

ÓLEOS ALIMENTARES USADOS: SELECÇÃO DE INDICADORES DE DEGRADAÇÃO DE QUALIDADE

Cristina Laranjeira; Maria Ribeiro; Maria Lima; Marília Henriques & Sara Bermejo

Departamento de Tecnologia Alimentar, Biotecnologia e Nutrição. Escola Superior Agrária de Santarém.

RESUMO

Óleos alimentares usados (OAU) são usualmente designados como óleos de fritura. A degradação, por reutilizações sucessivas ou durante o armazenamento, pode ocorrer por diferentes vias: contacto, química, enzimática e microbiana. A degradação oxidativa é, provavelmente, a mais importante e estudada: é uma das maiores preocupações económicas da indústria, pois afecta a qualidade sensorial e nutritiva dos óleos alimentares, com a formação de compostos potencialmente tóxicos para consumo humano. Em Portugal, embora se implemente a recolha obrigatória dos OAU's (que incorre na sua mistura, com perda de rastreabilidade), o principal destino final é ainda o envio para a rede de esgotos, prática proibida mas recorrente, um problema ambiental e um desperdício de matéria-prima, que pode e deve ser requalificada e valorizada, inclusive por novas abordagens, uma vez conhecido o seu perfil. Na outra face da questão, a caracterização físico-química específica de OAU's é uma área de I&D insuficientemente explorada. Neste projecto, pretende-se identificar parâmetros físico-químicos de baixo custo, com resposta rápida e rigorosa no contexto da análise de OAU's, com fim à selecção de *Indicadores de Degradação da Qualidade* (IDQ). Aplicando *Melhores Práticas Laboratoriais Disponíveis* (MPLD), a partir do normativo foram criados procedimentos internos ESAS, identificando variáveis críticas e redefinindo gamas de trabalho e condições de ensaio. As conclusões são preliminares. Os ensaios exploratórios mostram diferenças significativas nos três lotes e em parâmetros estudados. **AT, IA, IP, cor CIELab e a_w** , são promissores como IDQ's. **Indl, cor CIE e Absorvência UV**, perfilam-se como métodos de referência.

Palavras-chave: Óleo alimentar usado; qualidade; fritura; degradação; parâmetros físico-químicos; ambiente

ABSTRACT

Used edible oils (UFO) are usually designated as frying oils. Degradation by successive reuse or during storage, may occur through different pathways: contacting, chemical, enzymatic and microbiological, where the oxidative pathway is probably the best known and studied process of degradation. Is a major economic concern of the industry, as it affects the sensory and nutritional quality of edible oils, with the formation of potentially toxic compounds for human consumption. In Portugal, although the mandatory collection of UFO's it implemented (which incurs in its mixture, with loss of traceability), its primary end use still is sending to the sewerage system, a prohibited but common practice, an environmental problem and a waste of raw materials, which should be requalified and valued, even by new technical approaches, once UFO's profile is known. In addition, the specific physicochemical characterization of UFO's is a research area insufficiently explored. The present project aims to identify low-cost physicochemical parameters, with rapid and accurate response in the context of analysis of UFO's, in order to recommend them as *Quality Degradation Indicators* (QDI). Applying *Best Laboratory Practices Available* (BLPA), internal procedures (ESAS) were created, based on standards, identifying critical variables and redefining working range and test conditions. Conclusions are still preliminary. The previous tests show significant differences in the three oils and in parameters studied. **TA, AI, IP, CIELab** color and **a_w**, seem promising as QDI's. **Indi, CIE** color and **UV Absorbency**, profiling reference methods.

Keywords: Used edible oil; quality; frying; degradation; physicochemical parameters; environment.

INTRODUÇÃO

Óleo alimentar é a mistura de dois ou mais óleos, refinados isoladamente ou em conjunto (DL nº106/2005). As transformações químicas durante o seu processamento, no armazenamento e ainda no uso como meio de transferência de calor (REDA e CARNEIRO, 2007), podem conduzir à modificação do seu perfil físico-químico e estrutura, um processo evolutivo que afecta o valor nutricional e também os padrões de qualidade, como cor, odor, sabor e textura (LARANJEIRA *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2007). Segundo a legislação portuguesa, **óleo alimentar usado** (OAU) define-se como: “o óleo alimentar que constitui um resíduo” (DL nº267/2009). Em Portugal a produção estimada de OAU’s é da ordem de 43 000 t a 65 000 t por ano, da qual cerca de 62% é gerada pelo sector doméstico, 37% provém do sector da hotelaria e restauração (HORECA) e uma fracção residual da indústria alimentar (IGAOT, 2005). O Decreto-Lei n.º 267/2009, de 29 de Setembro, que estabelece o regime jurídico da gestão dos OAU’s produzidos pelos referidos sectores, proíbe a sua introdução ou de substâncias recuperadas de OAU’s na cadeia alimentar, a deposição em aterro e a sua descarga nos sistemas de drenagem de águas residuais. O referido diploma sugere a reciclagem como opção integrada, “criando um conjunto de normas que visam quer a implementação de circuitos de recolha selectiva, o seu correcto transporte, tratamento e valorização, por operadores devidamente licenciados para o efeito, quer a rastreabilidade e quantificação de OAU”. Portugal possui uma indústria activa na produção de óleos alimentares e tradição na valorização não alimentar de óleos: produção de sabão (iniciada com a Sociedade Nacional de Sabões) e mais recentemente, biodiesel (LARANJEIRA *et al.*, 2014). A produção de sabão a partir exclusivamente de OAU’s foi alvo de estudo (WAN, 2000) e segundo ARAUJO *et al.* (2010), os resíduos de óleos e gorduras alimentares são matérias-primas apetecíveis para a produção industrial de biodiesel, uma vez reduzirem para metade os custos de produção. Para óleos alimentares (OA), existe uma extensa bibliografia nas áreas tecnológica e analítica, bem como legislação e normativo. A caracterização físico-química de OA’s traduz-se na selecção de parâmetros *Indicadores de Qualidade* (IQ), cuja função, é evidenciar e quantificar atributos de qualidade, genuinidade e tipicidade, assegurando o valor económico, nutricional e a segurança alimentar, mas onde amiúde se recorre a técnicas analíticas de referência dispendiosas, não acessíveis

a pequenos laboratórios e impraticáveis na indústria de restauração. Os óleos alimentares em fim de vida, usados ou não, apresentam, contudo, perfis físico-químicos distintos dos óleos novos (OAN). Os processos evolutivos que conduzem à depreciação dos mesmos, pela reutilização sucessiva em fritura e pelo armazenamento prolongado ou deficiente, são conhecidos, podendo ser quantificados através de uma variedade de métodos físicos, químicos e físico-químicos. Contudo, nenhum se correlaciona de forma perfeita com as alterações organolépticas e cada método fornece apenas informações parcelares sobre o complexo processo degradativo dos óleos (adaptado de LARANJEIRA e RIBEIRO, 2013; KAMM *et al.*, 2001; SILVA *et al.*, 1998 e LADIKOS e LOUGOVOIS, 1990). A caracterização específica de OAU's, é uma área de I&D que carece, ainda hoje, de inovação e investigação aplicada (LARANJEIRA e RIBEIRO, 2013). Neste contexto, o Grupo Os Mosqueteiros e a UIIPS estabeleceram um contrato de parceria, validado pela Agência Portuguesa do Ambiente (APA), com vista ao desenvolvimento de um projecto bienal (2012-2013) no âmbito da Química Analítica e Ambiental – já renovado (2014-2015) - tendo como entidade executora a ESAS. O projecto visa o cumprimento do Decreto-Lei nº267/2009, segundo o qual os produtores de óleos alimentares devem prever “acções de investigação e desenvolvimento no domínio da prevenção e valorização dos óleos alimentares usados”. Propõe-se uma análise físico-química comparada de óleos novos (OAN) e usados (OAU) da marca própria do Grupo Os Mosqueteiros, sendo os OAU's obtidos em contexto real de uso (fritura industrial) e por degradação induzida de OAN's em laboratório. Pretende-se a selecção de *Indicadores de Degradação da Qualidade* (IDQ), a definição das *Melhores Práticas Laboratoriais Disponíveis* (MPLD) e critérios de aceitação/rejeição, no âmbito da prevenção, requalificação e valorização de OAU's. Pretende-se abranger na mesma classificação (OAU), óleos alimentares não usados mas depreciados, em termo de validade. O projecto integra ainda a monitorização dos óleos por análise microbiológica e perspectiva-se uma análise financeira (LARANJEIRA e RIBEIRO, 2013 e 2011; LARANJEIRA *et al.*, 2013 e 2012a,b,c; HENRIQUES, LARANJEIRA e RIBEIRO *et al.*, 2012).

MATERIAIS E MÉTODOS

Um *Indicador de Degradação da Qualidade* (IDQ) - distinto do que define um *Indicador de Qualidade* (IQ) - deve obedecer a três critérios fundamentais: **rigor**, **baixo custo** e **rapidez** de resposta. Acresce realçar a **especificidade** do seu campo de aplicação (OAU's) e a intenção de uma dupla função: **1)** ser um indicador eficaz na detecção e vigilância preventiva de **atributos de defeito** (um IDQ sinaliza pela negativa, na óptica sua utilização primária, alimentar); **2)** definir, pela correlação de IDQ's, um **perfil sumário** que possa viabilizar a requalificação de OAU's e adequar o seu uso como matéria-prima em processos de valorização não alimentar (LARANJEIRA e RIBEIRO, 2013). No início do projecto, foram pré-seleccionados os parâmetros: teor de Humidade (**H %**) e actividade da água (**aw**); Acidez Total (**AT**) e Índice de Acidez (**IA**); Índice de Iodo (**IndI**) e Índice Peróxidos (**IP**); Cor **CIE**, Cor **CIELab** e Absorvência no UV (**Abs UV**). Num conjunto de ensaios exploratórios, o teor de Humidade mostrou um desempenho insatisfatório como IDQ, vindo a ser abandonado na prossecução do projecto (LARANJEIRA *et al.*, 2013). Do estudo já realizado, serão apresentados e discutidos os resultados mais relevantes do período de Ensaio Prévios (2012), incluindo também a monitorização por análise microbiológica: contagem de microrganismos lipolíticos a 30°C, de fungos xerófilos e de fungos lipolíticos a 25°C.

MATERIAIS

Amostras. A fim de validar técnicas e fazer uma primeira triagem de indicadores físico-químicos, delinearam-se os Ensaio Prévios reduzindo-os à análise de três lotes de óleo de marca própria (Os Mosqueteiros), com número distinto de reutilizações: óleo alimentar novo (**OAN**); óleo alimentar usado duas vezes (**OAU2**) e óleo alimentar em fim de vida (**OAUr**), rejeitado da cozinha do refeitório da base de Alcanena. Para a realização posterior dos ensaios microbiológicos, foram utilizadas novas amostras: óleo alimentar novo (**O1**), proveniente da embalagem selada original e dois óleos alimentares usados (**O2** e **O3**), ambos com visível degradação (escurecimento e turvação), recolhidos na base de Alcanena em embalagem estéril. Cobriu-se, assim, o ciclo de vida do óleo, uniformizando também o número de réplicas por ensaio, em condições de repetibilidade: 10 replicados para os ensaios físico-químicos e 5 para os microbiológicos. **Reagentes.** Foram utilizados reagentes de grau analítico (*p.a.*) e água de qualidade laboratorial (Milli-Q). (BERMEJO, 2014; LARANJEIRA *et al.*, 2014 e 2013).

MÉTODOS E PROCEDIMENTOS

Análise físico-química. A fundamentação teórica dos métodos e sua importância no contexto do projecto, foi apresentada pelos autores numa publicação anterior (LARANJEIRA *et al.*, 2013). A validação de Procedimentos Internos ESAS (não incluída nesta publicação), foi um imperativo nesta fase do projecto (2012), pelo facto do normativo aplicável a OA's não permitir cumprir os critérios de aceitação metodológica ($Cv < 5\%$) para todo o ciclo de vida do óleo (LARANJEIRA *et al.*, 2014 e 2013; RELACRE, 2000). **Actividade da água (aw).** É determinada instrumentalmente por método directo (medidor de aw: Rotronic-Hygroscop DT, rotronic ag; células da mesma marca, modelo DMS 100H). A temperatura deve ser mantida a 25°C, usando banho de água (Selecta, modelo Unitronic 6320100). **Acidez Total (AT) e Índice de Acidez (IA).** A determinação realiza-se por volumetria ácido-base directa, por procedimento interno (ESAS) adaptado da norma NP 903 (1987). **AT** expressa-se em ácido oleico, como uma percentagem mássica; **IA** é adimensional. **Índice de Peróxidos (IP).** Entende-se por **IP** a quantidade de oxigénio activo, expresso em miliequivalentes, contida em 1 kg de óleo. Determina-se por volumetria redox indirecta (NP 904/1987). **Índice de Iodo (I_{DI}).** É definido como a quantidade de halogéneo, expressa em percentagem mássica de iodo, que pode ser fixada, em determinadas condições, pelo óleo (GUNSTONE, 2008). A determinação é feita por iodometria indirecta, mediante procedimento interno (ESAS) adaptado da norma NP 941 (1985). **Cor CIE.** É determinada por método indirecto, através de medidas absolutas de absorvência dos óleos, aos comprimentos de onda de 445, 495, 560 e 625 nm, usando um espectrofotómetro de UV-Visível (HITACHI, modelo U-2001). O procedimento interno (ESAS) resulta da adaptação da norma NP 937 (1987), tendo em conta especificidades de calibração do aparelho para medições em escala absoluta. **Cor CIELab.** É determinada num colorímetro de reflectância (KONICA MINOLTA, modelo CR-400), controlado pelo programa *SpectraMagic NX*, uma vez definidas as condições de ensaio: 1) iluminante: D65; 2) ângulo de incidência: 2° (LIMA e LARANJEIRA, 2010). **Absorvência no UV (Abs UV).** Exprime-se no coeficiente de absorção (ϵ), de 1g (de óleo) em 100 cm³ (da solução), em 1cm (percurso óptico). A determinação é feita segundo a norma NP 970 (1986), usando um espectrofotómetro de UV-Visível (marca HITACHI, modelo U-2001). As leituras são feitas a 232 nm e a 268-272 nm.

Análise microbiológica. É rara a ocorrência de alterações nos óleos alimentares por via microbiológica, pois são praticamente isentos de água. Contudo, podem ocorrer hidrólises e oxidações por esta via, quando as condições são favoráveis, caso dos OAU's, que incorporam água por transferência dos alimentos cozinhados nestes óleos (adaptado de COLL *et al.*, 1999). **Flora lipolítica.** É muitas vezes responsável pela rancificação de gorduras. A capacidade de conservação de óleos e gorduras vegetais depende da concentração deste tipo de flora, daí a importância da sua contagem (BERMEJO, 2014; PLUSQUELLEC, 1991). A contagem de microrganismos lipolíticos é realizada segundo Bourgeois e Leveau (1991), citados por BERMEJO (2014). É utilizado *Tributyryne Agar* (LIPO), meio lipídico que estimula o crescimento de microrganismos lipídicos; incubação a 30°C por 48 horas. A contagem de fungos lipolíticos é semelhante, mas ao meio de cultura *Tributyryne Agar* é adicionado cloranfenicol, antibiótico inibidor da síntese proteica bacteriana; incubação a 25°C por 3 a 5 dias. **Fungos xerófilos.** São fungos filamentosos, conhecidos por crescerem em ambientes com a_w inferior a 0,85 (BERMEJO, 2014). A contagem de fungos xerófilos é realizada segundo a norma NFV 08036 (2003) citada por BERMEJO (2014). A determinação é feita com meio *Dicloran-Glycerol Cloramphenicol Agar*, meio otimizado para favorecer o crescimento de fungos; incubação a 25°C por 3 a 5 dias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise físico-química. Os OAU's, óleos de fritura, incorporam produtos da sua degradação, mas também água e outras matérias externas, transferidas pelos alimentos durante os repetidos processos de uso (MATIAS, 2008; IGAOT, 2005; COLL *et al.*, 1999). No tratamento de resultados pretendeu-se comparar os diferentes lotes de óleo (**OAN**, **OAU2** e **OAUr**) nos parâmetros seleccionados. Realizou-se o teste paramétrico de análise de variâncias de factores (ANOVA/MANOVA), *Teste Post Hoc LSD Fisher* para as coordenadas da **cor CIE** e o *Teste Post Hoc LSD Tukey* para os restantes parâmetros (com excepção dos parâmetros microbiológicos). O nível de significância considerado foi de 5% ($p < 0,05$), para diferenças significativas entre amostras. O parâmetro a_w associa-se à presença de água nos OAU's; **AT** e **IA**, ao aumento da acidez por degradação hidrolítica (LARANJEIRA *et al.* 2013). Na representação gráfica da **Figura 1**, verifica-se que os valores de a_w obtidos para as três

amostras de óleo, em condições de repetibilidade (n=10), não apresentam diferenças significativas entre si. A técnica analítica, de execução simples mas morosa (duas medições de a_w por dia), poderá justificar a elevada dispersão de resultados e dos coeficientes de repetibilidade (**Cvr**) obtidos nos Ensaio Prévios, concretamente: 13% (OAN), 49% (OAU2) e 36% (OAUr), significativamente superiores ao critério de aceitação metodológica (Cvr < 5% – 10%) (LARANJEIRA *et al.*, 2013; RELACRE, 2000).

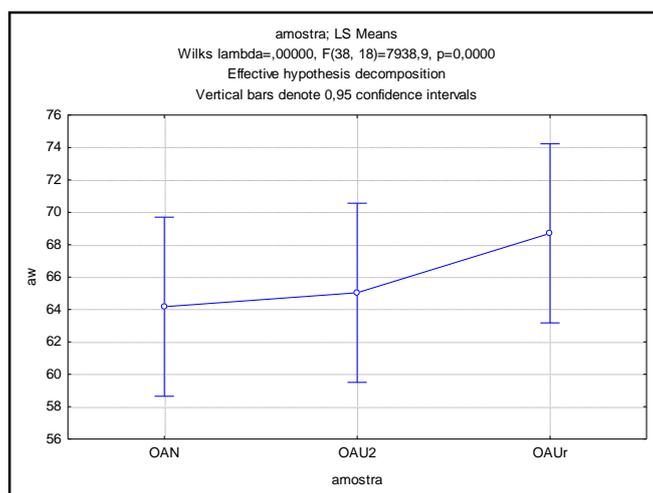


Figura 1: Representação gráfica do parâmetro a_w para as três amostras de óleo

Os resultados poderão estar comprometidos, pelo facto do laboratório, não sendo climatizado e usando-se um procedimento moroso, poder favorecer a transferência reversível de humidade ar/óleo ou óleo/ar através da superfície do óleo, quando se alteram as condições atmosféricas circundantes, mesmo usando um banho de água termostaticado a 25°C (LARANJEIRA *et al.*, 2013; FELLOWS, 1999). Não obstante, observa-se que os valores médios de a_w evoluem no sentido esperado à medida que o óleo se degrada: a_w aumenta de OAN para OAU2 e deste para OAUr (Fig.1). Pretende-se dar continuidade ao estudo deste parâmetro, aumentando o universo de amostras mas reduzindo o número de replicados (n=3), a fim de melhorar a rapidez e por hipótese, a correlação e precisão analíticas (LARANJEIRA *et al.*, 2013). Quanto aos parâmetros **AT** e **IA**, existem diferenças significativas entre médias para as três amostras de óleos e parâmetros referidos, tal como se observa nas duas representações gráficas da **Figura 2**. A evolução paramétrica é expectável, face ao grau de utilização em fritura: **AT** e **IA** aumentam com a reutilização, de OAN para OAU2 e deste para OAUr. Com efeito, existindo água no meio, a degradação hidrolítica dos óleos inicia-se com a hidrólise dos acilgliceróis e libertação dos ácidos gordos (AGL) de

cadeia longa, que são essencialmente insípidos e numa fase final, após reacções de interesterificação e hidrólise, com a formação de ácidos orgânicos de cadeia curta (entre outros compostos), que conferem odor e sabor a ranço. A acidez do óleo aumenta (LARANJEIRA *et al.*, 2013; PERRIN, 1996; ERICKSON, 1995; HALLIWEL *et al.*, 1995; MALCATA *et al.*, 1990; HARDY, 1979).

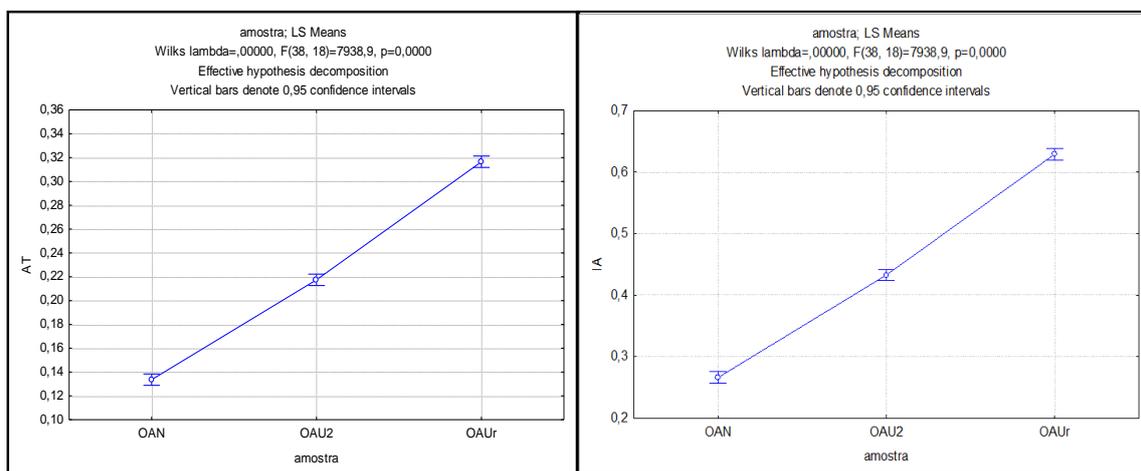


Figura 2: Representações gráficas dos parâmetros Acidez Total (AT) e Índice de Acidez (IA)

Este estudo sugere que os parâmetros **AT** e **IA** são promissores como IDQ's, para OAU's: confirmam-se diferenças paramétricas significativas entre óleos (Fig.2); o método, comum aos dois parâmetros, é de execução rápida, utiliza apenas material corrente de laboratório e o procedimento interno (ESAS), foi validado quanto à repetibilidade ($C_{vr} < 10\%$) (BERMEJO, 2014). Os parâmetros **IP**, **Indl** e **Abs UV**, associam-se à degradação oxidativa dos óleos, principal causa de depreciação dos OA's (LARANJEIRA *et al.*, 2013; ADNAN *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 1998). Este tipo de degradação, associada à elevada reactividade do oxigénio com os ácidos gordos insaturados (quando o óleo é colocado em contacto com o ar, calor, luz, metais e humidade) é, essencialmente, uma reacção radicalar, descrita pelas etapas de indução e *oxidação primária* (propagação), com a formação de peróxidos, hidroperóxidos e dienos conjugados e de *oxidação secundária* e terminação, incluindo reacções de cisão e polimerização, de que resultam, como produtos finais, moléculas voláteis de cadeia curta (ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas e álcoois) e hidrocarbonetos poliméricos não voláteis, que no seu conjunto são responsáveis pela deterioração, acompanhada de escurecimento dos óleos e do característico odor e sabor a ranço. Alguns produtos de reacção são eliminados através do vapor formado durante a fritura, mas outros

permanecem no óleo, levando a uma oxidação mais rápida (LARANJEIRA *et al.*, 2013; ADNAN *et al.*, 2009; DOBARGANES, 2009; PETTERSON *et al.*, 2004; GERTZ, 2001). Nas representações gráficas da **Figura 3**, verificam-se diferenças significativas para as três amostras de óleos estudadas, em ambos os parâmetros, **IP** e **IndI**, em condições de repetibilidade (n=10).

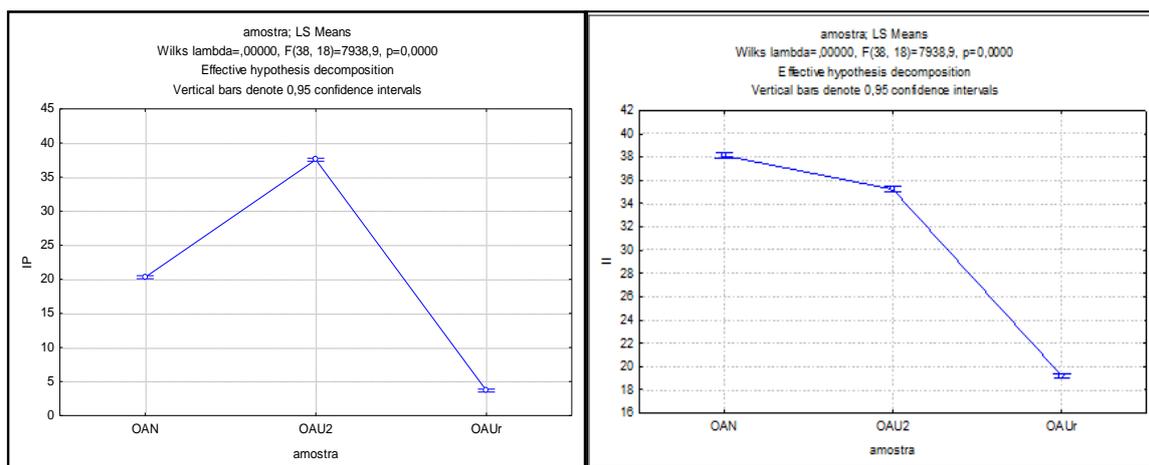


Figura 3: Representações gráficas dos parâmetros Índice de Peróxidos (IP) e Índice de Iodo (IndI)

Os resultados mostram uma evolução paramétrica expectável, com o grau de utilização em fritura: **IndI** diminui e **IP** apresenta um máximo (compatível com uma evolução gaussiana) (BERMEJO, 2014). Contudo, é difícil obter uma correlação específica entre **IP** ou **IndI** e o grau de rancidez. Por um lado, o **IP** representa a diferença entre a formação e a decomposição de peróxidos; a variação ao longo do tempo é aproximadamente sinusoidal (gaussiana), pelo que se elevados índices de peróxidos são um indicativo seguro de uma gordura rançosa, valores de **IP** baixos não constituem uma garantia de boa estabilidade oxidativa, podendo, pelo contrário, ser sinónimo de alteração pronunciada (adaptado de SILVA *et al.*, 1998). Por outro lado, o **IndI**, embora não seja uma medida específica de estabilidade do óleo, pode ser um indicador do seu potencial oxidativo. Os óleos contêm acilgliceróis constituídos por AGL saturados e insaturados e muitas das propriedades dependem do grau de insaturação, que pode ser medido por este parâmetro. Considerado menos específico que o **IP**, o **IndI** não é útil por si só, mas como método de comparação ou referência;

contudo, possui a vantagem, enquanto indicador, de diminuir de forma contínua ao longo do tempo de vida e utilização sucessiva (LARANJEIRA *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 1998; RICARDO e TEIXEIRA, 1983), como sugerem os dados obtidos na **Figura 3**. Na outra face da questão, a absorvência no UV (**Abs UV**) é uma técnica valiosa na detecção de ácidos gordos com ligações duplas conjugadas, que traduzem oxidação térmica do óleo. Alterações no espectro de absorvência no UV e na densidade de transmissão, devidas à absorção por dienos conjugados (a 230-235 nm) e trienos conjugados ou produtos secundários de oxidação (260, 270 e 280 nm), constituem índices de alteração do óleo (LARANJEIRA *et al.*, 2013; WAN, 2000). O parâmetro **K₂₃₂** indica a idade do óleo e o nível de oxidação durante os processos de produção, armazenamento e uso, medindo a formação de produtos primários de oxidação (peróxidos). O indicador **K₂₆₈** detecta o nível de adulteração do óleo, a mistura de óleos refinados e conteúdo de ceras. É um dos marcadores utilizados para acompanhar a oxidação secundária, de que resultam compostos carbonilo (aldeídos e cetonas) (APARICIO, 2003). Como se mostra nas representações gráficas da **Figura 4** e no **Quadro 1**, registam-se, nos óleos analisados, diferenças significativas para os parâmetros de Abs no UV - **K₂₃₂**, **K₂₆₈** e **Δ₂₆₈** – em condições de repetibilidade (n=10).

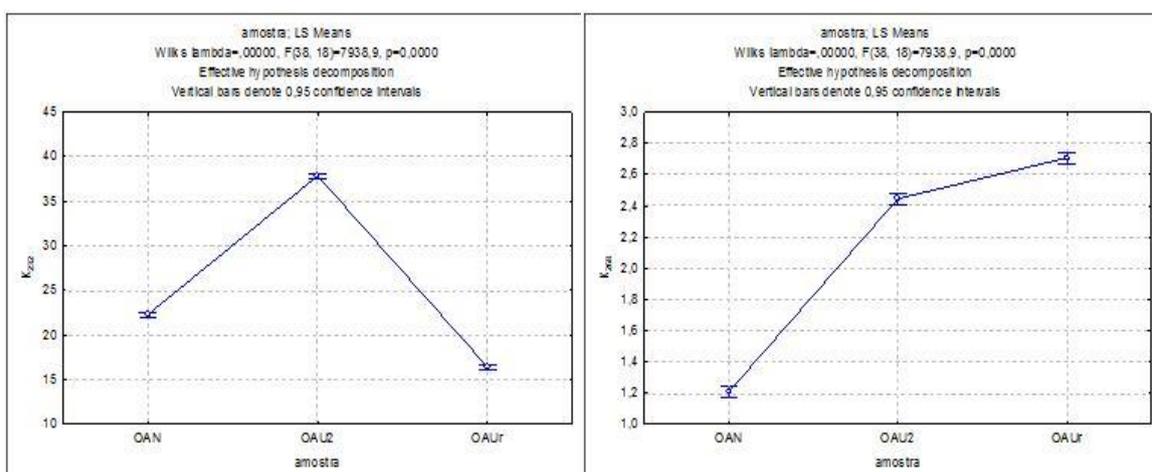


Figura 4: Representação gráfica de parâmetros absorvência no UV - K₂₃₂, à esquerda e K₂₆₈, à direita

Observa-se (Fig.4) um aumento de valores de **K₂₃₂** entre OAN e OAU2; contudo, para OAUr, **K₂₃₂** é inferior ao registado para os outros óleos. Este comportamento é consistente com os resultados obtidos para o parâmetro **IP** (Fig.3), um indicador de oxidação primária, relacionado com a peroxidação cuja evolução é gaussiana, como já foi referido. Relativamente à variação em **K₂₆₈**, registam-se valores superiores à

medida que o grau de degradação dos óleos aumenta (Fig.4), observação que é compatível com a acumulação crescente, ao longo do tempo e da sucessiva reutilização, de compostos secundários de oxidação. Os dados sugerem que este marcador (K_{268}) evolui de forma inversa à do parâmetro **IndI**, uma vez que à medida que se oxida, o grau de insaturação do óleo, medido pelo **IndI**, decresce (adaptado de LARANJEIRA *et al.*, 2013). Para ambos os parâmetros, K_{268} e Δ_{268} , os óleos seguem a mesma tendência: o aumento dos valores destes marcadores, à medida que o óleo é mais degradado (BERMEJO, 2014).

Quadro 1: Variação da Absorvência no UV, Δ_{268} , para as três amostras de óleo

Level of Factor	Δ_{268}			
	\bar{x}	$\pm\sigma$	Mín.	Max.
$n=10$				
OAN	1,094 ^a	0,037	1,067	1,120
OAU _{2x}	2,298 ^b	0,055	2,259	2,338
OAU _r	2,506 ^c	0,056	2,466	2,547

Em síntese, segundo alguns autores, o **IP** deve ser determinado nos primeiros estados de processo oxidativo; contudo, este estudo sugere que o **IP**, em correlação com outros parâmetros, pode ser um promissor IDQ aplicável a OAU's em final de vida e que os parâmetros **IndI** e **Abs UV** se perfilam melhor como métodos de referência. Com efeito, não só se criaram procedimentos internos (ESAS) com boa repetibilidade ($Cvr < 10\%$) para as três metodologias (BERMEJO, 2014), como este estudo confirma a existência de diferenças paramétricas significativas entre óleos, condição indispensável à selecção de indicadores IDQ e de referência. Na outra face da questão, **IP** e **IndI** são métodos volumétricos clássicos, que utilizam exclusivamente material corrente de laboratório, mas apenas **IP** é de execução simples e rápida; **IndI** e **Abs UV** envolvem procedimentos morosos; **IndI** é ainda um método químico sensível, com diversas variáveis críticas do ponto de vista de execução experimental e **Abs UV** envolve uma complexa calibração instrumental. No **Quadro 2** são apresentados os resultados obtidos para a **cor CIE**. Foram analisadas amostras *tal qual* e submetidas a centrifugação. As conclusões são muito preliminares, atendendo ao elevado número de variáveis e ao reduzido universo de óleos analisado nos Ensaio Prévios.

Quadro 2: Valores médio, desvio-padrão, máximo e mínimo para os parâmetros de cor CIE

Level of Factor		λ Dominante							
		Tg α				λ Dominante			
n=10		\bar{x}	$\pm\sigma$	Mín.	Max.	\bar{x}	$\pm\sigma$	Mín.	Max.
OAN	centrifugado	1,603 ^d	0,022	1,587	1,618	571,518 ^c	0,167	571,399	571,637
	<i>Tal e qual</i>	1,445 ^b	0,036	1,419	1,471	572,867 ^e	0,331	572,631	573,104
OAU _{2x}	centrifugado	1,545 ^c	0,019	1,531	1,558	571,971 ^d	0,150	571,864	572,078
	<i>Tal e qual</i>	1,688 ^e	0,075	1,635	1,741	570,884 ^b	0,547	570,492	571,275
OAU _r	centrifugado	1,303 ^a	0,003	1,301	1,305	574,170 ^a	0,027	574,150	574,189
	<i>Tal e qual</i>	1,317 ^a	0,013	1,308	1,326	574,034 ^a	0,126	573,943	574,124
Level of Factor		Pureza				Transparência			
		σ (%)				Y(%)			
n=10		\bar{x}	$\pm\sigma$	Mín.	Max.	\bar{x}	$\pm\sigma$	Mín.	Max.
OAN	centrifugado	5,957 ^c	0,035	5,932	5,983	94,377 ^b	0,094	94,309	94,444
	<i>Tal e qual</i>	4,615 ^a	0,060	4,572	4,658	89,972 ^d	0,176	89,846	90,098
OAU _{2x}	centrifugado	5,524 ^b	0,095	5,456	5,591	84,347 ^a	0,110	84,269	84,426
	<i>Tal e qual</i>	4,520 ^a	0,375	4,251	4,788	94,443 ^b	2,413	92,717	96,169
OAU _r	centrifugado	44,330 ^d	0,212	44,179	44,482	76,445 ^c	0,274	76,249	76,641
	<i>Tal e qual</i>	44,900 ^e	0,145	44,796	45,004	83,817 ^a	0,850	83,208	84,425

Para OAN e OAU₂, verificam-se diferenças significativas nos valores médios do parâmetro de cor **comprimento de onda dominante (λ)**, tanto para a cor aparente (*tal e qual*) quanto para a cor verdadeira (com centrifugação). Relativamente a OAU_r, as diferenças não são significativas com os tratamentos. Para o parâmetro **pureza (σ)**, o estudo estatístico evidencia diferenças significativas entre tratamentos (*tal e qual* ou centrifugado) em OAN, OAU₂ e OAU_r, mas não entre as amostras *tal e qual* de OAN e OAU₂. Os valores aumentam bruscamente para OAU_r. Como o parâmetro (σ) traduz a percentagem da luz com o comprimento de onda dominante, no feixe de luz transmitido pelo óleo, o aumento de σ significa que os óleos não só escurecem, como a radiação espectral reflectida torna-se mais pura (monocromática), com o grau de degradação (GARISO, 2010). No parâmetro **transparência (Y)**, existem diferenças significativas entre tratamentos, Y é maior nas amostras centrifugadas, o que se

explica pelo facto de as partículas em suspensão dispersarem a luz, interferindo (diminuindo) a absorvência aparente da amostra (LIMA e LARANJEIRA, 2011). Observa-se que **Y** é significativamente menor no óleo usado OAUr (*tal e qual* e centrifugado). Neste estudo, o interesse em determinar parâmetros de cor aparente **CIE**, residiu no facto de na prática industrial, as amostras não serem centrifugadas entre frituras, permitindo-se uma observação do estado efectivo do óleo, particularmente no que diz respeito à **pureza (σ)** e **transparência (Y)** (BERMEJO, 2014). Contudo, só um maior número de ensaios permitirá avaliar o real interesse em determinar a cor aparente de OAU's, tendo em conta que na prática laboratorial, a cor (**CIE** e **CIELab**) é determinada em amostras centrifugadas (cor real). A representação gráfica da **cor CIELab** apresenta-se nas **Figuras 5, 6 e 7**. Em termos de **luminosidade, L*** (Fig.5), não existem diferenças significativas entre OAN e OAU2, mas existem diferenças significativas entre os óleos menos degradados (OAN e OAU2) e OAUr, este último porque se apresenta mais escuro, devido ao facto de ocorrerem reacções químicas já referidas, como oxidação e polimerização, durante a fritura.

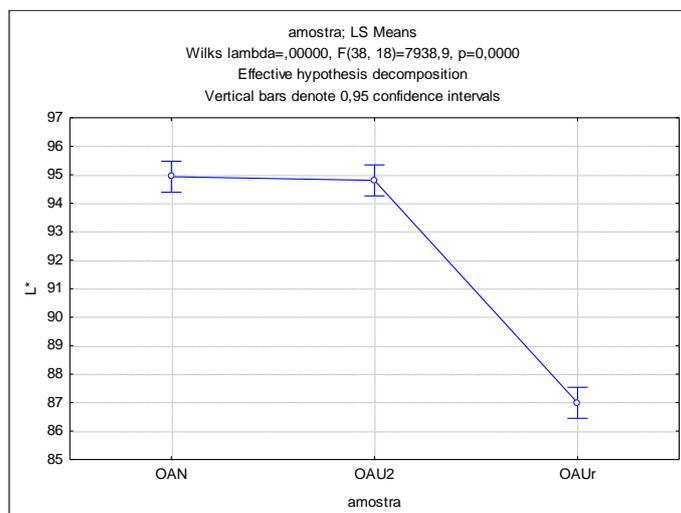


Figura 5: Cor CIELab - Representação gráfica do parâmetro luminosidade, L*

Para as coordenadas cromáticas **a*** (negativa, verde) e **b*** (positiva, amarelo), a **Figura 6** mostra que as amostras OAN e OAU2 não diferem significativamente entre si, mas OAUr apresenta diferenças significativas relativamente aos óleos anteriores. Verifica-se um aumento do valor de **b*** (amarelo) à medida que o óleo é mais degradado, por ocorrência de foto-oxidação ou oxidação. A foto-oxidação é responsável pelo aumento da tonalidade amarelada nos óleos (KIRITSAKIS, 1992).

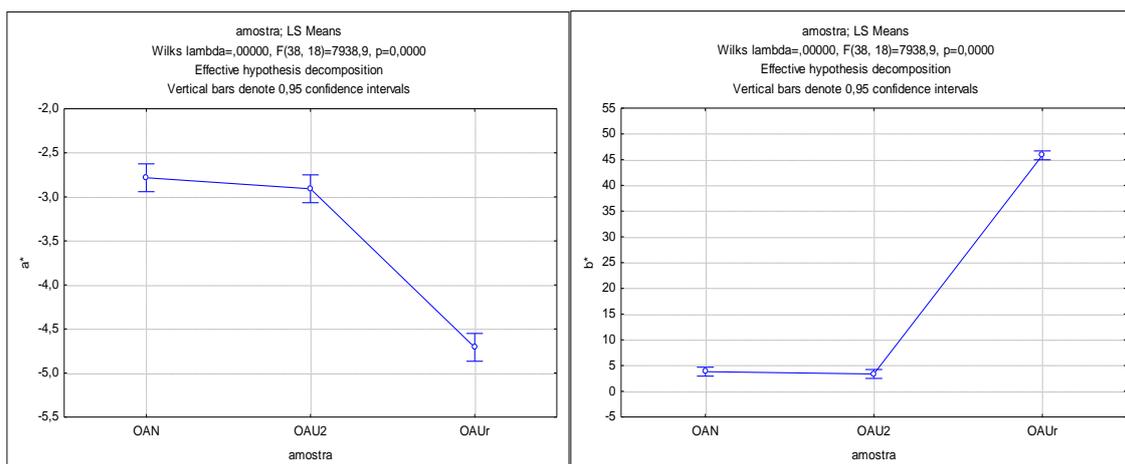


Figura 6: Cor CIELab - Representação gráfica das coordenadas cromáticas, a* e b*

A análise preliminar aos resultados da **cor CIELab** é promissora, pela existência de diferenças paramétricas significativas entre os óleos estudados, pela facilidade de execução técnica e interpretação de dados e por dispensar o consumo de reagentes (pese embora o método não constar do normativo para óleos alimentares, não ser possível determinar a cor aparente em óleos turvos e ser necessário equipamento específico). A **cor CIE**, apesar de ser um método normalizado para óleos alimentares (NP 937/1987), é de execução onerosa, laboriosa e de interpretação mais complexa.

Análise microbiológica. Os resultados das análises microbiológicas comprovam o que era esperado para este tipo de produto alimentar. Num novo conjunto de óleos fornecidos pelo Grupo Os Mosqueteiros, amostras de óleo novo (**O1**), fornecidas em embalagem seladas iguais às que se encontram à venda ao público, não evidenciam contaminação (u.f.c./mL < 1). Só amostras de óleos alimentares usados (**O2** e **O3**) apresentaram algum nível de contaminação, com resultados positivos na contagem de microrganismos lipolíticos a 30°C e de fungos lipolíticos a 25°C (2 u.f.c./mL e 1 u.f.c./mL, respectivamente, nas diluições 1:10 de óleo **O3**), bem como de fungos xerófilos (1 u.f.c./mL, na diluição 1:10 de óleo **O2**) (BERMEJO, 2014).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos Ensaio Prévios confirmam que o perfil químico dos óleos se altera significativamente com a reutilização em fritura, mas as conclusões são ainda preliminares. O teste ANOVA/MANOVA mostra diferenças significativas em óleos e parâmetros analisados. **AT, IP, cor CIELab** e **aw**, são promissores como *Indicadores de*

Degradação da Qualidade; Índi, cor CIE e Absorvência UV, perfilam-se como métodos de referência. Os resultados da análise microbiológica reforçam as conclusões da análise físico-química. Contudo, só analisando um maior universo de amostras, se pode avaliar a significância das alterações ao longo de vida e a real importância destes parâmetros no contexto e perfil de OAU's. Na prossecução do projecto pretende-se dar continuidade à metodologia proposta, visando a requalificação e valorização não alimentar de OAU's.

AGRADECIMENTOS

Agradece-se a Helena M. S. Mira, *PhD* e docente da ESAS, a revisão técnica deste artigo.

BIBLIOGRAFIA

- Adnan, A.; Raza, S. A.; Quereshi, A. F.; Asim, M. F.; Najaf, S.; William, J. (2009). Analytical investigation of oxidative deterioration of sunflower oil stored under different conditions in Pakistan. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 1043-1051.
- Aparicio, R. (2003). Manual del aceite de oliva. Ed. by J. Harwood. Madri Vicente, Ediciones y Mundi-prensa: Madri, 2003, cap. 14.
- Araujo V.K.W.S.; Hamacher S.; Scavarda L.F. (2010). Economic assessment of biodiesel production from waste frying oils. *Bioresouce Technology*, 101: 4415-4422. DOI: DOI 10.1016/
- Bermejo, S. (2014). Caracterização Físico-Química de Óleos Novos e Usados para Identificação de Indicadores de Degradação da Qualidade. Santarém, ESAS. 133 pp. Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Sistemas de Prevenção e Controlo Alimentar.
- Coll, I.; Fernández J.; Torres, M.; Sainz, J. (1999). Control e Higiene de los alimentos. McGraw-Hill/Intereamericana de Espana, S.A.U.: Esmeralda Mora. 432 pp.
- Decreto-Lei n.º 106/2005 de 29 de Junho. Diário da República – I Série-A, N.º 123
- Dobarganes, C. M. (2009). Frying Oils - Chemistry *in* Formation of New Compounds during Frying – General Observations. <http://lipidlibrary.aocs.org>.

- Erickson, M. C. (2002). Lipid oxidation of muscle foods *in* Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. Third Edition. Ed by C.C. Akoh & D.B. Min, Second Edition, Marcel Dekker, New York. 383-429 p.
- Fellows, J. P. (1996). Water activity *in* Food Processing Technology: Principles and Practice. Woodhead Pub. Ltd. Abington: England. pp 65-67.
- Gariso, S. (2011). Estudo do Efeito de Reutilizações Sucessivas de Óleos de Fritura sobre Parâmetros de Qualidade. Santarém, ESAS. 103 pp. Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Sistemas de Prevenção e Controlo Alimentar.
- Gertz, C. (2001). Determination of Polymerized Triglycerides Content in Deep-Frying fats and Oils. *European Journal of Lipid Science and technology*, 103: 114-116.
- Guia RELACRE 13 (2000). Validação de Métodos de Ensaio em Análise Química.
- Gunstone, D. F. (2008). Oils and Fats In the Food Industry. Wiley-Blackwell. 160 pp.
- Halliwell, B.; Murcia, M. A.; Chirico, S.; Aruama, O. I. (1995). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. A critical review. *Food Science and Nutrition*,. 7: 35.
- Hardy, R. (1979). Fish lipids part 2 *in* Advances in Fish Science and Technology. Ed. by J.J. Connel, Staff of Torry Research Station, Aberdeen-Scotland, p 103-110.
- Henriques, M.; Laranjeira, C.; Ribeiro, M. F.; Pinto, M.P.; Neves, A.; Santana, M.A. (2012). Alimentação Humana. 1ª Conferência Politécnica. Guarda: IPG, 10 Out 2012. *Matchmaking*. Comunicação por Poster.
- IGAOT (2005). Relatórios temáticos: Temática dos Óleos Alimentares Usados. Inspeção-Geral do Ambiente e do Ordenamento do Território
- Kamm, W.; Dionisi F.; Hischenhuber C., Engel K. H. (2001). Authenticity assessment of fats and oils. *Food Reviews International*, 17(3): 249-290.
- Kiritsakis, A. K. (1992). El Aceite de Oliva. Madrid, A. Madrid Vicente, Ediciones. ISBN: 84-87440-28-2.
- Ladikos, D., Lougovois, V. (1990). Lipid Oxidation in Muscle Foods: A Review. *Food Chemistry*, 35: 295-314
- Laranjeira, C.; Ventura, C.; Bermejo, S.; Faro, M.; Torgal, I; Lima, M.; Oliveira, M.; Henriques, M.; Ribeiro, M. (2014). Óleos alimentares usados: Indicadores de degradação de qualidade. Definição de critérios e de melhores práticas laboratoriais disponíveis, no âmbito da prevenção, requalificação e valorização de OAU's. *Revista da*

UIIPS: Número especial do Congresso UIPPS “Investigação, Inovação e Tecnologia: Novos Desafios”, Resumos. Nº1, Vol 2, Fevereiro de 2014, p. 44.

<http://www.ipsantarem.pt/arquivo/5004>

Laranjeira, C.; Ventura, C.; Bermejo, S.; Ribeiro, M.; Henriques, M. (2013). Óleos alimentares usados: caracterização físico-química para selecção de indicadores de degradação de qualidade e de melhores práticas laboratoriais disponíveis. Revista da UIIPS. Vol 2, Junho de 2013, 256-286. <http://www.ipsantarem.pt/arquivo/5004>

Laranjeira, C.M.; Ribeiro, M.F. (2013). Óleos Alimentares Usados: Indicadores de Degradação da Qualidade. Definição de Critérios e Melhores Práticas Laboratoriais Disponíveis, no âmbito da Prevenção, Requalificação e Valorização de Óleos Alimentares Usados. Projecto UIIPS & Grupo Os Mosqueteiros para o biénio 2014/15.

Laranjeira, C.M.; Bermejo, S.; Ribeiro, M.F.; Henriques, M. (2012 a,b,c) – a) Óleos alimentares: caracterização físico-química para identificação de indicadores de degradação da qualidade. XVIII Encontro Luso Galego Química. Vila Real: UTAD, 28-30 Nov 2012. AMA-26. b,c) Caracterização físico-química de óleos alimentares novos e usados para identificação de indicadores de degradação da qualidade. b) 5ª Reunião Anual PortFIR, Lisboa: INSA, 25 Out 2012. c) Congresso UIIPS “Investigação e Desenvolvimento no IPS”. Santarém, IPS, 8-9 Fev 2012. p.41. Comunicações por poster
Laranjeira, C.M.; Ribeiro, M.F. (2011). Caracterização físico-química de óleos alimentares novos e usados para identificação de indicadores de degradação da qualidade. Projecto UIIPS & Grupo Os Mosqueteiros para o biénio 2012/13.

Lima, M. G.; Laranjeira, C.M. (2011). Física (Cor). Santarém: ESAS (edição on-line)

Malcata, F. X.; Reyes, H. R.; Garcia, H. S.; Hill, C. G.; Amundson, C. H. (1990). Immobilized lipase reactors for modification of fats and oils – Review. JAOCS, 67 (12): 890-910.

Matias, A. A. (2008). Desenvolvimento de óleos alimentares funcionais da Ciência à Aplicação. Lisboa: ITQB-UNL. 288 pp. Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia Química.

Norma Portuguesa NP 937 (1987). Gorduras e Óleos Comestíveis: determinação da cor dos óleos e suas características cromáticas. CT39 (IQA). Lisboa: IPQ

Norma Portuguesa NP 904 (1987). Gorduras e óleos comestíveis: determinação do índice de peróxidos. CT39 (IQA). Lisboa: IPQ.

Norma Portuguesa NP 903 (1987). Gorduras e óleos comestíveis: determinação do índice de acidez e da acidez. Método titrimétrico. CT39 (IQA). Lisboa: IPQ.

NP Portuguesa NP 970 (1986). Gorduras e Óleos Comestíveis. Absorvências no ultravioleta. CT39 (IQA). Lisboa: IPQ.

NP Portuguesa NP 941 (1985). Gorduras e Óleo Comestíveis: determinação do índice de iodo. CT39 (IQA). Lisboa: IPQ.

Oliveira, R. L., Silva, F. S., Silva, M. J. M., Carvalho, M. F. L., Gomes, S. M. (2007) – Caracterização físico-química do óleo bruto de coco babuçu (*Orbignya phalerata* Mart.) comercializado na zona rural de José de Freitas-PI. II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Nordeste de Educação Tecnológica João Pessoa.

Reda, Y. S., Carneiro, B. I. P. (2007). Óleos e Gorduras: Aplicações e Implicações. Revista Analytica, 27: 60-67.

Perrin, J. L. (1996). Determination of Alteration *in* Oils and Fats Manual. Ed. by A. Karleskind and J. P. Wolff. Association Française pour l'Étude des Corps Gras. London, Paris & New York, p. 1205-1213.

Pettersen, M. K., Mielnik, M. B., Eie, T., Skrede, G., Nilsson, A. (2004). Lipid oxidation in frozen, mechanically deboned turkey meat as affected by packaging parameters and storage conditions. Poultry Science, 83: 1240-1248.

Plusquellec, A. (1991). Laits et produits laitiers, Chapitre 2 Partie IV Le Contrôle Microbiologique des Matières Premières et des Produits *in* Techniques d'Analyse et de controle dans les Industries Agro Alimentaires. Ed. by C. M. Bourgeois & J. Y. Leveau. Collection Sciences & Techniques Agro-Alimentaires, Vol 3, p. 335- 353.

Silva, F., A.; Borges, M., F.; Ferreira, M. (1998). Métodos de avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. Quimica Nova, 22 (1): 94-103

Wan, J.P. (2000). Properties of Fats and Oils *in* Introduction to Fats and Oils Technology. AOCS Press. Champaign: Illionois. p. 20-49.