The activation energy for the carotenoids thermal degradation in palm oil was found to be 125.9 kJ·mol⁻¹.

4.1 Introduction

Palm oil is one of the major oils traded in the global edible oils and fats market and today it is found in one out of every ten food products worldwide. One of the unique characteristics of palm oil is its high content of carotenoids and tocopherols. Carotenoids, which impart the distinctive orange-red color to palm oil, together with tocopherols, contribute to the stability and nutritional value of palm oil. The concentration of carotenes

in palm oil can range from 500 to 1,500 ppm, depending on the species of the palm fruit from which the oil is obtained. The major carotenoids of palm oil are α - and β -carotenes, which constitute about 90 % of the total carotenoids [1].

As carotenoids are highly unsaturated molecules, comprising many conjugated double bonds, they are very susceptible to degradation during processing and storage. The degradation usually occurs as a result of exposure to high temperature, light, or pro-oxidant molecules [2]. Most of the carotenoids in palm oil are destroyed during the conventional refining process, giving the light-colored oil required by consumers.

Accurate knowledge of the kinetic parameters, degradation rate constant and activation energy are essential to predict quantitatively the quality changes that occur during thermal treatment. Optimization of thermal process relies on appropriate degradation kinetic models. Several researchers have evaluated the kinetics of carotenoids in oil model system, fruits, and vegetables during thermal processing and found it to follow first order reaction kinetics [3 – 5].

In palm oil and its fractions, which are naturally rich in antioxidants such as tocopherols, the most common studies are dedicated to investigate only the changes in the carotenoids content during the deodorization step [1, 6], not taking into account the determination of the kinetics parameters. However, when studying the degradation kinetics of β -carotene and lutein in oils during heating treatment Achir et al. [7] observed that an equation with order superior to 1 appears to be the best one to describe the disappearance of β -carotene in palm olein. The mentioned differences show how complex is the study of carotene degradation and how much these data are hard to compare because of the experimental differences and sometimes the lack of detailed information on the food system being investigated.

In the present study, the carotenoid degradation kinetics was investigated for bleached palm oil. Degradation reactions were monitored at high temperatures (170 – 230 °C) for a period of 140 min. Thus, samples were collected every 20 min and analyzed by HPLC-DAD analysis. Following the study, the obtained kinetic data were then used to predict some literature data related to carotene degradation in palm oil, which are reported by Jideani [8] and Loncin [9]. The authors performed experiments using coincident temperatures (180 and 200 °C) making possible the comparison of the data.

4.2 Material and Method

4.2.1 Palm Oil

Crude palm oil (CPO) was kindly supplied by Agropalma S/A, Amazon Refining Company, Brazil. The oil contains 50.8 % saturated fatty acids, 39.3 % monounsaturated fatty acids and 9.9 % polyunsaturated fatty acids (supplier's data). It was stored in a dark place for a period of 2 months before starting the experiments.

4.2.2 Pre-treatment – Degumming and Silica Treatment

In order to purify the oil with the least possible damage to the nutraceutical compounds, and to avoid secondary reactions with impurities such as phospholipids, and metal traces, crude palm oil was submitted to a pre-treatment step which included degumming and silica treatment. Thus, the oil was heated to 70 °C, and 0.3 % (w/w) of citric acid solution (30 % w/w) together with 0.2 % (w/w) of deionized water were added under high-shear mixing (Ultra Turax homogeneizer at 16,000 rpm for 30 sec). Then, 1 % (w/w) of Trysil (Grace, Belgium) was added in order to act as an adsorptive medium to remove traces of metal complexes, such as iron and copper, pigments, phosphatides, and oxidation products. The mixture was kept for 30 min at 85 °C under constant agitation. The mixture was then stirred under the vacuum for additional 30 min at 95 °C in order to remove moisture. Finally, the silica and the adsorbed components were separated from the oil by filtration through a Büchner filter.

4.2.3 Thermal Treatment

The thermal degradation kinetics was studied by keeping the pre-treated palm oil at selected constant temperatures (170 °C, 190 °C, 210 °C, and 230 °C). The experiments were carried out in the pilot plant of Desmet Ballestra – Belgium. For each experiment, the pilot plant was loaded with approximately 7 kg of palm oil. Initially, vacuum was applied to remove all the oxygen. Then, the oil was heated until the desired temperature. During the heating process, nitrogen was injected into the oil to keep the temperature distribution as

homogeneous as possible, and to avoid the carotene oxidation by the action of oxygen. The pressure of the system was kept between 1.2 and 1.5 bars in order to reduce the possibility of volatilization by addition of nitrogen into the oil. When the oil reached the desired temperature the first sample was collected, which is considered the initial time (0 min). Analyses of samples taken at zero time may provide information on the changes produced during the previous heating period. After that, samples were taken out of the pilot plant every 20 min during a total heating period of 140 min. At the end of the thermal treatment, the collected samples were cooled down in a water bath. Each sample was stored in amber sealed recipients (100 ml) with nitrogen and kept frozen (-18 °C) until analyzed.

4.2.4 Tocols and Carotenoids Analysis

The method used for the analysis of carotene and tocols was adapted from a method previously optimized by Silva et al. [10]. It was used a Shimadzu equipment series LC-20AT instrument (Japan) equipped with a quaternary pump, an autosampler (SIL-20A), a degasser, a SPD-M20A spectrophotometric detector model (Photo Diode Array Detector - PDA), which was set at 455 nm, and a fluorescence detector RF-10AXL, which was set at 290 nm of excitation and 330 nm of emission. The chromatographic separation was achieved at 20 °C using a normal-phase column Lichrospher (Merck, 250 × 4.6 mm i.d.; 5 µm particle size) with a guard column (10 × 4.6 mm) purchased from Merck (Germany). The mobile phase was composed of n-hexane/propanol-2 (99.5/0.5 vol/vol) and was employed at a flow rate of 1 ml/min under isocratic conditions.

The chromatographic run time for each analysis was 35 min for tocopherols analysis. Despite the fact that the analysis of carotenoids and tocopherols were carried out simultaneously in the samples, calibration curves were performed separately due to a larger facility to prepare the standards separately. For the calibration curve of the carotenoids, a 5 min run using the same mobile phase and flow rate described previously was required. Carotenoids and tocopherol concentration were based on standard curves plotted using the following standards: β-carotene (FLUKA, Germany) and α-tocopherol, β-tocopherol, γ-tocopherol, δ-tocopherol (Calbiochem, USA). The tocotrienol isomer contents were calculated based on the standard peak areas of their related tocopherol analogs.

4.2.5 Kinetics Modeling and Statistical Analysis

Kinetic evaluation is necessary to derive basic kinetic information for systems in order to describe the reaction rate as a function of experimental variables making possible to predict changes in a particular food during processing [11].

The experimental data are presented in function of C and C_0 at different heating time intervals t , where C is the carotenoid concentration ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) at each time t and C_0 is the amount of carotenoid when the trial reaches the desired temperature (isothermal temperature).

The general equation for studying the carotenoid change can be given as:

$$\frac{dC}{dt} = -kC^n \quad (4.2.5.1)$$

The mentioned equation shows that the degradation rate dC/dt is proportional to the n^{th} power of carotene concentration (C in $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of oil) at any time t , while n is the order of the reaction and k (min^{-1}) is the reaction constant. Integrating Equation 4.2.5.1 between C_0 and C from time zero to time interval t , we have:

$$\int_{C_0}^C C^{-n} dC = -k \int_0^t dt \quad (4.2.5.2)$$

The equation mentioned above does not apply to $n = 1$, because the term $1/(1-n)$ would become undetermined, so:

$$C = [C_0^{1-n} - (1-n)kt]^{1/(1-n)} \quad (n \neq 1) \quad (4.2.5.3)$$

$$C = C_0 \exp(-kt) \quad (n = 1) \quad (4.2.5.4)$$

The order of the reaction n and the rate constants k were estimated by tests employing Microsoft Office Excel 2007. The rate constants k were assumed to vary with the absolute temperature T (K) according to Arrhenius law:

$$k = k_0 \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (4.2.5.5)$$

where k_0 , E_a , T , and R are respectively the pre-exponential factor (min^{-1}), the activation energy (J. mol^{-1}), the oil temperature (K) assumed to be constant during the thermal treatment, and the gas constant ($8.314 \text{ J. mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$). The units of rate constant (k) and pre-exponential factor (k_0) will vary according to the reaction order.

All the measurements in this study were made in triplicate. Kinetic data were analyzed by regression analysis to obtain the relation of carotene degradation and temperature using the MS Excel (Washington, USA). Correlation coefficient (R^2) and standard error of the mean (SEM) were calculated to determine the goodness of the fit

4.3 Results and Discussion

The initial total carotenoids and vitamin E content in the bleached palm oil was found to be $1319.0 \pm 22.4 \text{ mg/kg}$ and $826.1 \pm 30.9 \text{ mg/kg}$, respectively. To evaluate the degradation behavior of carotenoids in palm oil, different heating treatments were proposed as a function of time at temperatures 170°C , 190°C , 210°C , and 230°C . The total heating time was 140 min. The initial concentration of carotenoids was measured when the oil reached isothermal conditions. Nevertheless, even during the heating period significant amounts of carotenoids were lost. The preliminary losses were 18.6 %, 26.1 %, 56.1 %, and 98.3 % at 170°C , 190°C , 210°C , and 230°C , respectively. For all heating treatments, the concentration of carotenoids decreased as a function of the heating time. This disappearance, visible macroscopically by a loss of color, was more rapid as the temperature increased.

The progressive loss of carotenoids in palm oil, after the oil reached isothermal conditions, is presented for the four temperatures in Figure 4.3.1. As expected, the carotenoids destruction is more remarkable at 230°C , reducing the concentration of carotenoids to values around $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ in the first 20 min. For the temperature of 230°C , it was possible to monitor the degradation of carotenoids until 60 min, since after that they

were totally destroyed.

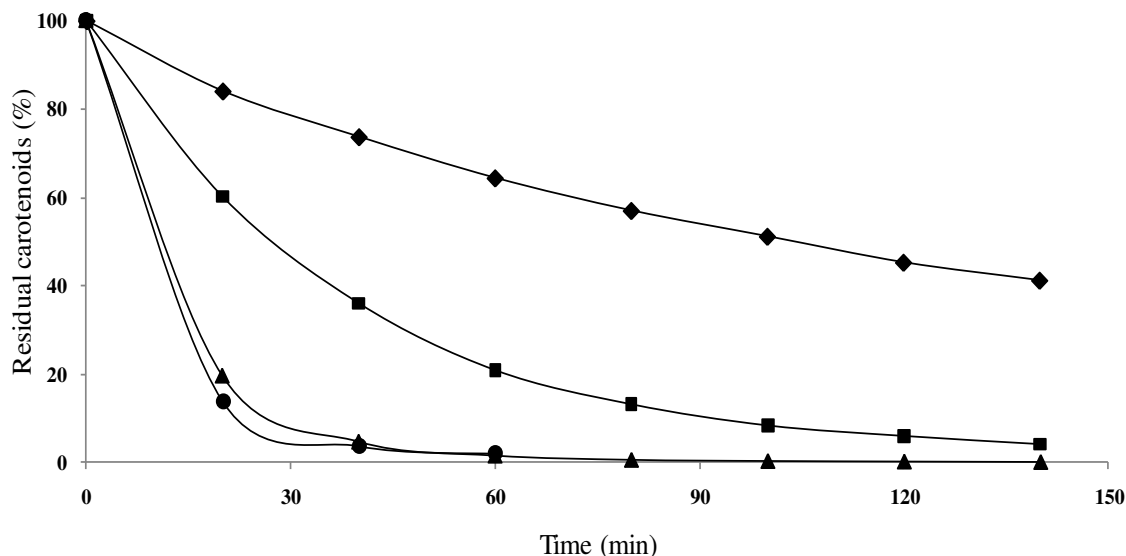


Figure 4.3.1. Thermal destruction of carotenoids at 170 °C (♦), 190 °C (■), 210 °C (▲); 230 °C (●).

The destruction of carotenoids was also significant at 210 °C, in which case its content is reduced by more than 80 % in the first 20 min, and it is gradually reduced subsequently. ONEYEWU et al. [12] during their investigation on changes of β -carotene on heating of model system (glycerol + β -carotene) showed that 91.9 % of β -carotene is degraded on heating at 210 °C in the first 15 min.

At the lower temperatures 170 °C and 190 °C for the first 20 min, the carotenoids were reduced by more than 16.0 % and 39.8 %, respectively. As indicated by the percentages, the destruction of carotenoids by heat practically doubles at every 20 °C of increasing on the lower temperatures.

Palm oil and its fractions, known as the richest sources of carotenoids, are mainly refined through physical refining at temperatures ranging from 220 – 260 °C for 1h using live steam injection. Under these conditions, most of the nutritionally important micronutrients are lost. According to BASIRON [6], the deodorization step in crude palm oil refining resulted in the production of a light colored, bland RBD palm oil and it was observed that palm oil refining removes 63 and 86 % of carotenes at 180 and 200 °C, respectively. It could also be noticed the destruction of carotenes during the heating of

crude palm oil at different temperatures (100, 150, and 200 °C) for 2h and the extent of reduction was found to be 23.38, 83.66, and 92.11 %, respectively [13]. However, in the works described the focus was only to verify the losses of carotenes during the refining, without taking into account the determination of the carotene content when the oil reached isothermal conditions, the injection of nitrogenous during the experimental procedure and finally the determination of the kinetic parameters.

4.3.1 Analysis of Tocols Content

Tocols content of the samples from each time interval at the four temperatures (170 °C, 190 °C, 210 °C, and 230 °C) were analyzed by HPLC and the results are shown in Table 4.3.1.1. Palm oil is one of the few edible oils that contain tocotrienols in substantial quantity in addition to commonly occurring tocopherols. The analytical protocol used here could resolve tocols into α -T, α -T₃, β -T₃, γ -T, γ -T₃, and δ -T₃ in increasing order of retention time. The greek symbols accompanied by a T, are used to designate the tocopherols, while the ones accompanied by T₃ are designating the tocotrienols.

Table 4.3.1.1. Changes in tocols in bleached palm oil heated at different temperatures.

Time (min)	170 °C	190 °C	210 °C	230 °C
	T+T ₃ (mg/kg)	T+T ₃ (mg/kg)	T+T ₃ (mg/kg)	T+T ₃ (mg/kg)
0	813.98±3.0	813.83±2.5	781.92±2.8	769.56±2.7
20	798.96±6.5	798.29±5.6	785.80±6.4	764.37±4.3
40	793.05±3.0	787.46±2.5	776.43±8.8	756.24±4.9
60	791.49±1.4	789.37±7.5	742.91±6.0	739.52±6.2
80	797.74±3.9	785.34±4.8	734.28±6.5	733.71±3.4
100	793.34±6.1	784.57±2.8	730.28±1.7	728.37±4.2
120	788.97±7.7	779.57±1.7	725.36±2.1	717.38±6.0
140	779.49±2.6	770.38±2.9	718.32±3.3	703.11±1.8

The values are expressed as mean ± SD (n= 3)

T+T₃ includes: α -T α -tocopherol, α -T₃ α -tocotrienol, β -T₃ β -tocotrienol, γ -T γ - tocopherol, γ -T₃ γ -tocotrienol, and δ -T₃ δ -tocotrienol.

It is evident from the results that bleached palm oil is also one of the richest sources of tocols. During the heating process, the retention of tocols in the oil was considerably high, hence for the lower temperatures (170 °C, and 190 °C) it was higher than 93 %, while

for the higher temperatures (210 °C, and 230 °C) it retained around 85 % of the total tocols initially present. The high retention values of tocols can be attributed to the controlled conditions of the experiments, with injection of nitrogen during the entire process and the pressure control, which was always above the atmospheric pressure in order to avoid their volatilization.

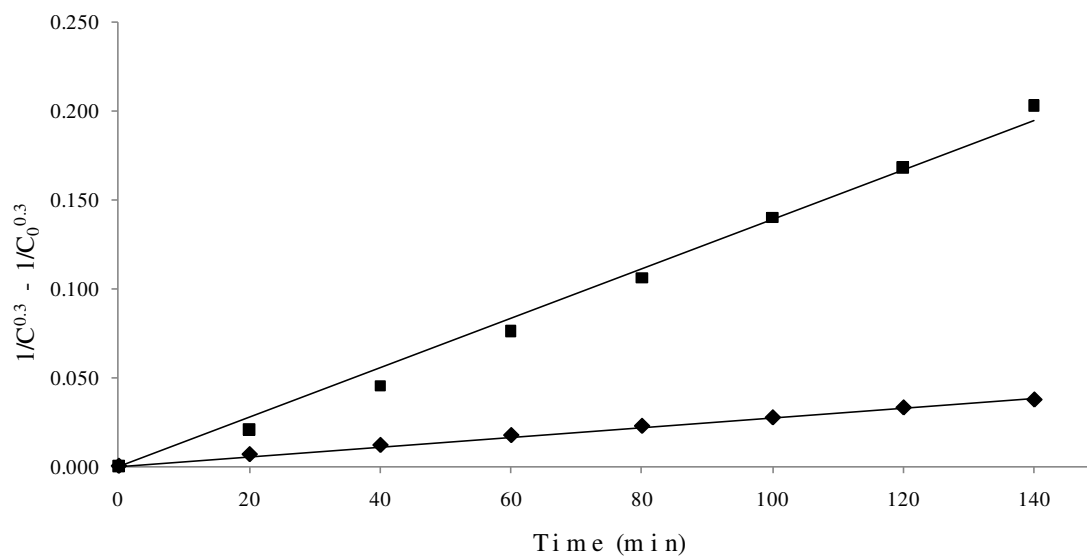
In all the samples analyzed for the four temperature tocotrienols accounted for around 70 % of the total tocols. Vitamin E is a potent biological antioxidant that protects the body against oxidative damage, notably cell membranes and cholesterol transporting lipoproteins [14]. Besides, inside of the oil the tocols act as an additive inhibiting the peroxidation and increasing the reaction order by making the prolongation of the induction period [15].

4.3.2 Degradation Kinetics Parameters

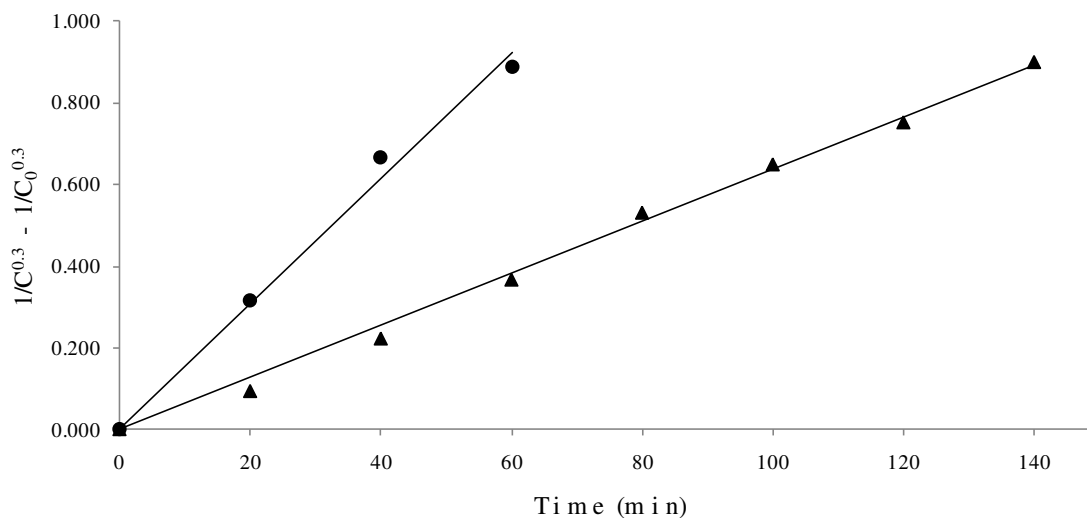
The experimental data obtained from the trials with palm oil related to carotenoids degradation was then treated following the parameters described in Equation 4.2.5.3. A number of n reaction orders were tested, and the apparent order of the reaction was 1.3. Although, first and second reaction order are the most observed ones, fractional orders are also possible (16). Wan Nik et al. [15] when investigating the thermal stability of palm oil for its use as a hydraulic fluid, with and without oxidation inhibitor observed that the thermal behavior and the kinetic parameters were better described by fractional reaction orders ranging from 0.85 to 1.46. They justified this behavior based on the additive type and additive amount added to the oil, which act as an antioxidant delaying the degradation process

The results when applying a reaction order equal to 1.3 are shown in Figures 4.3.2.1 (a) and (b). The high order number for carotenoids degradation may be due to the complex composition of palm oil. The estimated values of correlation coefficients and rate constants for the four temperatures 170 °C, 190 °C, 210 °C, and 230 °C are presented in Table 4.3.2.1. It is noted that the R^2 values are higher than 0.99 for all temperatures.

In the same way already observed in Figure 4.3.1, Figure 4.3.2.1 shows that the changes in carotenoids concentration are larger at higher temperatures.



(a)



(b)

Figure 4.3.2.1. Degradation kinetics plots of carotenoids in palm oil for 1.3 order reaction at: 170 °C (■) and 190 °C (◆) (a) and 210 °C (▲) and 230 °C (●) (b).

The obtained reaction order could be explained considering some factors, among of them, the synergic effect between the carotenoids and vitamin E, which is a potent antioxidant, and the fatty acid composition of palm oil. It is important to highlight that in a practical food system, carotenoids, lipid, and the antioxidant co-exist, so that not only the co-oxidation of carotenoids in lipid solvent but also the protection of carotenoids and lipid by the antioxidant can occur.

Palm oil is the richest source of carotenoids and a rich source of tocols. It presents also a unique composition in terms of fatty acid, rich in palmitic acid (40.9 – 47.5 %), oleic acid (36.4 – 41.2 %) and linoleic acid (9.2 – 11.6 %). These characteristics probably play an important role during the oil heating and the degradation of minor components such as carotenoids.

Li et al. [17] showed that either α -tocopherol or β -carotene inhibits effectively the peroxidation, and the combination of the two antioxidants exhibits a much higher inhibition effect than the expected only by an additive. This occurs due to the synergistic effect of both compounds. It was also observed that the depletion of these two antioxidants used in combination is slower than when they are used separately, thus demonstrating a mutual protective effect.

Takahashi et al. [18] studied β -carotene oxidation in *n*-decane. They considered it as an inert solvent under various conditions in which α -tocopherol was added as an antioxidant. They noticed that in the absence of tocopherol, the carotene concentration decreases sharply from the beginning of the reaction, and the carotene is almost consumed at 20 h. At the initial tocopherol concentration of $3.8 \times 10^{-3} \text{ mol.m}^{-3}$, the carotene concentration decreases slightly for about 50 h, and then decreases sharply, as for the case without tocopherol addition. In addition, the induction period becomes longer with an increase in the initial tocopherol concentration.

Some authors also consider that the fatty acid composition of the system can introduce a substantial impact. For instance, Kitakawa-Shibasaki et al. [19] remarked that the time in which β -carotene is almost consumed in oleic acid with α -tocopherol, is longer than the one without α -tocopherol, but it is shorter than the one in *n*-decane with α -tocopherol. They suggested that the solvent, oleic acid, is also oxidized, and the radical generated by the oxidation contributes to the increase in the oxidation rate of β -carotene. Budowski and Brondi [20] noted that carotene degradation increases as the degree of oil unsaturation increases. They considered that the higher rate was caused by the fast oxidation of unsaturated lipids that produced radicals likely to attack carotenes. Indeed, the highly unsaturated β -carotene chain can be attacked by lipid radicals or even by oxygen in the oil/air interface, leading to the production of a carotenoid-peroxyl radical. This radical may also participate in the degradation and cleavage reactions of both unsaturated lipids

and β -carotene.

Table 4.3.2.1. Reaction rate constants and correlation coefficients for carotenoids at four different temperatures.

Temperature (°C)	Rate Constant ($\text{kg}^{0.3} \cdot \text{mg}^{-0.3} \cdot \text{min}^{-1}$)	Correlation Coefficient
170	0.00093 ± 0.00004^a	0.997
190	0.00463 ± 0.00009	0.992
210	0.02120 ± 0.00197	0.996
230	0.05133 ± 0.00434	0.992

^a Standard error of the mean.

4.3.3 Effect of Temperature on Rate Constant

The effect of temperature on the degradation rate constants of carotenoids is shown in Figure 4.3.3.1. The results indicate that the dependence of rate constant follows the Arrhenius equation ($R^2 = 0.991$) (Equation 4.2.5.5). The E_a for the degradation process was found to be $126.0 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Previous studies on carotenoids degradation for a variety of food products have reported similar values of activation energy. Achir et al. [7] found activation energy of $86.0 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ while studying the thermal degradation β -carotene in palm olein. A study performed by Dhuique-Mayer et al. [4] on β -carotene degradation in citrus juice reported activation energy of $110 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Henry et al. [3], when investigating the oxidative degradation kinetics of carotenoids in a model system found activation energies varying between $82.8 - 109.5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. As it can be seen, there is small differences between the mentioned activation energy values, which probably are due to differences in the product matrix or in the range of temperature used in these studies.

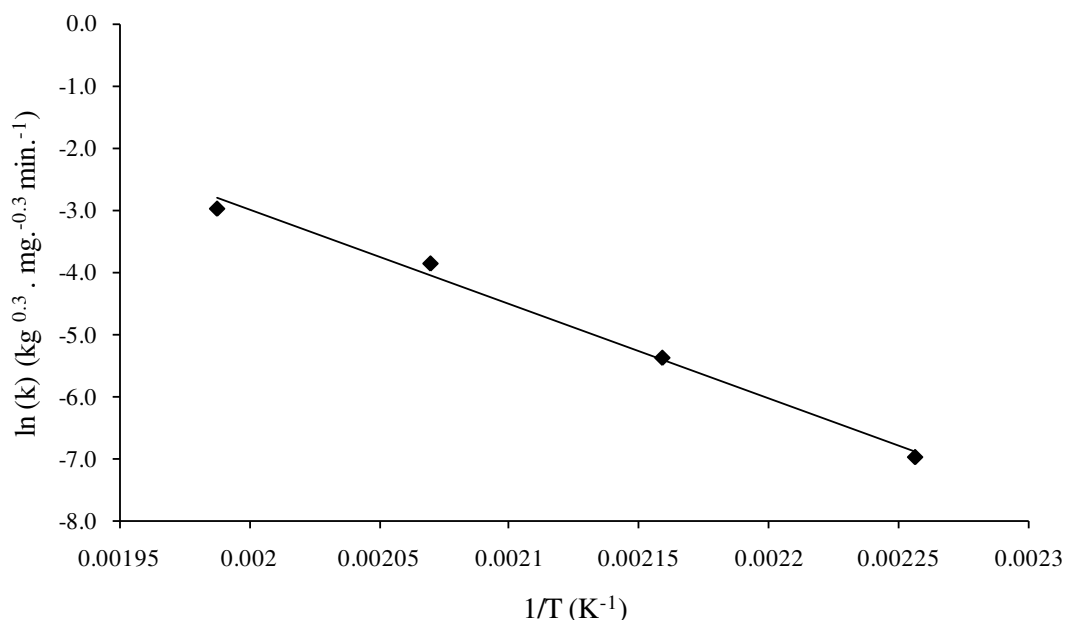


Figure 4.3.3.1. Dependence of the degradation rate constant on the temperature as represented by Equation 4.2.5.5.

4.3.4 Analysis of Literature Data

The degradation of carotene in vegetable, fruits and models systems has been extensively studied. However, there are no previous experiments on the available literature data aiming to obtain the kinetic parameters related to the degradation of carotenoids in palm oil. Usually, it is common to find old or recent papers, which do not contain much information about experimental conditions, and also isolated points of residual carotene in palm oil after deodorization, thus complicating quantitative analysis and comparisons of the compare kinetic data.

The most complete data for carotene degradation in palm oil are available on the papers published by Jideani [8] and Loncin [9]. However, even these data do not contain the necessary information to allow a kinetic study of the experimental values, on this way enabling just a qualitative comparison with the data reported in the present work.

4.3.4.1 Evaluation of the kinetic parameters on the prediction of carotene retention in palm oil

In order to evaluate the applicability of the kinetic parameters obtained by our work on the prediction of literature data related to the carotenoids degradation we chose to predict experimental data given by Jideani [8] and Loncin [9], respectively. To quantify β -carotene thermal degradation in palm oil, Jideani [8] performed experiments keeping the system heated at 160 °C, 180 °C, and 200 °C. When the set temperature was reached, samples were collected every 20 min at isothermal conditions. The experiments were conducted for a period of 60 min. At the end of the thermal treatment, the collected samples were cooled. The resulting oil samples were utilized for further analysis. The carotenoids were isolated from the oil by performing a saponification procedure. β -carotene was separated from other carotenoids by TLC plates making use of dichloromethane/petroleum spirit (19:1) as solvent system. After, the pigment was re-extracted and the absorbance was read in the spectrophotometer at 450 nm, and the concentrations of carotenes were calculated. The obtained β -carotene content was presented in the paper as a graphic of residual of β -carotene versus time. We extracted the data from the paper using a graphic software (Engauge Digitizer v4.1).

A further comparison was carried out using the data provided by Loncin [9]. In this paper it was studied the thermal degradation of carotene in palm oil during the refining process. The author selected four temperatures of study (180 °C, 200 °C, 220 °C and 240 °C) during a period of 60 min. The analysis of carotene content in all samples was performed by Lovibond method. The carotene content was presented in the paper as a graphic of residual of β -carotene versus time. Nevertheless, as the carotene analysis in the article was performed by using the Lovibond method, it is not clear how β -carotene concentration was obtained. The residual carotene data was extracted from the paper by using the same software graphic (Engauge Digitizer v4.1) mentioned before.

As the temperatures studied by Loncin [9] in most of the cases are not the same ones used in Jideani [8] experiments, we chose to predict the carotene degradation data only for the coincident temperatures (180 °C and 200 °C), then evaluating the interferences of the different experimental conditions. The initial carotene concentration (C_0) used on

predictions of both set of data is based on the information given in the articles. According to Jideani [8] and Loncin [9] the initial carotene concentration present in the oils before the heat treatment are $1029.85 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively. Figures 4.3.4.1.1 and 4.3.4.1.2 show the comparison between the data obtained by the literature [8] and [9], and the predicted data, which were obtained by using the kinetic parameters found in this work.

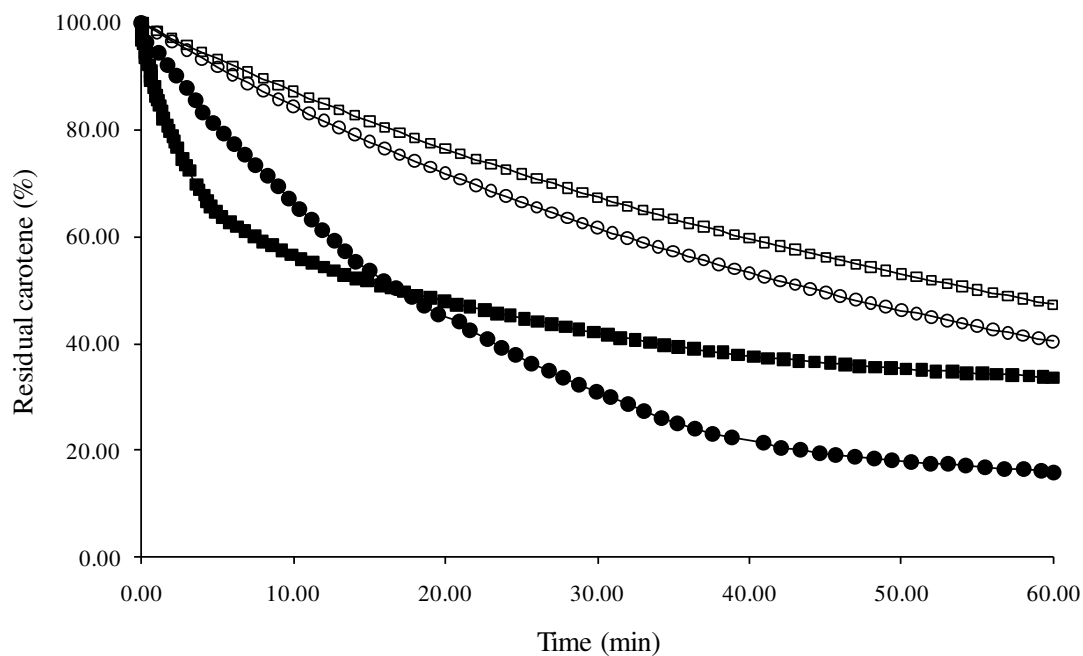


Figure 4.3.4.1.1. Carotene degradation data at 180 °C: prediction of Loncin [9] data (□); prediction of Jideani [8] data (○); experimental data provided by Loncin [9] (■); experimental data provided by Jideani [8] (●).

Figure 4.3.4.1.1 shows the results of the comparison between the experimental data presented by the authors [8-9] and predicted data, for the temperature of 180 °C. As it can be seen, there is a significant difference when comparing experimental and predicted data for both authors. Although, if we analyze carefully the exposed data, it is possible to verify that there is quantitative differences even on the experimental results provided by the authors, and the residual carotene can reach values of 35 % and 15 %, respectively for Loncin [9] and Jideani [8]. These results reflect the differences on the experimental conditions, since Loncin [9] investigated the carotene degradation during the deodorization

process and the author does not mention if the samples were collected after isothermal conditions or which was the initial carotene concentration after reaching the desired temperatures. While, Jideani [8] performed the ten investigation using a palm oil sample obtained by a mechanized process, and it is not clear what was the initial carotene concentration when the oil reached isothermal conditions. Besides, the degradation of carotenes was studied specifically considering β -carotene and its isolation probably increased the losses of the pigments, then reducing the amount of residual carotene in the studied oil.

It is also important to highlight that the predicted data (Figure 4.3.4.1.1) for both authors gave values higher than the experimental data. It can be explained through the fact that the kinetic parameters used on the prediction of carotene degradation were obtained from our study, in which experimental conditions were controlled in order to obtain a real kinetic study. To achieve that, the experiments were performed with total exclusion of oxygen, elevated pressure (1.2 – 1.5 bars) in order to avoid any loss by evaporation, and also injection of nitrogen during the entire process, ensuring that the degradation of the carotenes were function only of the heat treatment.

From Figure 4.3.4.1.2 it can be observed a good concordance between the experimental [8–9] and the predicted data, probably because for the higher temperatures the effect of non-controlled factors, such as heating time, presence of oxygen and carotene evaporation are minimized when compared to the effect of the temperature. This behavior reinforces the importance of having kinetic data that are function only of a specific variable, thus reducing the doubts of the mainly cause of the compound degradation.

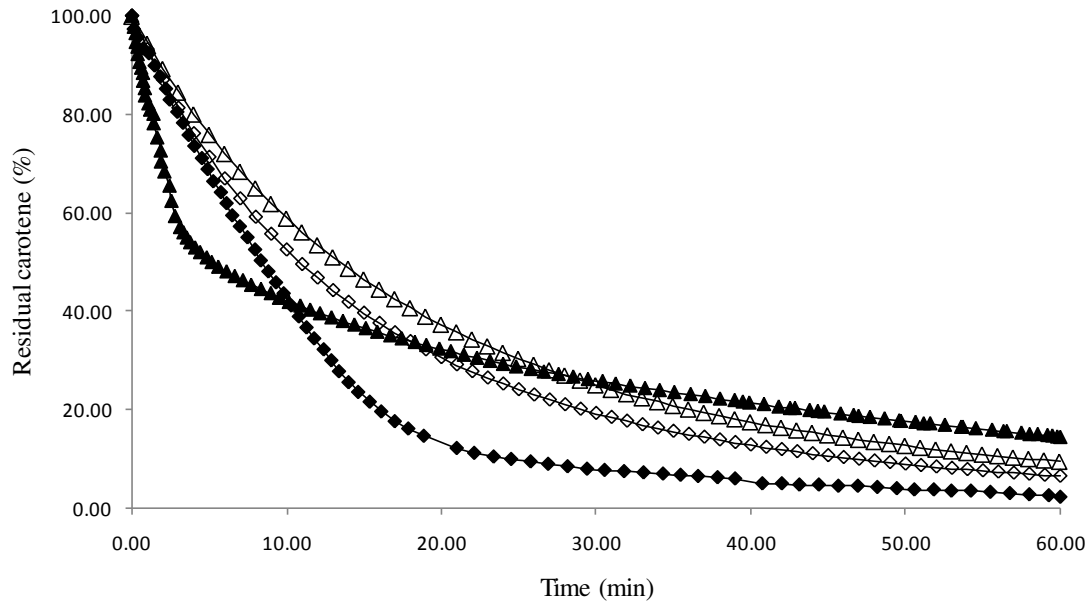


Figure 4.3.4.1.2. Carotene degradation data at 200 °C: prediction of Loncin [9] data (Δ); prediction of Jideani [8] data (◇); experimental data provided by Loncin [9] (▲); experimental data provided by Jideani [8] (◆).

Comparing the experimental data provided by Jideani [8] and Loncin [9] for the temperature of 200 °C, it can also be verified considerable quantitative differences related to residual of carotene. However, when doing a qualitative comparison between experimental and predicted data for both authors and temperatures, it can be seen the same behavior with higher retention of carotene for the lower temperature (180 °C) and lower retention of carotene for the higher temperature (200 °C).

Conclusions

As carotenoids are widely used in food, their stability in food systems is of major importance. In the case of palm oil, which is the richest commercial source of carotenoids in vegetable oils, a detailed study becomes even more necessary. The enhancement in knowledge of carotenoids thermal degradation kinetic could be employed as a tool for the improvement of carotenoids retention, as a quality and nutritional attribute during the heating process of palm oil. In this way, facilitating the optimization of the heating process,

favoring the production of red palm oil at lower costs and avoiding the addition of synthetic carotenoids to the oil.

Acknowledgments

The authors wish to acknowledge FAPESP (2010/16634-0, 2008/56258-8) and CNPq (306250/2007-1, 304495/2010-7, 301999/2010-4) - for their financial support, and Agropalma S/A, Companhia Refinadora da Amazônia, for kindly supplying the samples of crude palm oil for the experiments in Belgium.

References

1. Mayamol, P.N., Balachandran, C., Samuel, T., Sundaresan, A. and Arumughan, C. Process Technology for the Production of Micronutrient Rich Red Palm Olein. J. Am. Oil Chem. Soc., vol. 84, no 6, pp. 587 – 596, 2007.
2. Rodriguez – Amaya, D. B. A Guide to Carotenoid Analysis in Foods. ILSI Press, Washington, DC (USA) 1999.
3. Henry, L. K., Catignani, G. L. and Schwartz, S. J. Oxidative Degradation Kinetics of Lycopene, Lutein and 9-cis and All-trans β -carotene. J. Am. Oil Chem. Soc., vol. 75, no 7, pp. 823 – 829, 1998.
4. Dhuique-Mayer, C., Tbatou, M., Carail, M. and Caris-Verat, C., Dornier, M., and Amiot, M. J. Thermal Degradation of Antioxidant Micronutrients in Citrus Juice: Kinetics and Newly Formed Compounds, J. Agric. Food Chem., vol. 55, no 10, pp. 4209 – 4216, 2007.
5. Koca, N., Burdurlu, H. S. and Karadeniz, F., Kinetics of colour changes in dehydrated carrots. Journal of Food Engineering, vol. 78, no 2, pp. 449 – 455, 2007.

6. Basiron, Y., Palm Oil. In: Shadidi F (ed) Bailey's industrial oil & fat products: edible oils, vol. 2, 6th edn., John Wiley & Sons, New Jersey, pp 374-380, 2005.
7. Achir, N., Randrianatoandro, V. A., Bohoun, P., Laffargue, A. and Avallone, S. Kinetic study of β -carotene and lutein degradation in oils during heat treatment, Eur. J. Lipid Sci. Technol., 112, no 3, pp. 349 – 361, 2010.
8. Jideani, V. A. E., Carotene Retention in Palm Oil by Mechanized and Traditional Process. J. Fd. Sci. Technol., vol 29, no 1, pp. 68 – 69, 1992.
9. Loncin, M., Palmöl und seine Verarbeitung für die Margarine-Industrie. Fette Seifen Anstrichmittel, vol. 64, no 6, pp. 531 – 536, 1962.
10. Silva, S. M., Sampaio, K. A., Taham, T., Rocco, S. A., Ceriani, R. and Meirelles, A. J. A. Characterization of Oil Extracted from Buriti Fruit (*Mauritia flexuosa*) Grown in the Brazilian Amazon Region. J. Am. Oil Chem. Soc., vol. 86, no 7, pp. 611-616, 2009.
11. Van Boekel, M., A. J. S. Kinetic modeling in food science: a case study on chlorophyll degradation in olives, J. Sci Food Agric, vol. 80, no 2, pp. 3 – 9, 2000.
12. Oneywu, P. N., C-T Ho and Daun, H. Characterization of β -carotene thermal degradation products in a model food systems. J. Am. Oil Chem. Soc. vol. 63, no 11, pp. 1437, 1986.
13. Okiy, D. A. and Oke, O. L. Some chemical changes in heated crude palm oil. Food Chemistry, vol. 21, no 3, pp. 161 – 166, 1986.
14. Goh, S. H., Choo, Y. M. and Ong, A. S. H. Minor constituents of palm oil. J. Am. Oil Chem. Soc., vol. 62, no 2, pp. 237 – 240, 1985.

15. Wan Nik, W. B., Ani, F. N. and Masjuki, H. H. Thermal stability evaluation of palm oil as energy transport media. *Energy Conservation and Management*, vol. 46, no 13, pp. 2198 – 2215, 2005.
16. Fogler, S. H., Rate Law and Stoichiometry. In: *Elements of Chemical Reaction Engineering*, 3th edn., Prentice Hall PTR, New Jersey, pp. 68 – 123, 1999.
17. Li, Z.-L., Wu, L.-M., Ma, , Liu, Y.-C. and Liu, Z.-L., Antioxidants Synergism and Mutual Protection of α – Tocopherol and β -carotene in the Inhibition of Radica – Initiated Peroxidation of Linoleic Acid in Solution. *Journal of Physical Organic Chemistry*, vol. 8, no 2, pp. 774 – 780, 1995.
18. Takahashi, A, Shibasaki-Kitakawa, N., Kato, H., Yonemoto, T. A Rigorous Kinetic Model for β -Carotene Oxidation in the presence of an Antioxidant, α – Tocopherol. *J Am Oil Chem Soc*, vol. 80, no 12, pp. 1241 – 1247, 2003.
19. Shibasaki-Kitakawa, N., Kato, H., Takahashi, A., Yonemoto, T. Oxidation Kinetics of β -Carotene in Oleic Acid Solvent with Addition of an Antioxidant, α -Tocopherol. *J Am Oil Chem Soc.*, vol. 81, no 4, pp. 389 – 394, 2004.
20. Budowski, P., Brondi, A. Autoxidation of carotene and vitamin A influenced of fat and antioxidants. *Arch Biochem Biophys*. vol. 89, no 1, pp. 1437 – 1441, 1960.

Capítulo 5. Influence of the Initial Palm Oil Acidity on the Quality of the Refined Product

Klicia A. Sampaio¹, Jose Vila Ayala², Vera Van Hoed³, Roberta Ceriani⁴,
Roland Verhé³ and Antonio J. A. Meirelles^{1*}

¹ Faculty of Food Engineering, University of Campinas (UNICAMP), Rua Monteiro Lobato, 80, 13083 – 862, Campinas, São Paulo, Brazil (tomze@fea.unicamp.br)*

² Desmet Ballestra, R & D Center, 1935, Zaventem, Belgium

³ Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University (UGENT), Coupure Links, 653, 9000, Ghent, Belgium

⁴ Faculty Chemical Engineering, University of Campinas (UNICAMP), Avenida Albert Einstein, 500, 13083 – 852, Campinas, São Paulo, Brazil

Keywords

Processing, Quality indices, Physical refining, Minor components, Free fatty acids.

Abstract

In this work, response surface methodology (RSM) is applied to study the physical refining process of palm oil samples of different qualities, measured by their initial acidity. Crude palm oil was submitted to a pre-treatment step, and then to a final deacidification process. The influence of two operative conditions and a third quality parameter are considered: the temperature (200 – 260 °C), the steam percentage (0.5 – 3.5 %), and the initial FFA (2.22 – 6.00 %). A central composite design was employed to study the responses namely final FFA, tocopherols retention, neutral oil loss (NOL) and carotene retention. In addition, it was investigated the retention of squalene and sterols on the refined oil. The results revealed that the initial FFA is a statistically important parameter to obtain acceptable values for final FFA content. In fact, reducing the oil acidity to acceptable values implies on its submission to higher temperatures or longer refining period, then decreasing the concentration of the minor components in the final product. Therefore, the initial oil acidity is a relevant parameter related to nutraceutical quality of the refined product.

5.1 Introduction

Palm oil has become one of the leading vegetable oils for edible applications because of its unique fatty acid composition and nutritional properties. Crude palm oil (CPO) is one of the richest natural sources of carotenoids (500 – 700 ppm) and a rich source of tocopherols (tocopherols and tocotrienols) (600 – 1000 ppm). In addition, CPO also contains significant amounts of squalene (200 – 500 ppm) and sterols (362 – 627 ppm) that are well known for a variety of biological activities (Gee, 2007).

The quality of any crude oil has to be considered as it can greatly affect the

efficiency of the refining process and the quality of the end-products. The most used parameters to assess crude palm oil quality are: free fatty acids (FFAs), phosphatide content, peroxide value (PV), metal traces, and more recently the deterioration of bleachability index (DOBI), (Gibon et al., 2007). Although, the FFA is one of the most frequently determined quality indices during the production, storage and marketing of palm oil products and its price is dictated by the FFA content. According to Saad et al. (2006) the reported range of FFA content of crude palm oil is 2.3 – 6.7 %.

Edible oils are refined in order to remove unacceptable materials with the least possible loss of oil and minor components of nutraceutical importance. Refining of palm oil is preferably performed by physical means (Sampaio et al., 2010) since its high acidity can lead to excessive losses of neutral oil in case of the caustic refining process (Rossi et al., 2001). Physical refining of vegetable oils is a stripping process in which, under low absolute pressure and high temperatures, the accompanying lower boiling compounds are distilled off from neutral oil, by using gas or steam, as effective stripping agent. According to PORAM standard specifications for processed palm oil, the FFA content of refined bleached deodorized (RBD) palm oil should be lower than 0.1 % and sometimes the industry requires an acidity even lower 0.03 %, to guarantee the removal of odoriferous compounds (Gee, 2007).

Free fatty acids and valuable minor components, such as squalene, tocopherols, and phytosterols, are distilled and then recovered in the deodorizer distillate. Especially the loss of tocopherols and sterols during the refining has a negative effect on the nutritional quality of the refined oil. The influence of the refining process on several oil quality aspects has been studied for different vegetable oils (García et al., 2006; Verleyen et al., 2002a; De Greyt et al., 1999; Tubaileh et al., 2002).

For multivariable processes such as those applied to food systems, a large number of factors can influence the obtained results. Response surface methodology (RSM) has been widely applied for optimizing conditions and processes in various food studies (Sampaio et al., 2010; Ceriani et al., 2010; Junqueira et al., 2007; Martinello et al., 2007; Tan et al., 2009). Thus, the objective of this study is to evaluate the effects of two operating parameters, i.e., temperature and steam flow, and a third quality parameter, i.e., the initial

FFA (IFFA) on the responses final FFA (FFFA, %), carotene retention (CR, %), tocols retention (TR, %) and neutral oil loss (NOL), following a 2^3 factorial design. It was also possible to use these experiments for measuring squalene/sterols retention.

5.2 Material and Method

5.2.1 Material

Crude palm oil (CPO) was kindly provided by the industry (Agropalma S/A, Amazon Refining Company, Brazil). Its initial acidity was 2.20 ± 0.25 % (expressed as oleic acid). Commercial oleic acid (Merck, USA) was added to adjust the acidity of each model system. Standards of β -carotene (Fluka – Germany), tocopherols (Calbiochem, USA), cholesterol, sterols, and squalene (Sigma Aldrich – Belgium) were purchased to perform the analysis. All chemicals used were either High Performance Liquid Chromatography (HPLC) or analytical grade. Palm oil samples were stored in cooled room (10°C) until analysis.

5.2.2 Methods

5.2.2.1 Experimental Design

Response Surface Methodology (RSM) was used for the modeling and analysis of the deacidification step. The experimental design employed for the analysis was a central composite design. The experiments were carried out using a 2^3 full-factorial design with three central points to estimate the reproducibility of the trials (Table 5.2.2.1.1). The independent variables are temperature (X_1), steam flow (X_2), and initial oil acidity (X_3). Five different oil systems were estimated with different initial FFA (IFFA) (IFFA1 – 2.22 %; IFFA 2 – 2.99 %; IFFA 3 – 4.11 %; IFFA 4 – 5.23 %; IFFA 5 – 6 %) to cover all the combinations of the coded variable X_3 . The considered response variables are final FFA (FFFA, %), β -carotene retention (βR , %), and tocols retention (TR, %). FFFA is obtained from the analysis of the refined oil. Tocols and carotene retention are calculated as a

Table 5.2.2.1.1. Central composite design, experiment data, and predicted data for the physical refining of palm oil

Trial	Coded Variables			FFFA ^b (%)		Tocols Retention (%)		Carotene Retention (%)	NOL ^c (%)	
	X ₁	X ₂	X ₃	Exp. ^a	Equation 5.2.2.1.1	Exp.	Equation 5.3.2.1	Exp.	Exp.	Equation 5.3.2.3
1	-1	-1	-1	0.455±0.001	0.580	83.47±1.31	84.45	1.85±0.03	0.062	0.076
2	+1	-1	-1	0.112±0.013	0.142	66.93±0.32	66.12	0.00±0.00	0.143	0.173
3	-1	+1	-1	0.152±0.004	0.082	80.32±0.70	80.07	2.13±0.04	0.079	0.083
4	+1	+1	-1	0.085±0.001	0.113	50.42±1.56	50.89	0.00±0.00	0.291	0.311
5	-1	-1	+1	0.915±0.003	0.805	87.27±0.33	89.75	2.51±0.02	0.067	0.076
6	+1	-1	+1	0.120±0.008	0.108	57.62±0.60	60.83	0.00±0.00	0.162	0.173
7	-1	+1	+1	0.230±0.008	0.306	84.00±0.21	85.36	1.88±0.07	0.080	0.083
8	+1	+1	+1	0.098±0.003	0.079	46.02±1.81	45.60	0.00±0.00	0.305	0.311
9	-α	0	0	0.650±0.002	0.643	88.73±0.88	86.85	11.42±0.06	0.081	0.075
10	+α	0	0	0.092±0.007	0.083	38.66±1.65	38.05	0.00±0.00	0.375	0.348
11	0	-α	0	0.554±0.001	0.541	85.65±0.47	82.98	0.00±0.00	0.076	0.050
12	0	+α	0	0.101±0.003	0.098	66.37±1.05	66.50	0.00±0.00	0.180	0.172
13	0	0	-α	0.118±0.003	0.041	78.59±2.21	74.74	0.00±0.00	0.139	0.159
14	0	0	+α	0.170±0.003	0.200	75.79±0.45	74.74	0.00±0.00	0.190	0.159
15	0	0	0	0.109±0.004	0.121	74.76±0.55	74.74	0.00±0.00	0.166	0.159
16	0	0	0	0.110±0.002	0.121	72.68±0.16	74.74	0.00±0.00	0.164	0.159
17	0	0	0	0.109±0.004	0.121	73.86±1.03	74.74	0.00±0.00	0.163	0.159
ARD (%)					19.95		1.88			10.10
Real variables	-α			-1		0		+1		+α
X ₁ , T (°C)	200			212.1		230		247.9		260
X ₂ , (ml·min ⁻¹)	0.5			1.11		2.00		2.89		3.5
X ₃ , (%)	2.22			2.99		4.11		5.23		6.0

^a Values expressed as oleic acid; ^b Final free fatty acids; ^c Neutral oil loss

relation of the mass of tocols and carotene that remains in the refined oil and the mass of tocols and the carotene present in the oil fed to the physical refining step.

Surfaces of the coded variables and the independent variables were then built using the quadratic models for the statistically significant variables. The experimental results were analyzed using the software Statistica® (Statsoft, v.5.5) in order to establish the effects of the process variables on the responses of interest. The statistical analysis of the model is performed in the form of variance analysis (ANOVA). This analysis includes the *F*-test and the correlation coefficient R^2 , which measures the goodness of regression model fit. The effects of the variables are displayed in surfaces and contour plots.

To test the predictive capacity of the statistical models, average relative deviations (ARD) are calculated according to Equation 5.2.2.1.1:

$$ARD(\%) = 100 \times \frac{\sum_n (|Y_{\text{exp}} - Y_{\text{est}}| / Y_{\text{exp}})_n}{n} \quad (5.2.2.1.1)$$

where *Y* is the response, *n* the number of trials, and the subscripts “exp” and “est” refer to the values obtained experimentally and by estimation using the RSM models, respectively.

5.2.2.2 Pre-treatment – Degumming and Silica Treatment

In order to purify the oil with the least possible damage to the nutraceutical compounds, and to avoid secondary reactions with impurities such as phospholipids, and metal traces, crude palm oil was submitted to a pre-treatment step which included degumming and silica treatment. Thus, the oil was heated to 70 °C, and 0.3 % (w/w) of citric acid solution (30 % w/w) together with 0.2 % (w/w) of deionized water were added under high-shear mixing (Ultra Turax homogeneizer at 16,000 rpm for 30 sec). Then, 1 % (w/w) of Trysil (Grace, Belgium) was added in order to act as an adsorptive medium to remove traces of metal complexes, such as iron and copper, pigments, phosphatides, and oxidation products. The mixture was kept for 30 min at 85 °C under constant agitation. The mixture was then stirred under the vacuum for additional 30 min at 95 °C in order to

remove moisture. Finally, the silica and the adsorbed components were separated from the oil by filtration through a Büchner filter.

5.2.2.3 Deacidification Method

Physical refining experiments were conducted in a laboratory-scale batch deodorizer (Desmet Ballestra, Zaventem–Belgium). Pre-treated palm oil (300 g) was blended with oleic acid to obtain an initial FFA (IFFA) content varying from 2.22 % to 6.0 %. The blend was introduced in a glass batch deodorizer (1000 ml flask), and placed in a hot air oven (Heraeus, Germany) with controlled and monitored temperature. The model system occupied about one third of the glass flask volume. After degassing, under a low absolute pressure (8 mbar), the oil was heated to the desired process temperature and the pressure was adjusted to the desired value. When the selected oil temperature was reached, the flow rate of the stripping gas was started at the desired value. A microvalve adjusted the pressure of the deodorizer to 2.2 – 2.5 mbar. The steam injection was set by adjusting the water flow rate via a microperistaltic pump. Water was vaporized in a stainless steel heating coil, which was placed inside of the deodorizer, preventing fluctuations in flow rate and avoiding droplet entrainment. It should be observed that the whole water and the live steam, after the microperistaltic pump, are under the same vacuum prevailing inside the deodorizer flask. In each experiment, the stripping time was fixed at 60 min.

After deodorization was completed, the oil was cooled under vacuum to a temperature lower than 80 °C. The deacidified oil was weighed to allow calculating the loss of neutral oil by difference. In the present work, the neutral oil was considered as the whole acylglycerol portion of palm oil, in this way also including the partial acylglycerols. The distillate was quantitatively recovered by repeated washing steps of the deodorizer upper part (condenser) and the walls of distillate flask with a mixture of hexane and isopropanol. The solution was quantitatively transferred to a rotary evaporator, the solvents vaporized under vacuum and a temperature not higher than 65 °C, and the final distillate mass was weighed. Then the distillate and oil samples were stored in opaque glass vessels under nitrogen atmosphere at -18 °C until further analysis of minor components (free fatty acids, tocopherols, carotene, squalene and sterols).

5.2.2.4 Chemical Analysis

The FFA content was determined by titration according to AOCS Official Method Ca 5a-40 and was expressed as oleic acid (C18:1). The phosphorus and iron contents were analyzed by inductively coupled plasma according to AOCS Method Ca 20-99. The peroxide value was obtained by AOCS method 6b-53.

Carotene and Tocols Contents

The method used for the analysis of carotene and tocols was adapted from a method previously optimized by Silva et al. (2009). Chromatographic analyses were carried out on Agilent HPLC equipment. It was equipped with a quaternary pump, an automatic sampler, a degasser, a fluorescence detector and photo diode array detector. Chromatographic separations of the compounds were achieved at 30 °C, using a normal-phase column LiChsorb (Merck, 250 x 4.6 mm i.d.; 5 µm particle size) with a guard column (10 x 4.6 mm) purchased from Merck (Brussels, Belgium). The column was equilibrated and eluted under isocratic conditions using a flow rate of 1.0 mL min⁻¹ (hexane/isopropyl alcohol 99.1/0.9). The chromatographic run time for each analysis was 18 min. Samples of 0.1 g of oil were dissolved in 10 mL of hexane and aliquots of 20 µL were injected into HPLC system. Fluorescence detection of tocopherols and tocotrienols was carried out with excitation and emission wavelength of 290 and 330 nm, respectively. The analysis of carotene was carried out in an Agilent HPLC, but using a photo diode array detector, that was set at 455 nm. The chromatographic run time for each analysis is 5 min under the same isocratic conditions.

The carotene and tocols concentrations are based on the standard curves plotted using the following standards: β-carotene (FLUKA, Germany) and α-tocopherol, β-tocopherol, γ-tocopherol, δ-tocopherol (Calbiochem, USA). The tocotrienol isomer contents were calculated based on the standard peak areas of their related tocopherol analogs.

Sterols and Squalene Contents

The method used for the analysis of total sterols in palm oil was adapted from a previous method optimized by Verleyen et al. (2002a). Samples (1.5 g) were weighed and 2 ml of the internal standard solution (0.1 g/100 ml cholesterol in chloroform) was added. After evaporation of the chloroform, 6 ml of 6 M KOH in water, and 10 ml of ethanol were added, and the sample was saponified for 90 min at 90 °C (reflux). After saponification, 10 ml of water was added and the unsaponifiables were extracted twice, the first time with 15 ml of petroleum ether and the second time with 15 ml of diethyl ether. The combined extracts were washed two times with 7 ml of a KOH solution (0.5 M in water), and four times with 7 ml of distilled water, until neutral washing water. Afterward, the extracts were dried over anhydrous magnesium sulphate. The solvents of the extracts were evaporated and the residue was derivatized (80 °C, 30 min) by dissolving it in 0.25 ml of dry pyridine and adding 0.3 ml of N,O-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide containing 1 % trimethylchlorosilane as silylating agent. All samples were injected in the gas chromatograph within 6 h of preparation, and each sample was analyzed in triplicate. An EC5 capillary column (30 m × 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 µm; Alltech) was used and 1 µL of sample was injected with a split ratio of 1:15. The carrier gas (helium) was delivered at a flow rate of 0.5 ml/min. The injector temperature was 310 °C, and the detector (FID) temperature was 360 °C. The initial oven temperature was 285 °C, which was hold during 30 min. Further, the temperature was increased at a rate of 10 °C/min till 300 °C, which was hold during 10 minutes.

The squalene content was analyzed using the same method as for the total sterol analysis. A calibration curve was made using the reference compound.

For identification of components of the unsaponifiable fraction, the silylated residue was analyzed using the GC–MS instrument equipped with an ATTM-5ms column (30 m × 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 µm; Alltech). The following GC conditions were used: the oven temperature at 285 °C (20 min), 285 – 300 °C (10 °C/min), and 300 °C (10 min); the carrier gas as helium (0.8 ml/min); the split ratio as 1:10. The EI-MS conditions were as follows: the ionization voltage as 70 eV; the mass selective detector transfer line at 300 °C; the scan range at m/z 40 – 600 Thomson.

5.3 Results and Discussion

5.3.1 Physical Refining: Preliminary Steps

Table 5.3.1.1 presents the changes of the following oil quality indicators, for the preliminary steps of the refining process: peroxide value, free fatty acids, total carotene content, tocols, iron, and phosphorus. The peroxide value has been reduced to 16 % of the initial value during the simultaneous degumming and silica treatment process, since peroxides are absorbed by silica and removed by filtration.

Table 5.3.1.1. Physical refining preliminary steps.

Parameters	Crude palm oil (CPO)	Degumming/Silica Treatment
PV ^a (meq/kg oil)	2.21±0.23	1.86±0.04
FFA ^b (%)	2.20 ± 0.25	2.22 ± 0.20
Carotene content (mg/kg)	647.45±2.57	507.62±1.18
Tocols ^c (mg/kg)	974.85±7.67	929.41±5.50
Elements (mg/kg)		
Fe ^d	2.12±0.16	0.10±0.01
P ^e	6.20±0.25	0.36±0.01

^aPeroxide value; ^b free fatty acids (expressed as oleic acid); ^c tocopherol and tocotrienol, ^diron and ^ephosphorus content.

The FFA content of the crude palm oil (about 2 %) is relatively high compared with other vegetable oils like soybean oil (0.6 – 0.8 %), and extra virgin olive oil (0.28 – 0.8 %). However, it can be considered low if compared with the FFA limit in Malaysian palm oil mills that is 5 %, and this value will increase if the fresh bunches are not processed soon after harvesting (Tan et al, 2009). FFA content remains practically constant (2.22 % expressed as oleic acid) during the pre – treatment.

The preservation of total carotene content was quite good in the preliminary steps (94 %). Tocols content changed only 4.7 % during the pre – treatment step.

The phosphorus and iron content were almost completely removed in the pre-treatment step. As part of the phospholipids are hydratable, in the presence of water they are made insoluble and can be separated from the oil. The non-hydratable phospholipids

and the iron have been removed by adsorption in the bleaching silica and by filtration.

5.3.2 Model Fitting

Table 5.2.2.1.1 shows the responses, i.e., the final free fatty acids (FFFAs), the tocols retention (TR), the neutral oil loss (NOL), and the carotene retention (CR) after the deacidification process at different temperatures (X_1), steam percentage (X_2) and initial free fatty acids (X_3). The experimental results revealed that the final FFA and the tocols retention are a function of the three variables studied, while the neutral oil loss (NOL) depends only on the temperature and the steam percentage. As carotenes are fairly unstable at elevated temperatures its destruction is uniquely a function of the temperature.

From the trials given in Table 5.2.2.1.1, three are selected to discuss the effect of the temperature, the steam percentage, and the initial FFA (IFFA) by analyzing the star points: trials 9 and 10 (X_1 varying from $-\alpha$ to $+\alpha$), trials 11 and 12 (X_2 varying from $-\alpha$ to $+\alpha$), and trials 13 and 14 (X_3 varying from $-\alpha$ to $+\alpha$). As one can see in Table 5.2.2.1.1, temperature exerts by far the most important positive effect in the FFFA and NOL, as well as negative effect in the retention of tocols. Analyzing trials 9 and 10 it is possible to verify the effect of increasing temperature from 200 °C to 260 °C on the decrease in the FFFA and tocols retention, and on the increase in NOL, due to volatilization of fatty compounds at higher temperatures. A comparison of trials 11 and 12 demonstrates that an increase in the percentage of stripping steam from 0.5 % to 3.5 % contributed to a decrease in the FFFA and in the tocols retention, and an increase in the neutral oil loss. It happens because higher stripping steam percentages probably increase the mass transfer efficiency as well as it reduces the required partial pressure of the volatiles. The effect of increasing IFFA from 2.22 % to 6.0 % on the removal of FFA and NOL, and on the retention of tocols can be seen by comparing trials 13 and 14.

Due to their highly unsaturated molecules, carotenoids are very susceptible to degradation during the process and storage as a result of exposure to high temperature, light, or pro-oxidant molecules. The highest measurement for carotene retention during the performed refining trials was obtained for trial 9 that used the lowest temperature (200 °C).

The value reached $58 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, which is equivalent to 11.42 % of carotene retention. Trials using refining temperatures until 212.1°C had a carotene retention around 2 %, while those using temperatures between 230°C – 260°C presented a total destruction of carotenes after 60 min of heat treatment.

For the model fitted, the Statsoft Statistica software generated model coefficients, R^2 values, F-values, and significant probabilities, and from those values, one can justify the significance of each experimental variable. The regression models obtained for the final FFA, tocopherols retention, and neutral oil loss (NOL) as a function of the statistically significant variables are given by the following equations:

$$\begin{aligned} FFA(\%) = & 0.1254 - 0.1667 \times X_1 + 0.0858 \times X_1^2 - 0.1327 \times X_2 + 0.0705 \times X_2^2 \\ & + 0.0475 \times X_3 + 0.1173 \times X_1 \times X_2 - 0.0645 \times X_1 \times X_3 \end{aligned} \quad (5.3.2.1)$$

$$\begin{aligned} TR(\%) = & 74.74 - 14.52 \times X_1 - 4.36 \times X_1^2 - 4.90 \times X_2 - 2.71 \times X_1 \times X_2 \\ & - 2.65 \times X_1 \times X_3 \end{aligned} \quad (5.3.2.2)$$

$$\begin{aligned} NOL(\%) = & 0.1589 + 0.0811 \times X_1 + 0.0186 \times X_1^2 + 0.0364 \times X_2 - 0.0170 \times X_2^2 \\ & + 0.0326 \times X_1 \times X_2 \end{aligned} \quad (5.3.2.3)$$

where X_1 , X_2 and X_3 are the coded variables for the temperature ($^\circ\text{C}$), the steam percentage, and the initial FFA, respectively.

The statistical models revealed that the effect of temperature was predominant for all responses, followed by the steam percentage and the interaction between these two processing variables. Although, it should be emphasized that the influence of the initial FFA on the response final FFA was also significant.

Assuming that the final oil acidity must be lower than 0.10 % (expressed as palmitic acid), only trials 4, 8, 10, 12, 15, 16 and 17 reached the required value. Note that 0.10 % in terms of palmitic acid corresponds to an acidity of 0.11 % expressed as oleic acid, the free fatty acid source that was used in the present work. It is important to highlight that in all mentioned trials the temperatures used fall in the superior or central part of the investigated

range. In the case of the other trials, either the temperature or the processing time must be increased in order to reach the required final acidity. However, any of these options can be deleterious for the final product quality, i. e. for its content of nutraceutical compounds.

Usually the percentage of neutral oil loss (NOL) is directly related to the initial FFA (IFFA) of the oil (Saad et al., 2006). This relation is caused by the action of an endogenous lipase, which is involved in the degradation of triacylglycerols resulting in the production of free fatty acids, water, and partial acylglycerols during harvesting and storage of palm fruits. The partial acylglycerols are the main portion of the NOL, because of its reduced molecular weight, which favors the volatilization process. However, in this study the independent variable IFFA (X3) was not statistically significant considering the response NOL. This can be justified through the fact that all the studied model systems were composed by oil with the addition of oleic acid, hence keeping constant the composition of partial acylglycerols. In this case, only the temperature and steam percentages are relevant for the loss of neutral oil.

The ANOVA (Table 5.3.2.1) shows that the models appear to be adequate at 95% of confidence. The three responses presented high correlation coefficients (R^2). The R^2 values of Equations 5.3.2.1, 5.3.2.2, and 5.3.2.3 are 0.950, 0.965, and 0.986, respectively. In addition, the F-test showed that the models are reliable, since the calculated F-values are at least four times greater than the listed values (Box and Hunter, 1978). According to the models for FFFA, tocopherols retention, and NOL, the observed experimental responses were close to the predicted values.

Table 5.3.2.1. Analysis of variance: final FFA, neutral oil loss (NOL) and tocols retention model.

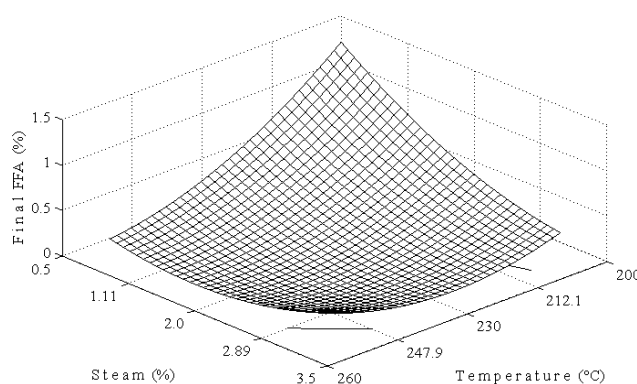
Source of variation	Sum of squares	Degree of freedom	Mean square	F-value
<i>Final FFA</i>				
Regression	0.9142	7	0.1306	24.246
Residual	0.0485	9	0.0054	3.29 ^a
Total	0.9627	16		
R ²	0.950			
<i>NOL</i>				
Regression	0.1265	5	0.0253	60.397
Residual	0.0046	11	0.0004	3.20 ^b
Total	0.1311	16		
R ²	0.965			
<i>Tocols retention</i>				
Regression	3567.270	5	713.4540	149.692
Residual	52.428	11	4.7662	3.20 ^c
Total	3619.698	16		
R ²	0.986			

^aF_{0.95; 7,9} = 3.29;^bF_{0.95; 5,11} = 3.20;^cF_{0.95; 5,11} = 3.20.

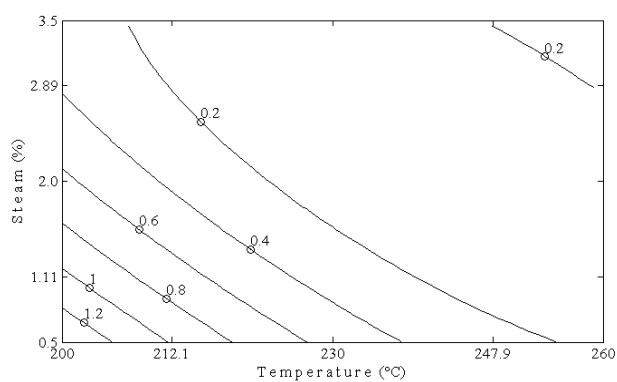
5.3.3 Analysis of Response Surfaces

Using the obtained models it was possible to draw surfaces that represent the influence of different temperatures, steam percentages, and IFFA on the three responses studied. Figure 5.3.3.1 illustrates the relationship between independent and dependent variables in a three dimensional representation of the responses surfaces and two-dimensional contour plots generated by the models. Figures 5.3.3.1 (a) and (b) show the response surface and the contour plots of the effects of temperature and the steam percentage on the FFFA (%). It can be observed that by increasing the process temperature and the steam percentage a significant reduction in the FFFA can be achieved, evidencing the synergetic effect between the variables. Figures 5.3.3.1 (c) and (d) show that usually neutral oil loss is relatively low for the range of variables studied. That is caused because the content of monoacylglycerols (MAG) in a good quality palm oil is very low (below 0.5

%) and the diacylglycerols (DAG) concentration that ranges from 5.5 % to 7.7 % does not change significantly during the refining process due to their low volatility. According to Figures 5.3.3.1 (e) and (f), tocols retention is mainly influenced by the process temperature and the steam percentage. No significant influence of the variable IFFA could be observed. The latter observation indicates that tocots removal occurs mainly due to distillation. The distillate fraction is always higher at higher temperatures and steam percentages, but the distillate composition depends on the relative evaporation of the volatile components.

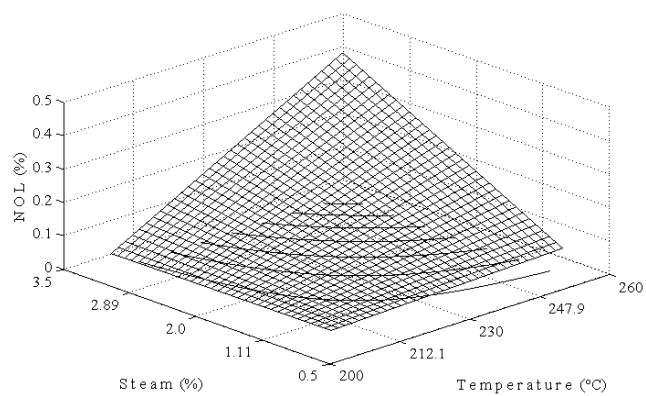


(a)

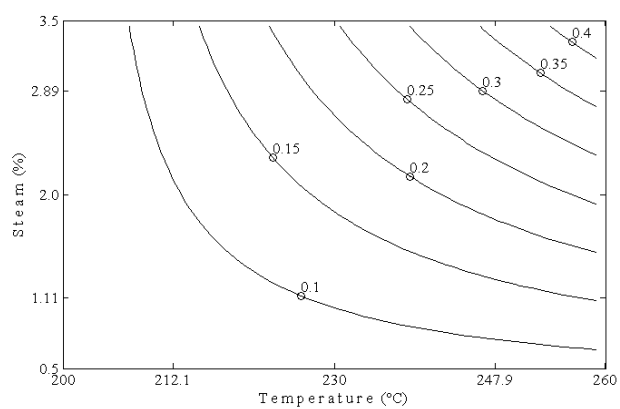


(b)

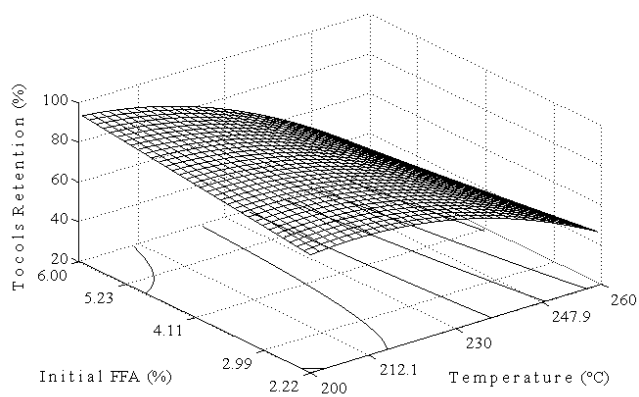
Influence of Initial Palm Oil Acidity on the Quality of the Refined Product



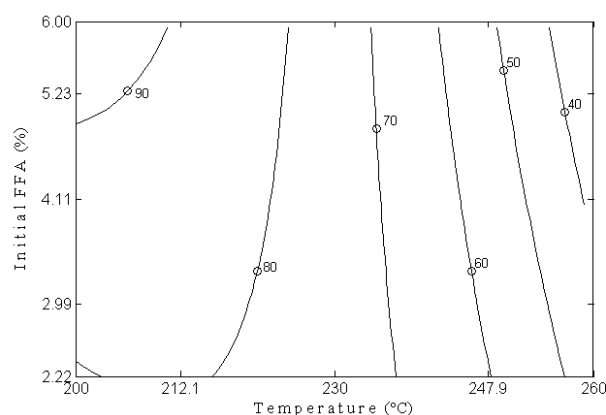
(c)



(d)



(e)



(f)

Figure 5.3.3.1. Response surface and contour curves as a function of temperature (°C) and steam (%) for final FFA (a, b), neutral oil loss (c, d), and tocols retention (e, f).

5.3.4 Analysis of Squalene and Phytosterols in Palm Oil Samples

Most of the minor components found in the unsaponifiable fraction of palm oil are sterols, higher aliphatic alcohols, pigments, and hydrocarbons. The most abundant types of phytosterols by far found in plants are β -sitosterol, stigmasterol, and campesterol. Palm oil is rich in phytosterols with 60 % of β -sitosterol and the remaining 38 % is stigmasterol and campesterol (Sambanthanurthi et al, 2000). Squalene is a hexaunsaturated hydrocarbon and is found mostly in vegetable and animal fats. It is a precursor in sterol biosynthesis and exhibits an antioxidant activity. Nevertheless, these compounds together with other volatiles can be removed during refining of the crude oil. The economic value of the deodorizer distillate is completely determined by the content in tocopherols and sterols.

In physical refining, degumming and bleaching hardly affected the total phytosterol content. After bleaching, a slight reduction in the total sterol content was observed (Table 5.3.4.1). According to Verleyen et al (2002b), this reduction might be explained by acid catalyzed hydrolysis of the steryl esters. As one can see in Table 5.3.4.1, a gradual reduction in the total sterol content due to distillation was observed as deodorization temperature and steam percentage increased. Comparing trials 9 and 10, increasing the deodorization temperature from 200 °C to 260 °C resulted in a gradual reduction of total

sterols retention from 97.8 % to 71.31 %. A comparison of trials 1 and 3 showed that increasing the steam percentage from 1.11 % to 2.89 % promoted a reduction of total sterols retention from 97.5 % to 92.01 %. For trials 1 and 5, the temperature and steam percentage was maintained constant while the initial FFA increased from 2.99 % to 5.23 % resulting in practically unchanged values of sterols retention from 97.5 % to 97.1 %.

Table 5.3.4.1. Analysis of squalene and sterols.

Oil samples	Sterols ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)			Total of sterols	Squalene ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
	Campesterol	Stigmasterol	β -sitosterol		
CPO ^a	198.1 $\pm$ 8.99	77.4 $\pm$ 3.72	340.3 $\pm$ 16.03	615.8 $\pm$ 15.35	527.25 $\pm$ 22.92
BPO ^b	150.0 $\pm$ 5.76	74.0 $\pm$ 2.14	333.7 $\pm$ 7.37	565.7 $\pm$ 7.30	442.21 $\pm$ 13.79
Trial 1 ^c	154.4 $\pm$ 5.35	72.4 $\pm$ 3.85	324.6 $\pm$ 13.04	551.4 $\pm$ 19.22	347.14 $\pm$ 7.74
Trial 2 ^c	137.2 $\pm$ 9.73	60.4 $\pm$ 5.72	270.9 $\pm$ 6.60	468.5 $\pm$ 12.33	158.25 $\pm$ 6.25
Trial 3 ^c	145.5 $\pm$ 7.27	65.4 $\pm$ 3.05	309.3 $\pm$ 11.93	520.5 $\pm$ 15.85	263.92 $\pm$ 2.84
Trial 5 ^c	154.9 $\pm$ 5.49	72.8 $\pm$ 6.58	321.7 $\pm$ 9.97	549.4 $\pm$ 22.20	359.18 $\pm$ 12.22
Trial 9 ^c	154.2 $\pm$ 5.89	73.6 $\pm$ 3.06	325.2 $\pm$ 10.25	553.0 $\pm$ 10.07	371.81 $\pm$ 38.62
Trial 10 ^c	125.8 $\pm$ 3.19	49.3 $\pm$ 1.10	228.5 $\pm$ 6.22	403.6 $\pm$ 9.72	112.62 $\pm$ 2.42

^a Crude palm oil;

^b Bleached palm oil;

^c For detailed information of the process conditions see Table 5.2.2.1.1.

5.4 Conclusion

The effect of the palm oil quality measured by its initial acidity revealed to be statistically significant on the cases of final acidity and tocopherol retention of the refined product. Nevertheless, considering that final acidity needs to fit a certain value, the quality of ending product will determine the conditions of time and temperature required to the refining process. As indicated by the statistical analysis the evaporation of tocols, the degradation of carotenes and sterols and squalene content are directly related to the definition of the refining conditions (time and temperature). In this way, the initial oil acidity is a relevant aspect for determining the quality of the refined product, including its nutraceutical content. In fact, the carotenes are totally destroyed when the refining is performed at temperatures higher than 212 °C/60 min. Besides, the losses of tocols and sterols are increased, reducing the oil quality and stability.

Acknowledgments

The authors wish to acknowledge FAPESP (2010/16634-0, 2008/56258-8) and CNPq (306250/2007-1, 301999/2010-4, 304495/2010-7) - for their financial support, Agropalma S/A, Companhia Refinadora da Amazônia, for kindly supplying the samples of crude palm oil, and Desmet Ballestra for opening its installation to perform the experiments.

References

A.O.C.S. (1998). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, AOCS, USA.

Box, G. E. P., & Hunter, J. S. (1978). Statistic for Experimenters – An Introduction to Design, Data Analysis, and Model Building. John Wiley & Sons, New York, USA.

Ceriani, R., Meirelles, A. J. A. & Gani, R. (2010). Simulations of Thin-Film Deodorizers in Palm Oil Refining. *Journal of Food Process Engineering*, 33, 208-225.

De Greyt, W. F., Kellens, M. J., & Huyghebaert, A. D. (1999). Effect of physical refining on selected minor components in vegetable oils. *Fett/Lipid*, 101, 428–472.

García, A. Ruiz-Méndez, M. V., Romero, C. & Brenes, M. (2006). Effect of Refining on the Phenolic Composition of Crude Olive Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83, 159–164.

Gee, P. T. (2007). Analytical characteristics of crude and refined palm oil fractions. *European Journal of Lipid. Science and Technology*, 109, 373 – 379.

Gibon, V., De Greyt, W. & Kellens, M. (2007). Palm oil refining. *European Journal of*

Lipid. Science and Technology, 109, 315-335.

Junqueira, R. M., Castro, I. A., Areas, J. A. G., Silva, A. C. C., Scholz, M. B. S., & Mendes, S. (2007). Application of response surface methodology for the optimization of oxidants in wheat flour. *Food Chemistry*, 101, 131–139.

Martinello, M., Hecker, G., & Pramparo, M. del C. (2007). Grape seed oil deacidification by molecular distillation: Analysis of operative variables influence using the response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 81, 60-64.

Rossi, M., Gianazza, M., Alamprese, C. & Stang, F. (2001). The Effects of Bleaching and Physical Refining on Color and Minor Components of Palm Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78, 1051–1055.

Saad, B., Ling, C W., Jab, M. S., Lim, B. P., Ali, A. S. M., Wai, W. T. (2006). Determination of free fatty acids in palm oil samples using non-aqueous flow injection titrimetric method. *Food Chemistry*, 102, 1407-1414.

Sampaio, K. A., Ceriani, R., Silva, S. M., Taham, T. & Meirelles, A. J. A. (2010). Steam Deacidification of Palm Oil, Food and Bioproducts Processing, doi:10.1016/j.fbp.2010.11.012.

Silva, S. M., Sampaio, K. A., Taham, T., Rocco, S. A., Ceriani, R., & Meirelles, A. J. A. (2009). Characterization of Oil Extrated from Buriti Oil (*Mauritia flexuosa*) Grown in the Brazilian Amazon Region. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86, 611-616.

Sambanthamurthi, R., Sundram, K., Tan, Yew-Ai. (2000) Chemistry and biochemistry of palm oil, *Progress in Lipid Research*, 39, 507-558.

Tan, C.-H., Ghazali, H. M., Kuntom, A., Tan, C.-P. & Ariffin, A. A. (2009). Extraction and

physicochemical properties of low free fatty acid crude palm oil. *Journal of Food Engineering*, 113, 645-650.

Tubaileh, R. M., Garrido-Fernández, A., Ruiz-Mendez, M. V., León-Camacho, M., & Graciani-Constante, E. (2002). Effects of physical refining on content of waxes and fatty alcohols of refined olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79, 101–104.

Verleyen, T., Sosinska, U., Loannidou, S., Verhe, R., Dewetinck, K., & Huyghebaert, A. (2002a). Influence of the vegetable oil refining process on free and esterified sterols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79, 947–953.

Verleyen, T., Forcades, M., Verhé, R., Dewettinck, K., Huyghebaert, A., & De Greyt, W. (2002b). Analysis of Free and Esterified Sterols in Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 79, 117–122.

Capítulo 6. Free Fatty Acid Formation During Steam Deacidification

Klicia Araújo Sampaio¹, Jose Vila. Ayala², Roberta Ceriani³, Roland Verhé⁴,
and Antonio José Almeida. Meirelles^{1*}

¹ Faculty of Food Engineering, University of Campinas (UNICAMP), Rua Monteiro
Lobato, 80, 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil (tomze@fea.unicamp.br)*

²Desmet Ballestra, R & D Center, 1935, Zaventem, Belgium

³ Faculty of Chemical Engineering, University of Campinas (UNICAMP), Avenida Albert
Einstein, 500, 13083-852, Campinas, São Paulo, Brazil

⁴ Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University (UGENT), Coupure Links, 653,
9000, Ghent, Belgium

Trabalho a ser submetido à revista **Food and Bioprocess Technology**, ISSN: 1935-
5130.

Keywords

Palm oil, Hydrolysis, High temperatures, Physical refining, Neutral oil loss.

Abstract

This work presents a study on the occurrence of hydrolysis of triacylglycerol during the physical refining process. The experiments were performed using refined bleached and deodorized (RBD) palm oil since the free fatty acids (FFA) formation rate is relatively low and it is easier to measure the occurrence of hydrolysis in oils with initial low acidity. In these experiments, it was verified the effect of three variables (stripping time, steam flow rate, and temperature) on the hydrolysis of neutral oil. The highest percentages of FFA in the oil and the lowest percentages of FFA on the distillate were obtained by applying high steam flow rates associated with reduced stripping times. It was also observed that the generation of FFA increases with the increase of the percentage of steam injected on the oil as well as with the temperature rise. The kinetic parameters for the hydrolysis of neutral oil were determined assuming that it follows a first-order reaction. The dependence of the rate constant with temperature obeyed Arrhenius relationship. The activation energy of the hydrolysis of triacylglycerols was found to be $101.84 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

6.1 Introduction

Crude vegetable oils are mainly composed of triacylglycerols (around 95 %) along with some free fatty acids (FFA), monoacylglycerols (MAG), and diacylglycerols (DAG). They also contain varying amounts of other minor components such as phospholipids, free and sterified sterols, tocopherols and tocotrienols, carotene, chlorophylls, odor-causing substances and hydrocarbons as well as traces of metals. In crude oils, the FFA, which are commonly named as oil acidity, are generated by the hydrolysis of TAG during the handling of the oilseeds (Gunstone, 2005).

Only a small number of crude fats and oils are suitable for human consumption before they have been processed in some manner. Edible oils are refined in order to remove

unacceptable materials with the least possible loss of oil and desirable compounds. Processing techniques such as chemical refining (alkali refining) or physical refining can produce flavorless and odorless fats and oils with reduced acidity (O'Brien, 2004).

Conventional alkali refining consists of four successive operations: degumming, deacidification, bleaching, and deodorization. It is mostly applied on oils with low acidity since high acidity oils can lead to excessive losses of neutral oil during the caustic refining process. Physical refining and deodorization processes in the oil industry are intended to vaporize odoriferous compounds and FFA from the oil. They are based on the large differences in volatility between the oil and the majority of its unwanted substances, and are accomplished by applying high temperatures and low pressures (Sampaio et al., 2010; Martinello et al., 2007). However, the condition of high temperatures (up to 260 °C) associated with the presence of steam, which improves the separation of FFA from the oil, also eases the occurrence of side reactions such as hydrolysis of triacylglycerols (Gibon et al., 2007). Usually the amount of live steam used in the physical refining varies from 1 % to 1.5 % of the oil mass, and in case of batch processes, this steam amount is evenly distributed and injected along the whole stripping period (Verleyen et al., 2002).

There are three stepwise hydrolysis reactions, with intermediate formation of diacylglycerols (DAG) and monoacylglycerols (MAG), resulting in the production of 3 molecules of free fatty acids (FFA) and 1 molecule of glycerol. The overall reaction is:



The stepwise reactions are:



Reactions converting acids to esters or vice versa and the exchange of ester groups are among the most widely used in fatty acid and lipid chemistry. Applications range from

microscale preparation of methyl esters for GC analysis to the industrial production of oleochemicals and biodiesel. The exchange of groups is usually carried out by the aid of a catalyst. The catalyst can be an acid, base, or a lipolytic enzyme. Nevertheless, it can also occur as an uncatalyzed reaction between fats and water dissolved in the fatty phase at suitable temperatures and pressures (Scrimgeour, 2005). According to Petrauskaitė et al. (2000) during the physical refining of coconut oil the extra produced FFA varies between 0.015 and 0.020 %, while Sampaio et al. (2010) found increases from 0.009 % to 0.166 % when analyzing refined palm oil after the cooling of the oil batch.

There is not much information about hydrolysis of triacylglycerols during the refining process. Thus, the objective of this work is to verify the effect of the stripping time, steam flow rate, and temperature on the formation of FFA during the physical refining process. For all experiments, the pressure of the deodorizer was kept between 2.2 – 2.5 mbar.

6.2 Material and Method

6.2.1 Palm Oil Sample

Refined bleached deodorized (RBD) palm oil was kindly provided by Desmet Ballestra – Belgium. Its initial acidity was 0.055 %, expressed as oleic acid. All chemicals used were analytical grade. The RBD palm oil was stored in a cold room (10 °C) until analysis.

6.2.2 Experimental Procedure

The experiments were performed by using refined bleached and deodorized (RBD) palm oil, which presents low FFA content. Physical refining experiments were conducted in a laboratory-scale batch deodorizer (Desmet Ballestra, Zaventem – Belgium). The RBD palm oil (300 g) was introduced in a glass batch deodorizer (1000 ml flask) and placed in a hot air oven (Heraeus, Germany) with controlled and monitored temperature. The oil occupied about one third of the volume of the glass flask. After degassing, under a low absolute pressure (8 mbar), the oil was heated to the desired process temperature. Then the

pressure was reduced (2.2 – 2.5 mbar) and when the oil temperature reached the given value, the flow rate of the stripping gas was started. The steam injection was set by adjusting the water flow rate via a microperistaltic pump. Water was vaporized in a stainless steel heating coil, which was placed inside the deodorizer oven, preventing fluctuations in flow rate and avoiding droplet entrainment. Water and the live steam, after the microperistaltic pump, were under the same vacuum prevailing inside the deodorizer flask.

After the deodorization process was completed, the oil was cooled under vacuum to a temperature lower than 80 °C. The deacidified oil was weighed to allow calculating the formation of FFA and the loss of neutral oil by difference. In the present work, the neutral oil was considered as the whole acylglycerol portion of RBD palm oil, in this way also including the partial acylglycerols. The distillate was quantitatively recovered by repeated washing steps of the deodorizer upper part (condenser) and the walls of distillate flask with a mixture of hexane and isopropanol. The solution was quantitatively transferred to a rotary evaporator, the solvents vaporized under vacuum and a temperature not higher than 65 °C, and the final distillate mass was weighed. Then the distillate and oil samples were stored in opaque glass vessels under nitrogen atmosphere at -18 °C until further analysis.

6.2.3 Analysis

In all trials, samples of the refined oil and the distillate were analyzed. The FFA content was determined by titration and expressed as percentage of oleic acid, according to the official method Ca 5a-40 (AOCS, 1998).

6.2.4 Hydrolysis Kinetics of Neutral Oil

Kinetic evaluation is necessary to derive basic kinetic information for a system in order to describe the reaction rate as a function of experimental variables and to predict changes in a particular food during processing. In general, food exhibits a zero-, first- or second-order models, or sometimes and nth-order model (Van Boekel, 1996). According to Brockmann et al. (1987), the hydrolysis of triacylglycerols corresponds to a standard equation of first order reaction, which is given in Equation 6.2.4.1:

$$C = C_0 \exp(-\kappa t) \quad (6.2.4.1)$$

where C is the concentration at time t ; C_0 is the concentration at time zero; k is the first-order rate constant (h^{-1}); t is the refining process time (h^{-1}).

The rate constant is generally temperature dependent. Therefore, the temperature dependence of the hydrolysis reaction was assumed to follow an Arrhenius-type behavior, as shown in Equation 6.2.4.2:

$$k = k_0 \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (6.2.4.2)$$

where k , k_0 , E_a , T , and R are respectively the rate constant (h^{-1}), the pre-exponential factor (h^{-1}), the activation energy ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$), the oil temperature (K) assumed to be constant during the thermal treatment, and the gas constant ($8.314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\text{K}^{-1}$).

6.2.5 Statistical Analysis

All the measurements in this study were made in triplicate. Kinetic data were analyzed by regression analysis to obtain the relation of the hydrolysis of triacylglycerols and temperature using the MS Excel (Washington, USA). Correlation coefficient (R^2) and standard error of the mean (SEM) were calculated to determine the goodness of the fit.

6.3 Results and Discussion

During the refining process, the hydrolysis of triacylglycerols can take place under different conditions of the process variables. Thus, it was studied some combinations of the most important variables in order to obtain their effect on the hydrolysis of TAG. Initially, it was tested variable steam flow rates while considering the same process temperature (260°C) and a range of stripping time (0.5 h to 2.5 h). In a second step, the investigation was focused on the effect of the stripping time (0.5 h to 2.5 h) for constant steam flow rate ($0.1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$) and temperature (260°C). In the last step, it was evaluated different refining temperatures (260°C to 230°C), while keeping constant stripping time (2.5 h or 1 h) and

steam flow rate ($0.1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$).

Moreover, the repeatability of the trials for a determined temperature/stripping time and steam flow rate ($260 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 1 h, $0.1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$) was tested. This trial was repeated three times in order to obtain the standard deviations (SD) of the experimental results taking into account the influence of the uncertainties in all experimental conditions. The following results were obtained for these repeated trials: final oil acidity (0.080 ± 0.001 expressed as % of oleic acid), distillate acidity (32.86 ± 1.39 expressed as % of oleic acid), neutral oils loss (0.432 ± 0.007 % of the initial neutral oil mass). Note that the standard deviation is relatively high only in the case of the distillate acidity, indicating that this variable is more influenced by the set of uncertainties in the operational conditions. In fact, this standard deviation is higher than the uncertainty that can be attributed only to the distillate acidity analysis, whose values varies within the range 0.16 to 0.35 % for the whole set of experiments.

6.3.1 Variable Flow Rate and Constant Temperature

Table 6.3.1.1 presents the variables used and the results obtained in the first part of the hydrolysis investigation. Trials were performed considering variable flow rate and fixed temperature ($260 \text{ }^{\circ}\text{C}$). The respective percentages of FFA that remained in the oil and were recovered on the distillate are given in Table 1. In these experiments, the percentage of steam was fixed (1 %) and, as a consequence, the steam flow rate decreased with the increase of the stripping time.

From Table 6.3.1.1, it is possible to verify that the highest percentages of FFA in the oil and the lowest percentages of FFA in the distillate were obtained when applying high steam flow rates associated with reduced stripping times. According to Sampaio et al. (2010), that happened due to the fact that a higher steam flow rate is capable of not only causing the hydrolysis of TAG, but also increasing the evaporation rate of partial acylglycerols and the losses of neutral oil by entrainment to the distillate, reducing the relative acidity when analyzing the total collected mass of distillate. It is also important to highlight that, the increase in the evaporation rate of partial acylglycerols should be expected if taken into account that higher hydrolysis rates necessarily cause higher generation of mono and diacylglycerols, which constitutes the major part of the neutral oil

loss. Note that these conclusions are still valid even when considering the higher standard deviation of the distillate acidity indicated by the repeatability tests ($SD = \pm 1.39 \%$).

When observing trials 4 and 5, it can be seen that the percentage of FFA in the oil becomes practically constant, which is a result of the small variations in the steam flow rate between these experiments. According to Carlson (1996), the final FFA of the refined oils cannot be lower than 0.005% due to the hydrolysis of triacylglycerols, which is caused by the high temperatures and the presence of the stripping gas, usually steam.

Table 6.3.1.1. Hydrolysis of neutral oil considering constant temperature and variable steam flow rate.

Trial	Stripping time (h)	Steam ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$)	FFA (%) ^a		Distillate (g)	NOL (%) ^b
			Oil	Distillate		
1	0.5	0.100	0.082	33.96	1.231	0.271
2	1.0	0.050	0.074	38.16	1.493	0.308
3	1.5	0.033	0.068	38.57	1.826	0.374
4	2.0	0.025	0.069	39.47	1.878	0.379
5	2.5	0.020	0.069	39.74	2.010	0.404

^a Values were expressed as % of oleic acid; The standard deviation (SD) of the oil acidity varied from 0.001 to 0.002 %; The SD of distilled from 0.24 to 0.32 %;

^b Neutral oil loss.

The influence of the process conditions on the hydrolysis occurrence can be well observed through the analysis of two variables that were calculated: the extra FFA-concentration remaining in the oil (Equation 6.3.1.1) and the total FFA-concentration generated by hydrolysis (Equation 6.3.1.2). For evaluating both variables, the initial oil acidity was diminished and the loss of neutral oil was also taken into account during each time interval.

$$C_{FFA,E} = \left[\frac{m_{oil,f} \times C_{FFA,f}^{Oil} - m_{oil,i} \times C_{FFA,i}^{Oil}}{m_{oil,i}} \right] \quad (6.3.1.1)$$

$$C_{FFA,T} = \left[\frac{m_{D,f} \times C_{FFA}^D + m_{oil,f} \times C_{FFA,f}^{Oil} - m_{oil,i} \times C_{FFA,i}^{Oil}}{m_{oil,i}} \right] \quad (6.3.1.2)$$

where $C_{FFA,E}$ is the extra FFA-concentration in the oil (% by mass); $m_{oil,f}$ is the final mass of oil in the deodorizer flask (g); $C_{FFA,f}^{Oil}$ is the final FFA-concentration in the oil (% by mass); $m_{oil,i}$ is the initial mass of oil in the deodorizer flask (g); $C_{FFA,i}^{Oil}$ is the initial FFA-concentration in the oil (% by mass); $C_{FFA,T}$ is the total FFA-concentration generated by hydrolysis (% by mass); $m_{D,f}$ is the final mass of distillate recovered (g); C_{FFA}^D is the FFA-concentration in the distillate (% by mass).

Figure 6.3.1.1 shows the effect of the stripping time while keeping constant temperature (260 °C) and pressure (2.2 – 2.5 mbar) of the system. It should be considered that a lower stripping period corresponds to a higher steam flow rate, because the steam percentage is kept constant at 1 %. It can be seen that for higher steam flow rates (lower stripping periods) higher percentages of extra produced FFA-concentration are obtained in the oil. This occurs because the influence of steam flow rates on the generation of free fatty acidity by hydrolysis is more significant than on the evaporation rate of FFA.

From the same figure, it is possible to verify that the total amount of FFA after each trial increased with the increase of the stripping time. Probably the reason is that the degradation of triacylglycerols occurred during a longer time, therefore facilitating the FFA formation and its volatilization to the distillate. It can be well observed in the last trial, considering 2.5 h of stripping time and 0.020 ml·min⁻¹ of steam flow rate, where higher percentages of total FFA were obtained.

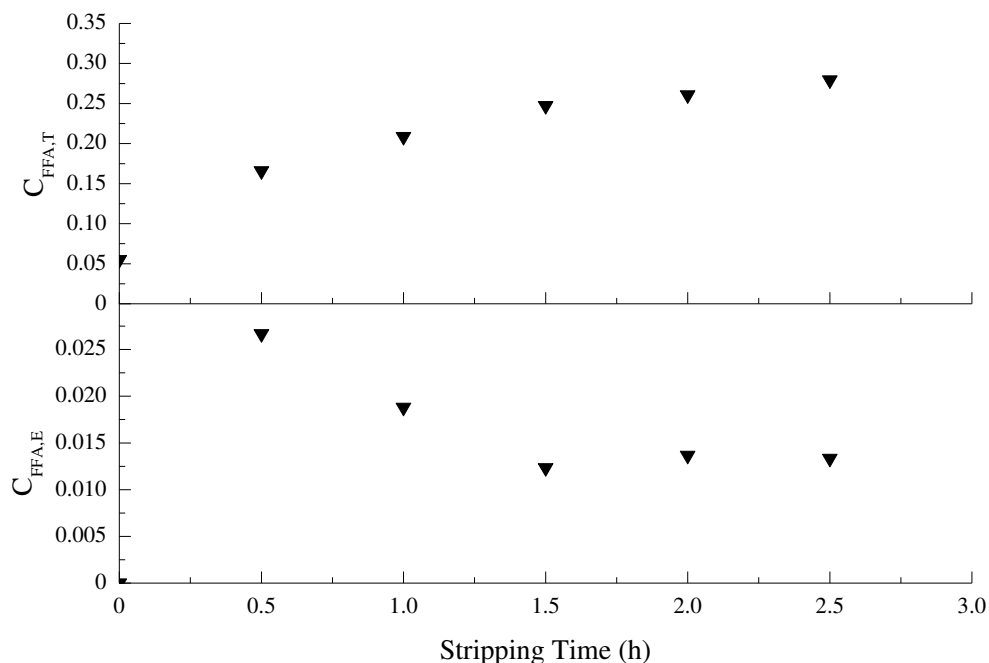


Figure 6.3.1.1. Extra produced and total FFA-concentration in the RBD palm oil while keeping constant temperature and pressure on the physical refining.

6.3.2 Constant Flow Rate and Temperature

Table 6.3.2.1 shows the experimental data obtained from trails using RBD palm oil at constant flow rate ($0.1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$) and constant temperature ($260 \text{ }^{\circ}\text{C}$). The extra FFA-concentration in the oil and the total FFA-concentration generated by hydrolysis are shown in Figure 6.3.2.1. As it was observed for the variable flow rate, the amount of FFA in the oil decreased with the increase of the stripping time.

Comparing the two types of experiments, i.e., considering variable and constant flow rate, it is possible to verify that the main difference between both sets of results are the larger amount of distillate obtained for the constant flow rate case. Note that although the free acidity in the distillate has lower values for this last case, the total amount of acidity evaporated was larger, indicating higher hydrolysis of TAGs. In fact, a higher steam flow rate increases the hydrolysis rate as well as the evaporation rate. Furthermore, the simultaneous generation of partial acylglycerols and the increase of the oil entrainment along with the stripping time potentially increase the corresponding loss of neutral oil in the distillate, decreasing the relative FFA-concentration in the distillate.

Table 6.3.2.1. Hydrolysis of neutral oil considering constant temperature and steam flow rate (260 °C/0.1 ml·min⁻¹).

Trial	Stripping time (h)	FFA (%) ^a		Distillate (g)	NOL (%) ^b
		Oil	Distillate		
1	0.5	0.082	33.96	1.231	0.271
2	1.0	0.081	31.60	2.036	0.464
3	1.5	0.081	28.43	2.940	0.702
4	2.0	0.069	26.83	4.033	0.984
5	2.5	0.068	25.12	4.728	1.181

^a Values were expressed as % of oleic acid; The standard deviation (SD) of the oil acidity varied from 0.001 to 0.002 %; The SD from the distilled 0.16 to 0.35 %;

^b Neutral oil loss.

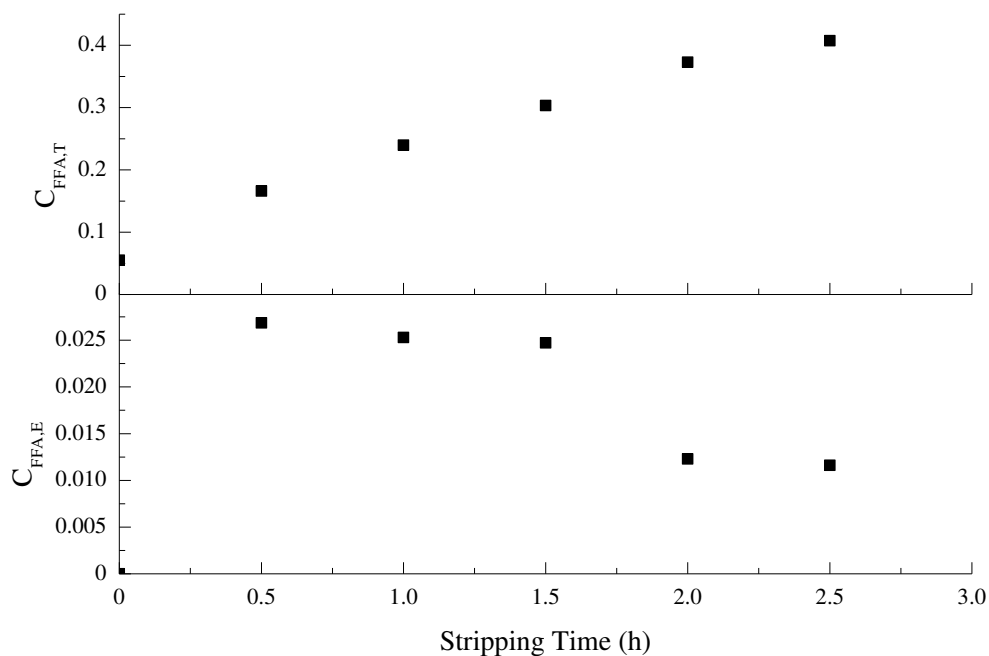


Figure 6.3.2.1. FFA-concentration in the oil and total FFA-concentration formed during the physical refining process of RBD palm oil.

6.3.3 Experiments Varying Process Temperature

Table 6.3.3.1 presents the results of the hydrolysis of triacylglycerols when applying

different process temperatures. As it was expected, the generation of FFA increases with the increasing of the process temperature. However, as it can be seen in Table 6.3.3.1, the FFA-concentration is reduced on the distillate, since high temperatures also favor a higher generation and evaporation of partial acylglycerols to the distillate, thus decreasing the relative FFA-concentration in the total collected distillate mass.

Table 6.3.3.1. Hydrolysis of neutral oil considering constant stripping time and steam flow rate ($0.1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$).

Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	FFA (%) ^a		Distillate (g)	NOL (%) ^b
	Oil	Distillate		
230 ^c	0.145	34.59	1.036	0.226
240 ^d	0.101	37.79	0.697	0.145
240 ^c	0.116	31.89	1.727	0.392
250 ^d	0.094	35.32	1.258	0.271
250 ^c	0.098	28.26	2.879	0.689
260 ^c	0.068	25.12	4.728	1.181

^a Values were expressed as % of oleic acid; The standard deviation (SD) of the oil acidity varied from 0.002 to 0.006 %; The SD of distillate varied from 0.14 to 0.32 %;

^b Neutral oil loss;

^c Experiments performed during 2.5 h;

^d Experiments performed during 1 h.

The analysis of the FFA-concentration in the oil reveals that it increases with the decreasing of the process temperature. That might happens because at lower temperatures the rate of generation of FFA in the oil is higher than the rate of its evaporation, then resulting in higher FFA-concentrations in the oil. In other words, the temperature effect upon the FFA-volatility is higher than upon the kinetics of the hydrolysis reaction.

Figure 6.3.3.1 shows the effects of the variation of the process temperature on the extra FFA-concentration in the oil and on the total FFA-concentration generated by hydrolysis for a period of 2.5 h. The observed behavior is according to the discussion previously provided, with low extra produced FFA-concentration remaining in the oil and high total FFA-concentration for the higher temperatures.

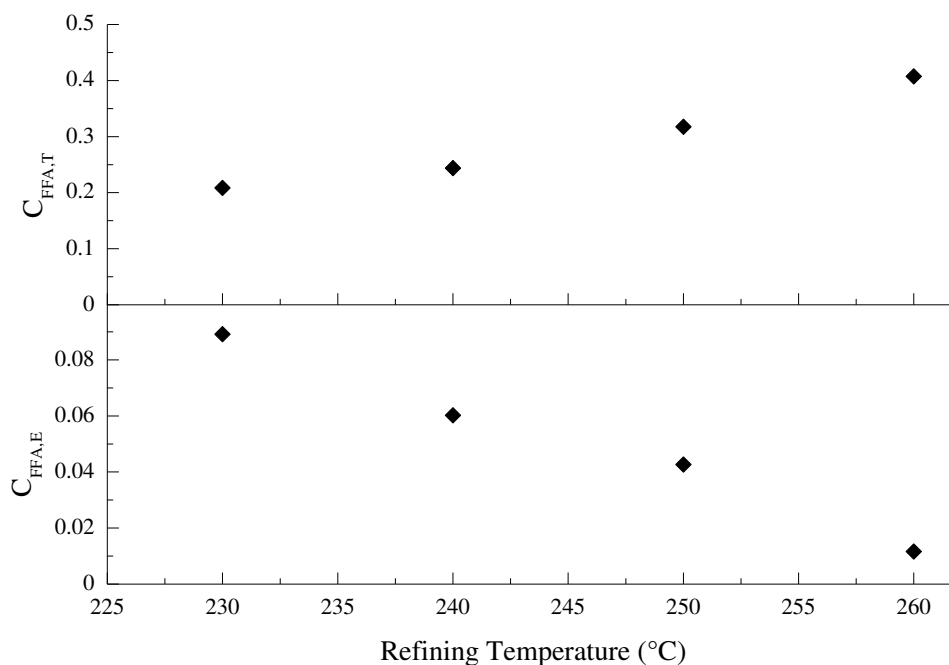


Figure 6.3.3.1. FFA-concentration in the oil and total FFA-concentration formed during the physical refining process of RBD palm oil at different temperatures and constant stripping time (2.5 h).

6.3.4 Calculation of Kinetics Parameters

In order to obtain the kinetic parameters that better describe the hydrolysis of triacylglycerols during the physical refining, it was performed trials at different temperatures (230 °C to 260 °C) while keeping constant the stripping time (0 to 2.5 h) and the steam flow rate ($0.1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$). The number of experiments performed at each temperature varied from one to the other temperature value. This occurs because at lower temperatures, the amount of distilled mass decreased and the recovery of an amount of distillate that can be precisely evaluated requires higher stripping times. In this way, the temperature of 230 °C was tested only for the higher stripping time (2.5 h) (Table 6.3.3.1), while for the temperatures of 240 °C and 250 °C experiments were performed for 1 h and 2.5 h (Table 6.3.3.1). In case of 260 °C, 5 trials were conducted (Table 6.3.2.1).

RBD palm oil is composed mainly of triacylglycerols (93 %), however in its composition it is possible to find significant levels of partial acylglycerols (0.08 % of MAG

and 6.9 % of DAG) (Sampaio, et al., 2010). In order to estimate the kinetic parameters involved on the hydrolysis of neutral oil it was assumed that the initial oil was composed only of TAG and free fatty acids (FFA). Naturally, this assumption is an approximation, but it reflects the fact that the amount of TAG in the neutral oil ($\cong 93$ %) is much higher than the concentration of partial acylglycerols ($\cong 7$ %), so that the probability that the hydrolysis reaction occurs for TAG-molecules is much higher than for the other molecules. On the other hand, real fatty systems are complex mixtures, involving at least different fatty acids and different TAG-molecules, so that rate constants for this type of system should be considered as apparent ones, reflecting the average composition of the system and/or the different steps of whole hydrolysis reaction. An alternative approach would require model systems composed of a unique simple TAG that liberates a unique type of fatty acid.

As suggested by Brockmann et al. (1987), the experimental data measured in the present work were treated considering a first-order reaction kinetic (Equation 6.2.4.1). Figure 6.3.4.1 shows the representative values for the first order plots of the hydrolysis of triacylglycerols for RBD palm oil at 230 °C, 240 °C, 250 °C and 260 °C, respectively. Correlation coefficients higher than 0.990 were obtained in all cases for the hydrolysis of neutral oil in RBD palm oil. Table 6.3.4.1 documents the rate constants and the coefficient correlation as a function of temperature.

The effect of temperature on the rate constants of hydrolysis of triacylglycerols is shown in Figure 6.3.4.2. The results indicate that the dependence of rate constant follows the Arrhenius equation ($R^2 = 0.998$) (Equation 6.2.4.2). The E_a for the hydrolysis process was found to be $101.84 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Although prior works emphasize the occurrence of hydrolysis of triacylglycerols during steam deodorization (Szabo Sarkadi, 1959; Petrauskaitė et al., 2000; Carlson, 1996; Brockmann et al., 1987), no previous study on the kinetic behavior of the hydrolysis reaction during physical refining of oils was found in the literature. Thus, a comparison with the rate constants and activation energy obtained in the present work was not possible.

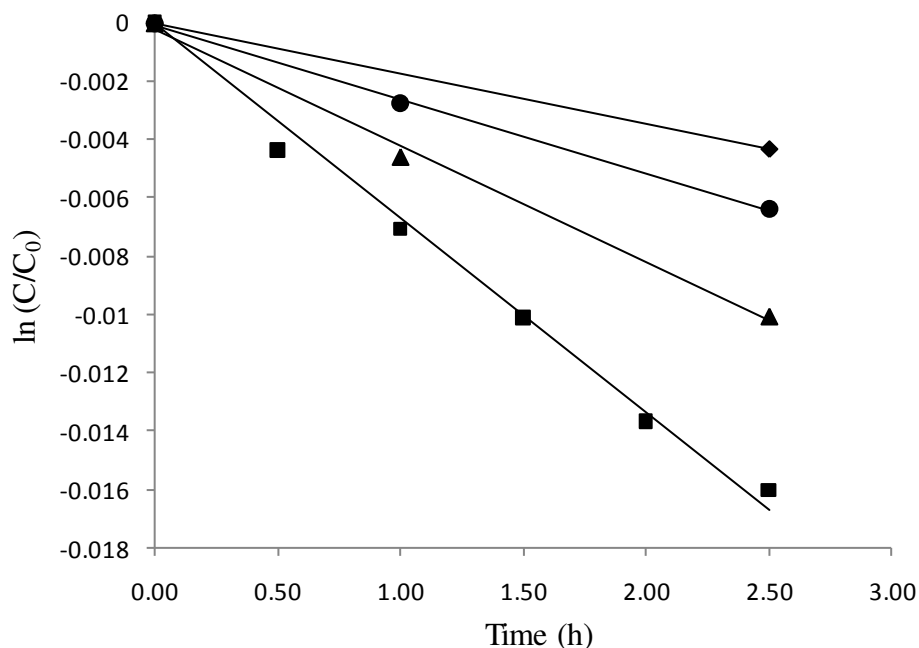


Figure 6.3.4.1. First order plots for the hydrolysis of triacylglycerols in RBD palm oil at four temperatures: 230 °C (♦), 240 °C (●), 250 °C (▲) and 260 °C (■).

Table 6.3.4.1. Rate constant (k) and correlation coefficient (R^2) for hydrolysis of triacylglycerols in RBD palm oil.

Temperature (°C)	k (h ⁻¹)	R^2
230 ^a	0.0067	1.000 ^a
240	0.0041	0.993
250	0.0026	0.995
260	0.0017	0.990

^a Experiment performed only for the last stripping time (2.5 h), so that only two concentration values are available for the fitting procedure.

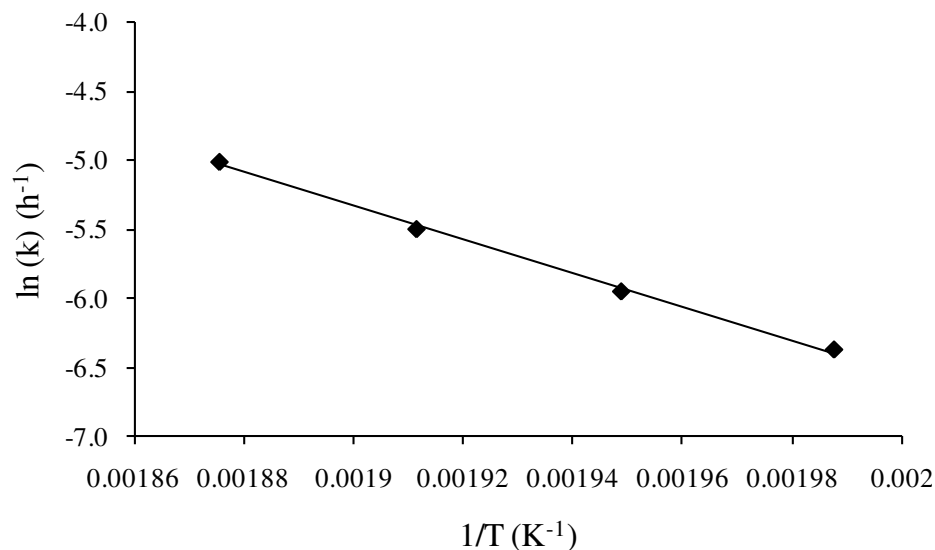


Figure 6.3.4.2. Arrhenius plot for the hydrolysis of neutral oil in RBD palm oil.

6.4 Conclusion

Free fatty acids (FFA) formation was investigated for RBD palm oil at different temperatures, steam flow rates, and stripping times. The highest percentages of FFA on the oil and the lowest percentages of FFA on the distillate were obtained when applying high steam flow rates associated with reduced stripping times. Besides, it was observed that higher steam flow rates associated with higher temperatures also increases the hydrolysis of neutral oil during physical refining. The kinetic study revealed that first-order reaction presents a very good fit to the hydrolysis of neutral oil. The rate constant showed a strong dependence on the process temperature. In addition, it was also possible to verify that there is a higher loss of neutral oil when applying high temperatures and steam flow rates.

Acknowledgments

The authors wish to acknowledge FAPESP (2010/16634, 05/02079-7, 06/60053-7, 08/56258-8), CNPq (306250/2007-1, 471880/2007-8, 304495/2010-7) and European Union for their financial support, and the University of Ghent and Desmet Ballestra for kindly supplying the samples of RBD palm oil.

References

1. AOCS (1998) Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society (5th edition). AOCS Press. Champaign.
2. Brockmann R, Demmering G, Kreutzer U (1987) Fatty acids. In: Kaudy L, Rounsaville JF, Schulz A (ed) Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, pp. 245-275. Weinheim-VHC, Germany.
3. Carlson KF (1996) Deodorization. In: Hui YH (ed) Bailey's Industrial Oil and Fat Products (5th edition). pp 339-391. John Wiley and Sons. New York, USA.
4. Gibon V, De Greyt W. & Kellens M (2007) Palm oil refining. European Journal of Lipid Science and Technology. 109(1), 315-335.
5. Gunstone FD (2005) Vegetable Oils. In: Shadidi F (ed) Bailey's Industrial Oil and Fat Product (6th edition), pp 217-215. John Wiley & Sons. New Jersey, USA.
6. Martinello M, Hecker G & Pramparo MdelC (2007) Grape seed oil deacidification by molecular distillation: Analysis of operative variables influence using the response surface methodology. Journal of Food Engineering, 81(1), 60-64.
7. O'Brien RD (2004) Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications (2nd edition), CRC Press LLC, New York, USA.
8. Petrauskaitė V, De Greyt WF & Kellens MJ (2000) Physical Refining of Coconut Oil: Effect of Crude Oil Quality and Deodorization Conditions on Neutral Oil Loss. Journal

of the American Oil Chemists' Society, 77(6), 581-586.

9. Sampaio KA, Ceriani R, Silva SM, Taham T & Meirelles AJA (2010). Steam Deacidification of Palm Oil. Food and Bioproducts Processing, doi:10.1016/j.fbp.2010.11.012.
10. Scrimgeour C (2005) Chemistry of Fatty acids. In: Shadidi F (ed) Bailey's Industrial Oil and Fat Product (6th edition), pp 10-20. John Wiley & Sons. New Jersey, USA.
11. Szabo Sarkadi SD (1959) Hydrolysis during Deodorization of Fatty Oils. Catalytic Action of Fatty Acids. Journal of the American Oil Chemists' Society, 36, 143-145.
12. Van Boekel MAJS (1996) Statistical aspects of kinetic modeling for food science problems. Journal of Food Science, 61(3), 477-485.
13. Verleyen T, Sosinska U, Ioannidou S, Verhé R, Dewettinck K, Huyghebaert A & De Greyt W (2002) Influence of the Vegetable Oil Refining Process on Free and Esterified Sterols. Journal of the American Oil Chemists' Society, 79(10), 947-953.

Capítulo 7. Conclusões Gerais

Este trabalho de tese foi elaborado de forma a cumprir quatro objetivos principais:

- Investigação experimental da desacidificação por via física em batelada de óleo de palma, formado por sistemas modelo compostos por estearina/oléina refinadas adicionadas de ácido oléico;
- Determinação da cinética de degradação de carotenóides para experimentos similares a desacidificação por via física do óleo de palma;
- Análise experimental da desacidificação por via física em batelada para óleo de palma branqueado adicionado de ácido oléico, simulando a variabilidade da qualidade da matéria prima em relação a sua acidez inicial;
- Estudo da formação de ácidos graxos livres a partir da hidrólise do óleo neutro durante o processo de desacidificação física, incluindo a determinação dos parâmetros cinéticos envolvidos.

A primeira etapa deste trabalho consistiu no estudo do processo de desacidificação por via física utilizando sistemas-modelo formados a partir de misturas das frações de óleo de palma (estearina e oleína) com o ácido oléico comercial. Os resultados experimentais obtidos foram extremamente satisfatórios, com baixos desvios médios relativos para os balanços globais e por componentes, evidenciando o cuidado na realização destes. Através da análise dos dados experimentais e de sua posterior análise estatística, verificou-se que a temperatura e a porcentagem de vapor exerceram efeito predominante para as respostas acidez final do óleo e perda de óleo neutro. Contudo, a fração estearina/oleína também se mostrou estatisticamente significativa enfatizando a importância de se considerar a variabilidade da composição do óleo na seleção de melhores condições de processo.

Durante os experimentos de desacidificação foram realizadas diversas medidas de temperatura (termopares 1, 2 e 3) e pressão (manômetro de mercúrio e digital), tornando este trabalho sem precedentes em termos do monitoramento e controle das variáveis de processo. As diferenças medidas durante os experimentos de desodorização entre a

temperatura do óleo e a temperatura dos gases dentro do vaso de reação, demonstraram a provável ocorrência de refluxo, o que afeta não somente o tempo de desodorização, como também o conteúdo final de ácidos graxos livres, a perda de óleo neutro e a qualidade do óleo desodorizado.

Ainda em relação ao processo de desacidificação dos sistemas-modelo, as análises do óleo final após o resfriamento revelaram como resultados preliminares a ocorrência da reação de hidrólise, a qual é afetada principalmente pela temperatura, porcentagem de vapor e pelo tempo de exposição.

O estudo experimental da cinética de degradação térmica dos carotenóides no óleo de palma para temperaturas variando entre 170 °C e 230 °C, com coleta de amostras a cada 20 min durante um período total de 140 min, revelou a importância da realização de uma análise detalhada em uma matriz alimentícia complexa, como é o caso do óleo de palma. Este, além de apresentar alto teor de carotenóides, também apresenta elevados níveis de tocóis (tocoferóis e tocotrienóis) em sua composição. Através das análises do conteúdo de carotenóides no tempo, foi possível testar diferentes ordens de reação para o processo, sendo que o perfil de degradação destes foi mais adequado a uma ordem de reação superior a 1. Este comportamento pode ser explicado devido à provável ação sinérgica entre os carotenóides e os tocóis, os quais de acordo com Takahshi et al. (2003) são responsáveis pelo atraso na degradação dos carotenóides devido sua potente ação antioxidante, aumentando o período de indução, que conduz a degradação dos carotenóides, pelo atraso na formação dos radicais de hidroperóxidos. A obtenção de informações cinéticas para sistemas alimentícios é de grande importância, pois torna possível a predição das prováveis mudanças ocorridas durante o processamento.

A etapa de avaliação do processo de desacidificação física do óleo de palma branqueado adicionado de acidez artificial teve como objetivo simular variações reais de qualidade do produto em relação a sua acidez inicial. O efeito da qualidade do óleo de palma medido a partir de sua acidez inicial foi estatisticamente significativo principalmente para a resposta acidez final do produto refinado. Este parâmetro se revelou pouco ou não significativo nas demais respostas estudadas. No entanto, como a acidez final deve atender parâmetros pré-estabelecidos, a qualidade do produto final vai determinar as condições de tempo e temperatura de processo, os quais são parâmetros determinantes na evaporação de

tocóis, esteróis e esqualeno provenientes do óleo. Além disso, com o aumento da temperatura ocorre a total destruição dos carotenóides presentes no óleo, o que afeta a qualidade do óleo e seu valor nutricional.

A finalização deste trabalho de tese se deu com o estudo da ocorrência de hidrólise durante o processo de desacidificação física. A partir dos resultados foi possível se verificar que as maiores concentrações de AGL no óleo e as menores concentrações de AGL no destilado foram obtidas para as maiores vazões de vapor associadas aos menores tempos de processo. O estudo da cinética de hidrólise do óleo neutro mostrou uma boa adequação dos dados à reação de primeira ordem. Além disso, observou-se ainda que as maiores perdas de óleo neutro foram obtidas quando da aplicação das maiores temperaturas e vazões de vapor.

7.1 Sugestões para Trabalhos Futuros

- Simulação computacional do processo de desacidificação por via física em batelada, com a inclusão das cinéticas químicas determinadas neste projeto, nas mesmas condições operacionais selecionadas nos experimentos para validação dos resultados, utilizando metodologia desenvolvida no grupo de pesquisa.
- Investigação da cinética de degradação térmica para o alfa e beta caroteno em óleo palma e verificação da ordem da reação.
- Investigação da hidrólise de óleo neutro usando sistemas modelo (tripalmitina/trioleína; estearina de palma; oleína de palma) para avaliar o efeito da composição utilizada.

APÊNDICE I: Cromatogramas referentes as análises de carotenóides e tocóis (tocoferóis e tocotrienóis) em óleo de palma

Conforme explicitado no texto, as análises de carotenóides e tocóis foram realizadas através da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Na maioria das análises, as corridas foram realizadas através de uma única injeção. As Figuras A1, A2, A3 e A4 apresentam os cromatogramas referentes aos resultados das análises de carotenóides e tocóis para diferentes temperaturas (170 °C, 190 °C, 210 °C e 230 °C) e tempos de processo (20 min, 60 min, 80 min e 100 min).

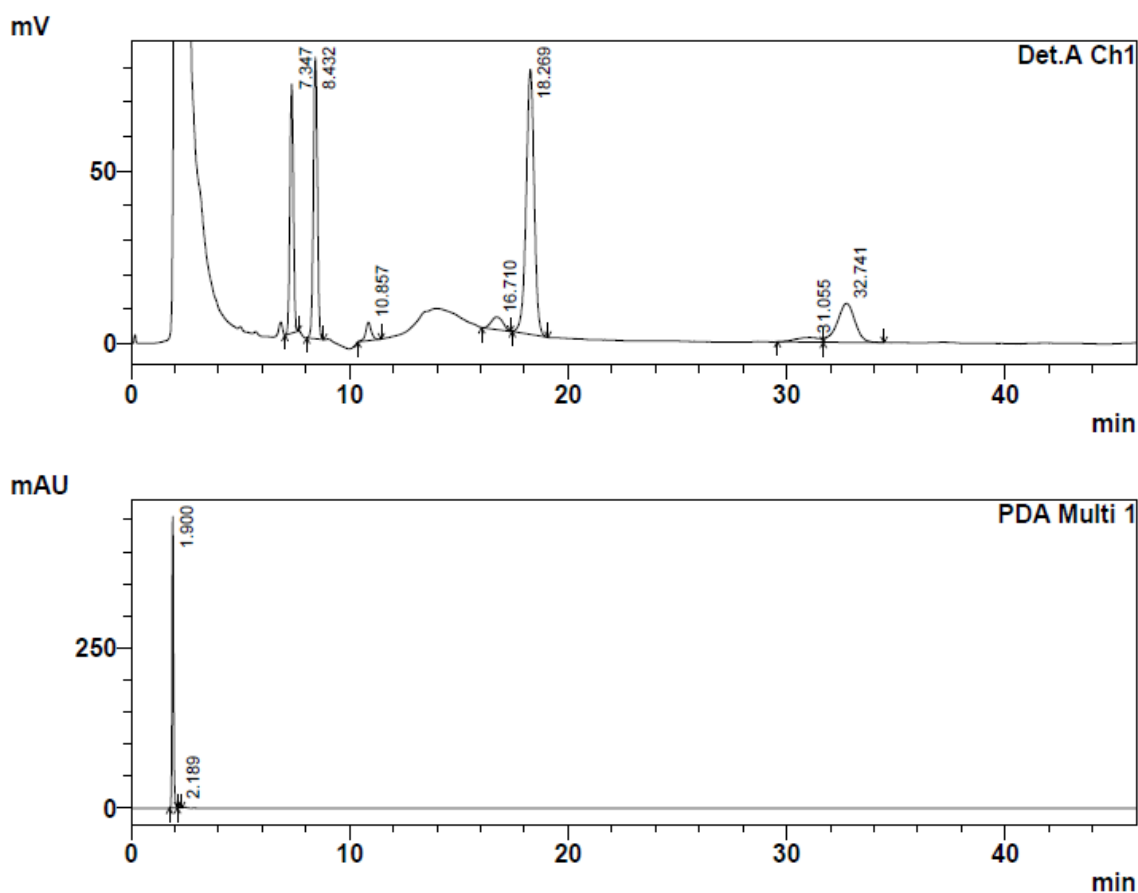


Figura A1. Análise de tocóis (Det. A Ch1) e carotenóides (PDA Multi 1) por HPLC para amostra de óleo de palma tratada á 170 °C/100 min.

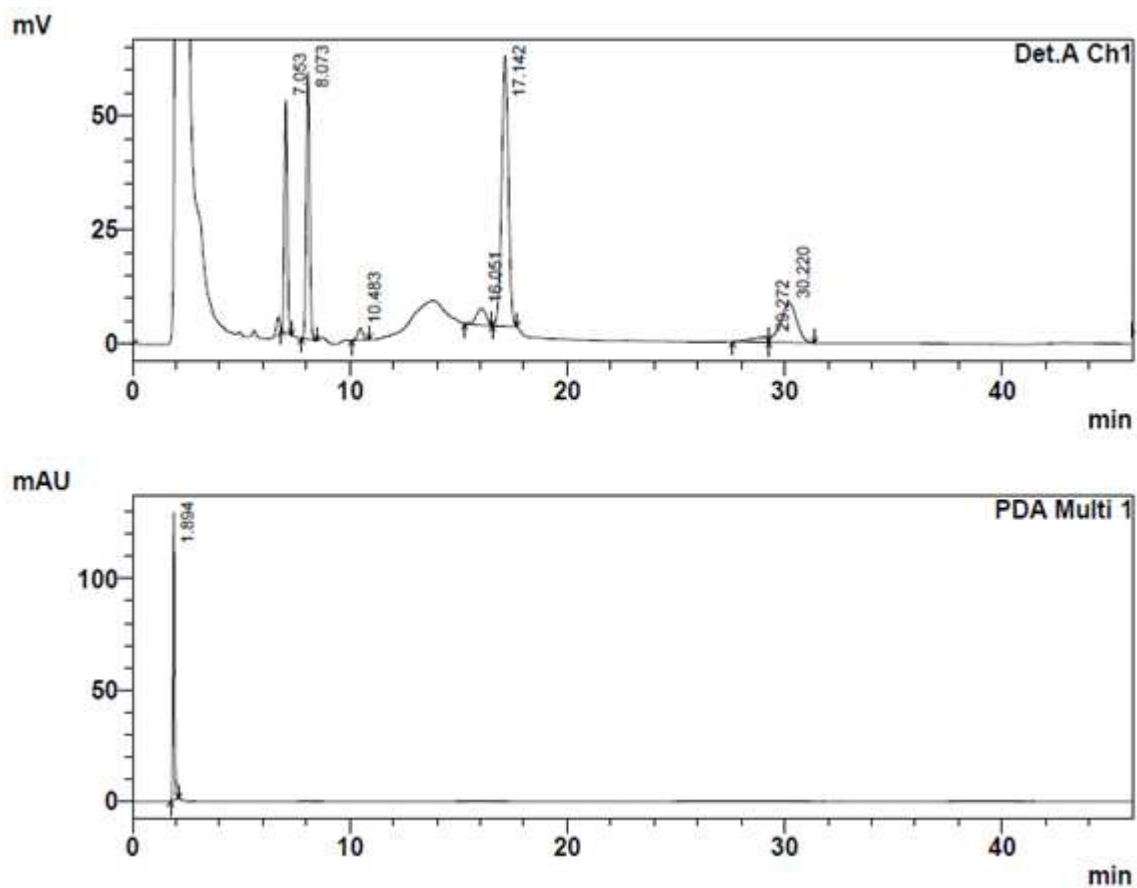


Figura A2. Análise de tocóis (Det. A Ch1) e carotenóides (PDA Multi 1) por HPLC para amostra de óleo de palma tratada a 190 °C/60 min.

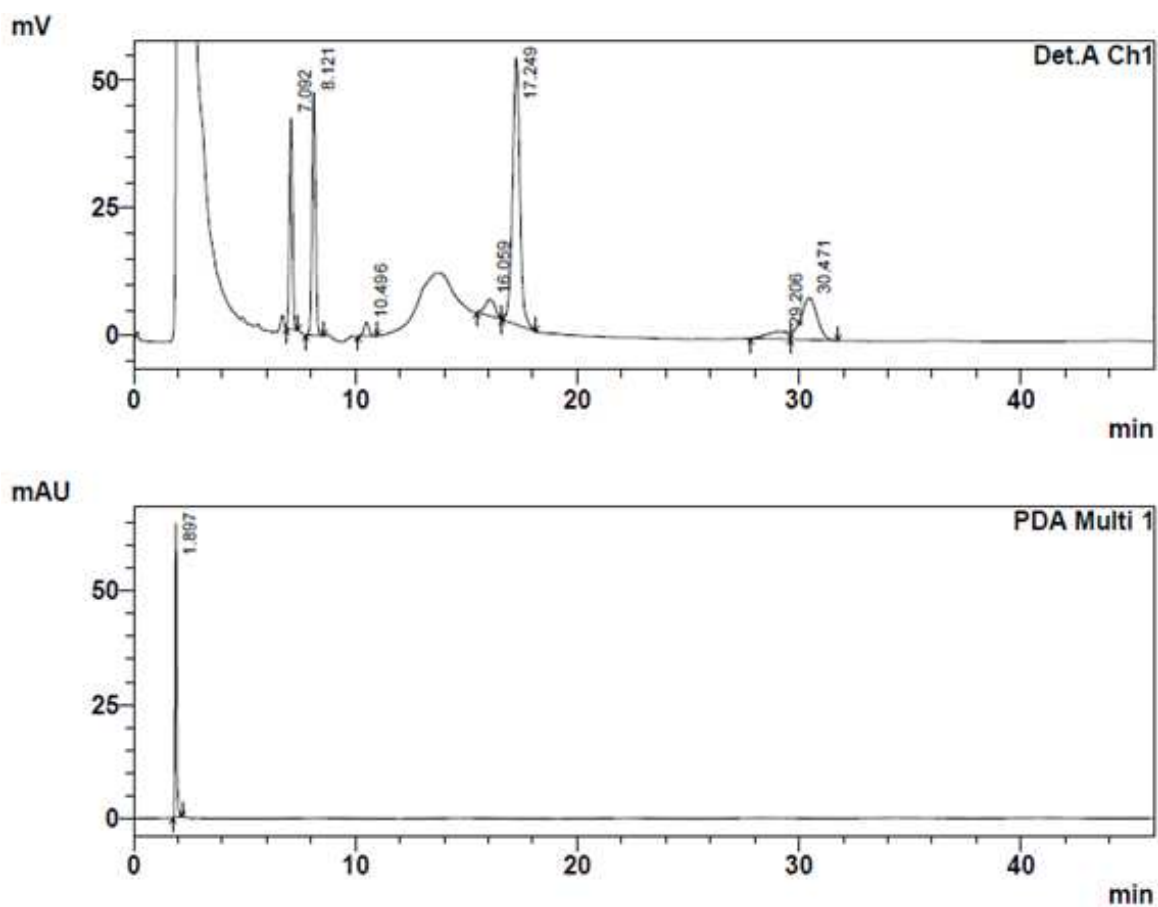


Figura A3. Análise de tocóis (Det. A Ch1) e carotenóides (PDA Multi 1) por HPLC para amostra de óleo de palma tratada a 210 °C/20 min.

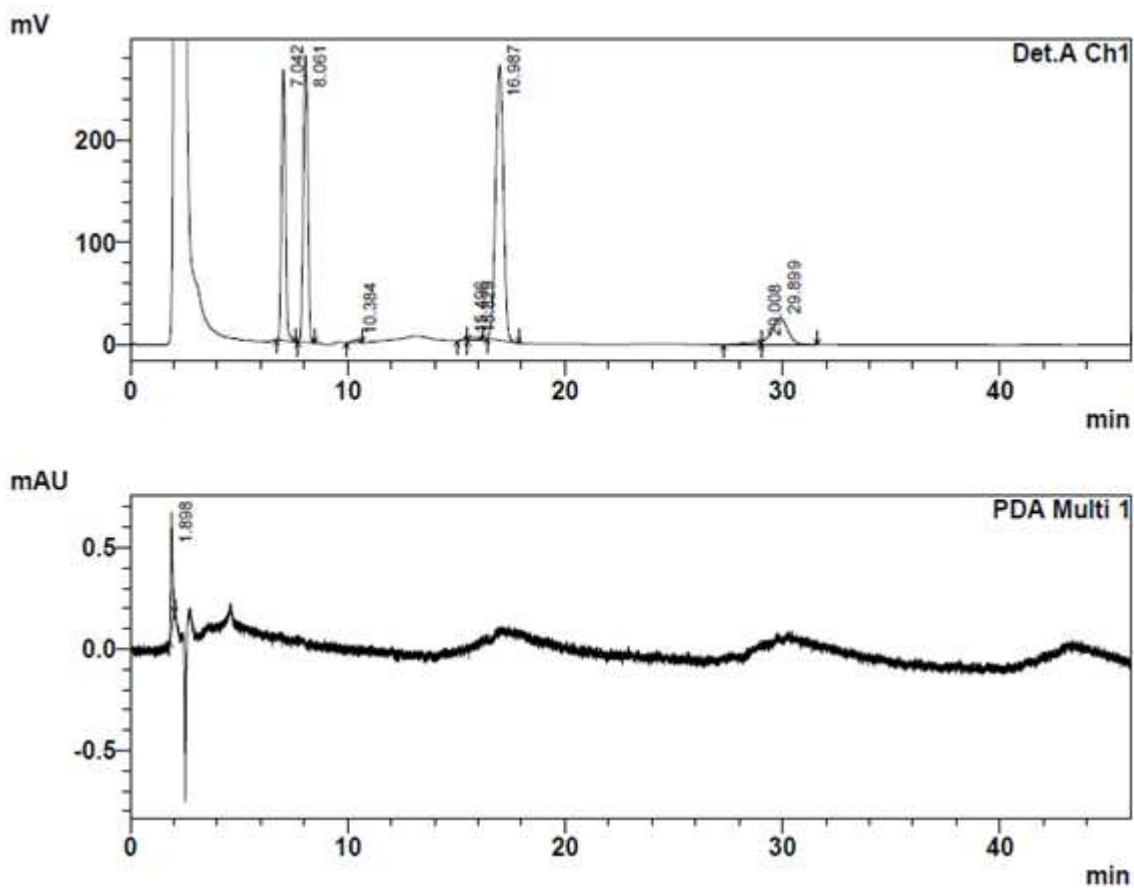


Figura A4. Análise de tocóis (Det. A Ch1) e carotenóides (PDA Multi 1) por HPLC para amostra de óleo de palma tratada a 230 °C/80 min.

APÊNDICE II: Cromatogramas referentes as análises de esqualeno e fitosteróis em amostras de óleo de palma

As análises de esqualeno e fitosteróis em óleo de palma foram realizadas através de cromatografia gasosa (GC). Todos os compostos foram detectados na mesma corrida conforme se verifica na Figura A5. Uma análise mais detalhada para verificação da correta identificação da matéria insaponificável foi realizada por cromatografia gasosa associada com espectrometria de massas (Figura A6).

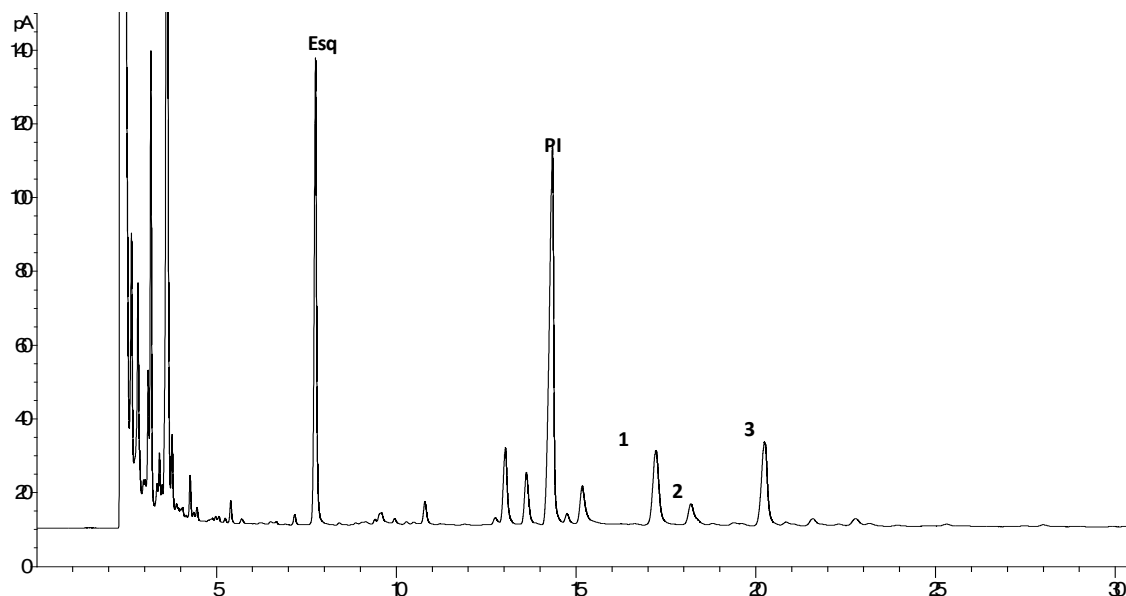


Figura A5. Fração insaponificável no óleo de palma: esqualeno (Esq); fitosteróis (1 – campesterol; 2 – estigmasterol; 3 – β – sitosterol); padrão interno (PI – colesterol) por cromatografia gasosa.

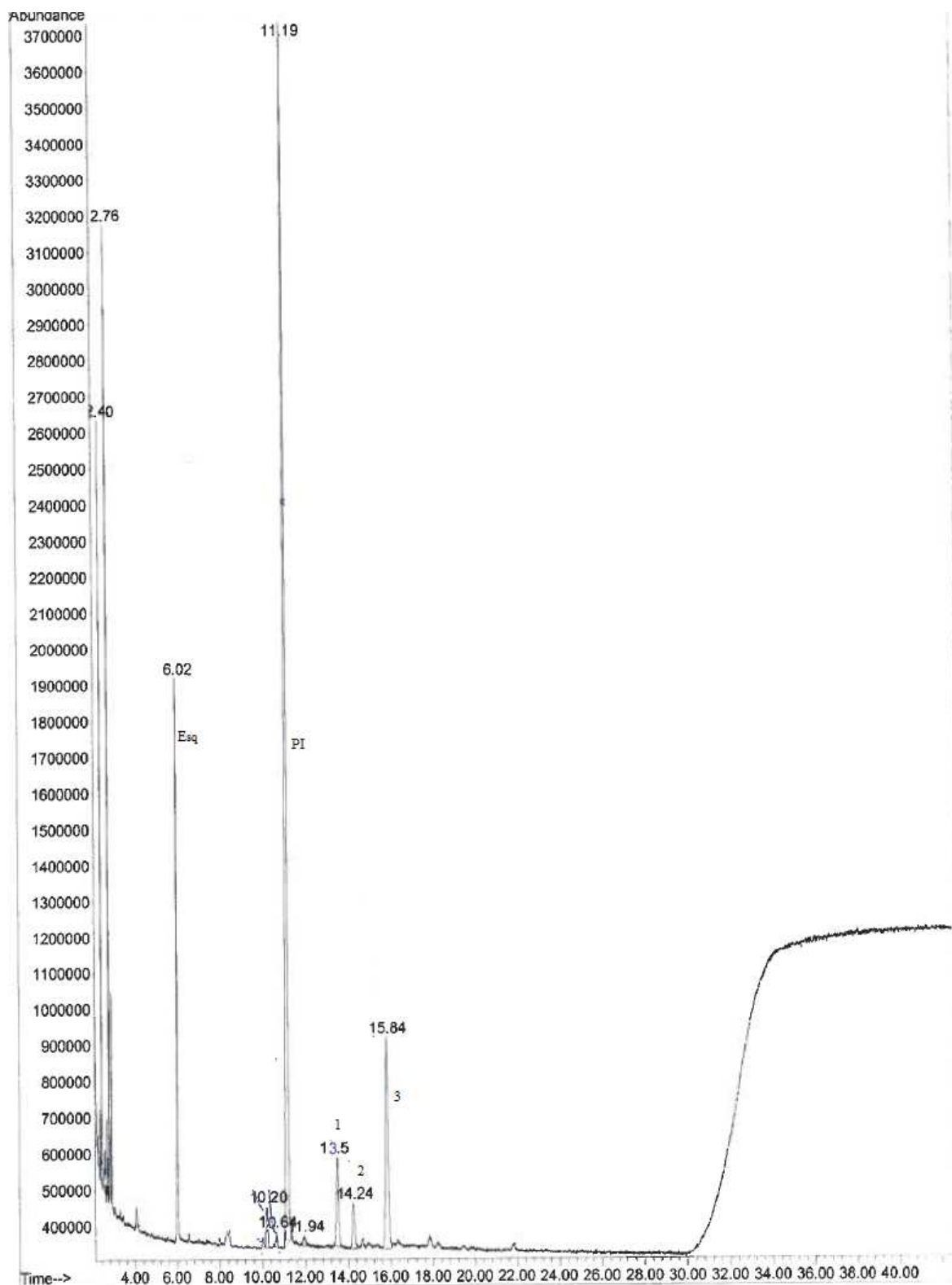


Figura A6. Identificação da matéria insaponificável presente no óleo de palma por cromatografia gasosa associada com espectrômetro de massas: esqualeno (Esq); fitosteróis (1 – campesterol; 2 – estigmasterol; 3 – β – sitosterol) padrão interno (PI – colesterol).