



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA QUÍMICA**



ESTUDO DA CLARIFICAÇÃO DA LECITINA DE SOJA

LETÍCIA VIEIRA CASTEJON

Uberlândia – MG - Brasil
2010



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA QUÍMICA**



Estudo da Clarificação da Lecitina de Soja

Letícia Vieira Castejon

**Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Química da Universidade Federal de Uberlândia
como parte dos requisitos necessários à obtenção
do título de Mestre em Engenharia Química, área
de concentração em Processos de Separação.**

Uberlândia - MG

2010

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA COMO
PARTE DOS REQUISITOS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
ENGENHARIA QUÍMICA, EM /.... /.....

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. José Roberto Delalibera Finzer
Orientador (PPG-EQ/UFU)

Prof^a. Dr^a. Cláudia Maria Tomás Melo
(IFTM, Uberlândia)

Prof. Dr. Eloízio Júlio Ribeiro
(PPG-EQ/UFU)

Uberlândia – MG

2010

*Dedico essa dissertação à minha família.
E à minha nova fase de vida.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao nosso Pai maior, Deus, pelo sol que aquece, pela chuva que molha, pela lua que torna a noite encantadora e principalmente pelas pessoas que colocou ao meu lado na estrada da vida.

À minha mãe amada, Simone Melo Vieira, meus irmãos Danilo e Fernanda, meu noivo José Flávio e meu pai Fernando. Ao meu padrasto José Augusto e demais familiares.

Às minhas amigas do programa de Pós-Graduação, Janaína e Cristiane, mas especialmente à Kássia, pelas grandes ajudas e tempos despendidos à bela amizade constituída.

Ao meu orientador, José Roberto Delalibera Finzer, pela compreensão, apoio e ensinamentos.

Aos membros da banca de avaliação, Prof. Dr. Eloízio e Profa. Dra. Cláudia

Ao Instituto Federal do Triângulo Mineiro campus Uberlândia, nas pessoas dos colegas e amigos, principalmente à minha ex-aluna Glória Morais de Castro.

A outras tantas pessoas que me auxiliaram, agradeço.

*“O talento educa-se na calma e o caráter no
túmulo da vida”* (Goethe). Poucos os possuem,
alguns se educam e outros tantos passam
pela vida invejando os que possuem
talento e caráter.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- C347e Castejon, Letícia Vieira, 1983-
Estudo da clarificação da lecitina de soja [manuscrito] / Letícia
Vieira Castejon. - 2010.
133 f. : il.
- Orientador: José Roberto Delalibera Finzer.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.
Inclui bibliografia.
1. Lecitinas - Teses. 2. Soja - Teses. I. Finzer, José Roberto Dela-
libera. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
Graduação em Engenharia Química. III. Título.

CDU: 665.335.2

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 2.1: Diagrama do processo de degomagem com água.....	8
FIGURA 2.2: Fluxograma da degomagem de óleo de soja e produção de lecitina.....	10
FIGURA 2.3: Viscosidade da lecitina bruta a 70°C em relação ao conteúdo de umidade.....	12
FIGURA 2.4: Diagrama simplificado do processo de secagem da lecitina.....	12
FIGURA 2.5: Estruturas de ácidos graxos livres; (a) ácido graxo livre saturado de cadeia linear e (b) ácido graxo livre insaturado (monoinsaturado) de isomeria cis.....	19
FIGURA 2.6: Estrutura química de um fosfolipídio (fosfatidilglicerol).....	20
FIGURA 2.7: Estrutura da microemulsão óleo/água e água/óleo.....	26
FIGURA 2.8: Estruturas químicas da fosfatidilcolina (colina), da fosfatidiletanolamina (cefalina) e foafatidilinositol (inositol).....	30
FIGURA 2.9: Estrutura base dos compostos clorofilados e radicais dos grupamentos da clorofila “a” e “b”.....	33
FIGURA 2.10: Esquema de degradação da clorofila.....	36
FIGURA 2.11: Estrutura química espacial do licopeno.....	38
FIGURA 2.12: Estrutura química espacial do β-caroteno.....	38
FIGURA 2.13: Reação iônica do ácido fosfatídico.....	49
FIGURA 2.14: Representação espacial das estruturas químicas de hexano e metanol.....	50
FIGURA 2.15: Esquema simplificado sobre as reações em cadeia de degradação dos lipídeos.....	58
FIGURA 2.16: Estruturas formadas a partir de hidroperóxidos distintos.....	59
FIGURA 2.17: Estrutura química espacial do peróxido de benzoíla.....	62
FIGURA 3.1: Imagem das amostras de lecitina de soja pura adquiridas.....	64
FIGURA 3.2 – Fluxograma dos experimentos.....	66
FIGURA 3.3: Etapa de filtração do Teste preliminar.....	69
FIGURA 4.1 – Gráfico de resultados percentuais de massa de lecitina de soja retida por cada solvente.....	79
FIGURA 4.2: Fotografia à esquerda corresponde à lecitina de soja pura (Tratamento Y0) e a fotografia à direita refere-se ao experimento Y0 com agitação.....	108
FIGURA 4.3: Potes de polietileno de 300 mL contendo 100 g de lecitina purificada com peróxido de hidrogênio nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%, da esquerda para a direita.....	108
FIGURA 4.4: Potes de polietileno de 300 mL contendo 100 g de lecitina purificada com peróxido de benzoíla nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%, da esquerda para a direita.....	109
FIGURA 4.5: Vista superior das amostras dos tratamentos com peróxido de hidrogênio. Da esquerda para a direita, de cima para baixo, têm-se respectivamente os tratamentos	109

Y1, Y2, Y3 e Y4.....

FIGURA 4.6: Vista superior das amostras dos tratamentos com peróxido de benzoíla. Da esquerda para a direita, de cima para baixo, têm-se respectivamente os tratamentos Y1', Y2', Y3' e Y4'.....

110

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 2.1: Composição centesimal do grão de soja expresso em base seca.....	05
TABELA 2.2: Efeito da temperatura de extração sobre o conteúdo de fosfatídeos no óleo de soja degomado com água.....	09
TABELA 2.3: Classificação das Lecitinas de Soja.....	13
TABELA 2.4: Usos e Funções dos Fosfolipídeos.....	14
TABELA 2.5: Especificações comerciais da lecitina de soja produzida na Cargill S.A.....	17
TABELA 2.6: Parâmetros físico-químicos internacionais da lecitina de soja.....	18
TABELA 2.7: Conteúdo típico de fosfatídeos em alguns óleos brutos.....	21
TABELA 2.8: Conteúdo de fosfatídeos nos grãos.....	21
TABELA 2.9: Composição dos fosfatídeos (sem o óleo) no óleo de soja bruto.....	22
TABELA 2.10: Componentes menores nos óleos de soja brutos e após a degomagem com água.....	23
TABELA 2.11: Porcentagem de ácidos graxos presentes na lecitina de soja e no lecipalm®.....	29
TABELA 2.12: Pigmentos, fontes e respectivos espectros de absorção máxima.....	32
TABELA 2.13: Componentes não-glicerídeos dos óleos e gorduras brutos.....	42
TABELA 2.14: Parâmetros de solubilidade de Hansen.....	48
TABELA 2.15: Algumas espécies reativas de oxigênio.....	55
TABELA 3.1: Informação nutricional da lecitina de soja em 20 g (2colheres de sopa).....	65
TABELA 3.2: Parâmetros físico-químicos de qualidade da lecitina de soja classificada como standard.....	65
TABELA 3.3: Resumo descritivo das análises físico-químicas.....	70
TABELA 4.1: Massas médias (polares) obtidas e os desvios padrões médios após filtragem da lecitina de soja diluída nos respectivos solventes.....	79
TABELA 4.2: Custo e Ponto de Ebulação dos Solventes.....	81
TABELA 4.3: Teores de umidade médios determinados experimentalmente em estufa a 105°C.....	83
TABELA 4.4: Teores de umidade médios em cada tratamento sem a umidade do tratamento Y0.....	83
TABELA 4.5: Teores de umidade médios em cada tratamento sem a umidade do tratamento Y0.....	84
TABELA 4.6: Índice de saponificação médio (mg de KOH/g) experimental em cada tratamento.....	86
TABELA 4.7: Índices de saponificação médios finais (mg de KOH/g) em cada tratamento.....	87
TABELA 4.8: Absorbâncias iniciais médias determinadas a 232 nm e cubeta de 1 cm em	

cada tratamento.....	89
TABELA 4.9: Absorbâncias finais médias determinadas a 232 nm e cubeta de 1 cm em cada tratamento.....	89
TABELA 4.10: Absorbâncias iniciais médias determinadas a 270 nm e cubeta de 1 cm em cada tratamento.....	90
TABELA 4.11: Absorbâncias finais médias determinadas a 270 nm e cubeta de 1 cm em cada tratamento.....	91
TABELA 4.12: Absortividades mássicas específicas médias (g/g.cm) em cada tratamento e em cada experimento a 232 nm.....	92
TABELA 4.13: Absortividades mássicas específicas médias (g/g.cm) em cada tratamento e em cada experimento a 270 nm.....	93
TABELA 4.14: Absorbâncias médias determinadas em cubeta de 1 cm e comprimentos de onda 663 nm.....	95
TABELA 4.15: Absorbâncias médias determinadas em cubeta de 1 cm e comprimentos de onda 645 nm.....	96
TABELA 4.16: Teores médios de clorofila “a” (mg/g) em cada tratamento.....	97
TABELA 4.17: Teores médios de clorofila “b” (mg/g) em cada tratamento.....	97
TABELA 4.18: Absorbâncias médias determinadas em cubeta de 1 cm e comprimentos de onda 652 nm.....	99
TABELA 4.19: Teores médios de compostos clorofilados totais (mg/g) em cada tratamento.....	100
TABELA 4.20: Absorbâncias obtidas em cada tratamento a 448 nm e cubeta de 1 cm.....	102
TABELA 4.21: Concentrações finais médias de carotenóides em ppm.....	102
TABELA 4.22: Absorbâncias médias obtidas em cada tratamento a 365 nm e cubeta de 1 cm.....	105
TABELA 4.23: Absorbâncias médias obtidas em cada tratamento a 456 nm e cubeta de 1 cm.....	105
TABELA 4.24: Substâncias Marrons (mg/g) obtidas em cada tratamento.....	106
TABELA 5.1: Tabela demonstrativa e comparativa dos resultados obtidos nos experimentos de despigmentação de lecitina de soja.....	112

RESUMO

A lecitina de soja, normalmente conhecida como sendo um conjunto de fosfatídeos ou fosfolipídeos do óleo bruto de soja, possui em sua composição, não só moléculas lipídicas contendo moléculas de fósforo, mas contém quantidades consideráveis de clorofilas, carotenóides e substâncias marrons. Todas estas possuem espectros de absorções específicos que por espectrofotometria podem ser quantificadas, pois fornecem coloração característica à lecitina. A coloração é um marrom escuro, muitas vezes denominado de âmbar, que pode ser fator determinante na escolha e utilização desse emulsificante natural. Portanto, a coloração da lecitina de soja pode ser reduzida através da adição de compostos químicos peroxidantes, os quais possuem a estruturas (OO^{-2}) de radical peróxido em suas moléculas, tais como o peróxido de hidrogênio (descolorante químico inorgânico) e o peróxido de benzoíla (descolorante químico orgânico). A aplicação do peróxido de hidrogênio e do peróxido de benzoíla como descolorante da lecitina de soja foi estudada em concentração mínima de 0,5%, e máxima de 2,0%. As análises realizadas na lecitina de soja e nas amostras tratadas com os agentes descolorantes foram referentes aos teores de umidade, índice de saponificação, estabilidade oxidativa, compostos clorofilados, carotenóides e substâncias marrons. Foi realizado um teste preliminar logo no início do estudo, para se determinar qual, entre dez solventes orgânicos solubilizaria a lecitina ao máximo. O hexano foi escolhido como o apropriado para solubilizar a lecitina de soja nas análises físico-químicas de carotenóides, substâncias marrons e estabilidade oxidativa, pois possui melhor custo/benefício, é amplamente utilizado na extração de óleo bruto e possui característica de 100% de apolaridade. Os resultados obtidos nas análises físico-químicas da lecitina de soja adicionada de peróxido de hidrogênio a 35% nas proporções de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0% foram: baixos índices de saponificação, aumento gradativo na estabilidade oxidativa pelo decréscimo nos teores de estruturas primárias e secundárias da reação de peroxidação, degradação de compostos clorofilados, diminuição dos carotenóides e de substâncias marrons. Ao ser decomposto o peróxido de hidrogênio gera gás oxigênio e água livres. E, a respeito dos resultados referentes à adição de peróxido de benzoíla anidro 65% tem-se que o aumento na concentração desse causou elevação do índice de saponificação, aumento da estabilidade oxidativa da lecitina, degradação mais amena de compostos clorofilados e carotenóides, além de reduzir a quantidade de substâncias marrons. Por fim, verficou-se que a clarificação da lecitina comercial foi adequada, pois observou-se a despigmentação da lecitina de soja com peróxido de hidrogênio e peróxido de benzoíla visualmente e quantitativamente através de análises físico-químicas realizadas.

Palavras-Chave: lecitina de soja, peróxido de hidrogênio, peróxido de benzoíla.

ABSTRACT

The soy lecithin, usually known as being a phosphorous group or phospholipids of the rude oil of soy. He/she possesses in his/her composition not only molecules lipids containing match molecules, but they count considerable amounts of chlorophylls, carotenes and brown substances. All these possess specific spectra of absorptions that for spectrophotometric can be quantified, therefore they supply characteristic coloration to the lecithin. The coloration is a brown darkness, a lot of times denominated of amber, it can be decisive factor in the choice and use of that natural emulsificant. Therefore, the coloration of the soy lecithin can be reduced through the addition of compositions chemical peroxides, which possess to structures (OO⁻²) of radical peroxides in their molecules, such as the peroxides of hydrogen (inorganic chemical bleach) and the benzoila peroxides (organic chemical bleach). The application of the peroxides of hydrogen and of the benzyl peroxides as clarificant of the soy lecithin was studied and certain the minimum concentration was 0,5%, to the maximum of 2,0%. The analyses accomplished in the soy lecithin and in the samples treated with the bleaching agents were regarding the humidity tenors, saponification index, stability oxidative, composed chlorophylls, carotenes and brown substances. A preliminary test was accomplished soon in the beginning of the study, to determine which among ten solvents organic solubilized the lecithin to the maximum. The hexane was chosen as the appropriate for solubilization the soy lecithin in the physiochemical analyses of carotenes, brown substances and stability oxidative, because it possesses better custom/benefice, it is used thoroughly in the extraction of rude oil and it possesses characteristic of 100% of apolarity. The results obtained in the physiochemical analyses of the lecithin of added soy of peroxide of hydrogen to 35% in the proportions of 0,5%, 1,0%, 1,5% and 2,0% were: index bass of saponification, gradual increase in the stability oxidative for the decrease in the tenors of primary and secondary structures of the peroxidation reaction, degradation of compositions chlorophylls, decrease of the carotenes and of brown substances. To the peroxide of hydrogen to be decomposed it generates gas oxygen and free water, however the analysis on the humidity tenor was not satisfactory. And, regarding the results regarding the addition of peroxide of benzyl anidre 65% is had that the increase in the concentration of that it caused elevation of the saponification index, increase of the stability oxidative of the lecithin, suave degradation of composed chlorophylls and carotenes, besides reducing the amount of brown substances. Finally, at the end of the study the clarification terminology was determined as appropriate to describe the despigmentation of the soy lecithin with peroxide of hydrogen and benzyl peroxide visually e quantitively with physic-chemistry analyses realized.

Key-Words: soybean lecithin, benzyl peroxide, hydrogen peroxide.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	vii
Lista de Tabelas	ix
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
I - INTRODUÇÃO	1
II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 A soja e a lecitina de soja	4
2.2 Obtenção da lecitina de soja comercial: degomagem com água, processo tradicional. ..	7
2.3 Aspectos quantitativos e qualitativos da lecitina de soja comercial.....	13
2.4 Características das gomas de lecitina na degomagem.....	18
2.5 Propriedade emulsificante das gomas de lecitina de soja.....	24
2.6 Propriedades químicas das gomas de lecitina de soja	28
2.6.1 Clorofila.....	31
2.6.2 Carotenóides	37
2.6.3 Substâncias Marrons	41
2.7 Solvente	44
2.8 Processos Químicos de Purificação de Lecitina de Soja (Lecitina Branqueada e Duplamente Branqueada)	50
2.9.1 Peroxidação	53
2.9.2 Peróxido de Hidrogênio.....	60
2.9.3 Peróxido de Benzoíla.....	62
III – MATERIAL E MÉTODOS	64
3.1 Teste Preliminar	68
3.2 Análises físico-químicas dos Tratamentos.....	70
3.2.1 Umidade – Secagem direta em estufa a 105°C (IAL, 012/IV, 2002).	71
3.2.2 Índice de Saponificação (IAL, 328/IV, 2002).	71
3.2.3 Estabilidade Oxidativa - Extinção Específica por absorção na região do ultravioleta (IAL, 343/IV, 2002).	72

3.2.4 Compostos Clorofilados - Metodologia utilizada por Engel e Poggiani (1991)	74
3.2.5 Teor de Substâncias Marrons e Carotenóides - Método desenvolvido por Leverovich (1985)	75
3.2.6 Coloração – Método Empírico de Comparação Qualitativa Visual	76
IV – RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	77
4.1 Teste Preliminar	78
4.2 Análises físico-químicas dos experimentos e tratamentos	82
4.2.1 Teor de Umidade	82
4.2.2 Índice de Saponificação.....	85
4.2.3 Estabilidade Oxidativa - Extinção Específica por absorção no UV	88
4.2.4 Teores de Compostos Clorofilados	95
4.2.5 Teor de Substâncias Marrons e Carotenóides.....	101
4.2.6 Coloração – Comparação Visual	107
V - CONCLUSÕES	111
VI – SUGESTÕES.....	114
VII – REFERÊNCIAS	115
VIII – APÊNDICE I.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
IX – APÊNDICE II	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
X – APÊNDICE III	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
XI – APÊNDICE IV	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

I - INTRODUÇÃO

A lecitina comercial corresponde a um conjunto de fosfatídeos ou fosfolipídeos, que normalmente são extraídos de fontes oleaginosas, tais como gema de ovo, algodão, milho e soja. A lecitina é utilizada para aplicações industriais ou para fins nutricionais, apresentando-se em geral, sob o estado pastoso e de cor acastanhada, clara ou escura a depender da sua matéria-prima de origem ou de sua classificação comercial. Além disso, possui propriedades funcionais que são determinadas pelas conformações estruturais de seus principais componentes, os fosfolipídeos.

Os fosfolipídeos são estruturas apolares e polares, portanto, lipofílicos e lipofóbicos, que contêm em suas estruturas ácidos fosfóricos ligados a bases nitrogenadas (aminas secundárias ou primárias) e a álcool cíclico, formando as estruturas como a fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol. Essas três estruturas basicamente compõem a lecitina dita comercial, entretanto pode ainda conter outras substâncias associadas como carboidratos, fibras, proteínas e óleos.

Nas indústrias brasileiras, o processo mais comumente aplicado para obtenção da lecitina de soja comercial é o processo de degomagem de óleo vegetal bruto com água quente. Esse processo consiste em geral, na adição de 1 a 3% de água ao óleo bruto aquecido a 60-70°C e agitação lenta durante 20-30 minutos. A degomagem ocasiona a formação de um precipitado denominado de borra, que é removida do óleo por centrifugação a 5.000-6.000 rpm. As borras, constituídas basicamente de gomas, que são estruturas hidrocoloidais de fosfatídeos e demais estruturas hidratadas, contendo cerca de 50% de umidade, após a degomagem são secadas sob vácuo e à temperatura de 70-80°C. Após a secagem obtém-se o produto então denominado de “Lecitina de Soja Comercial” com 1% de umidade, que é classificado de acordo com sua caracterização técnica segundo parâmetros físico-químicos (MORETTO E FETT, 1998).

A lecitina de soja comercial possui parâmetros físico-químicos qualitativos bem definidos quanto aos limites máximos e mínimos que deve conter de: índice de peróxido, cor Gardner, acidez, umidade, índice de acetona e viscosidade. É normatizada pela AOCS (*American*

Oil Chemistry Society) e legitimada por órgãos como a FAO (*Food and Drug Administration*) e *Codex Alimentarius* para ser utilizada como aditivo alimentar, emulsificante.

A característica hidrofílica/hidrofóbica presente nas estruturas da lecitina comercial a caracteriza como emulsificante natural com maior número de aplicações nas indústrias alimentícias. Normalmente é utilizada como emulsificador lipofílico, estabilizante e espessante em diversos produtos como: margarinas, biscoitos, chocolates/coberturas, caramelos, suplementos dietéticos, rações, tintas e cosméticos.

A utilização da lecitina de soja como aditivo alimentar natural de ação emulsificante deve ser ampliada e melhor estudada. Verifica-se nos estudos sobre lecitinação que dois fatores são determinantes para a aplicação, um é a viscosidade e o outro é a coloração da lecitina de soja. O comportamento relacionado com a viscosidade da lecitina de soja é melhorado ou modificado industrialmente com a adição de óleo refinado e isso influencia na classificação de lecitina ao ser comercializada, no tipo de aplicação ao produto granulado seco e expressivamente no valor energético nutricional do mesmo. Já o aspecto da coloração que interfere na decisão de uso do produto, foi descrito em antigos trabalhos datados de meados dos anos 80 sobre a utilização do agente descolorante, peróxido de hidrogênio, a fim de se verificar o percentual adicionado e a relação com a coloração atingida, além da influência desse na qualidade em termos da quantidade de peróxidos gerados. Segundo a literatura dessa época, pode ser adicionado até 2,0% de peróxido de hidrogênio sobre o volume total de lecitina de soja. Nos mesmos trabalhos, há referências sobre a utilização de peróxido de benzoíla, entretanto sendo utilizado após a aplicação prévia do peróxido de hidrogênio na proporção de 0,008% e nunca realizada sua aplicação como agente descolorante primário.

Dos trabalhos investigativos realizados sobre a lecitina, dos anos 80 aos anos 90, poucos avanços aconteceram sobre a despigmentação, sendo estudado apenas o processo de degomagem em termos de otimização e eficiência na retirada do maior conteúdo possível de gomas visando a melhoria do óleo refinado. Dos anos 90 até a atualidade, voltou-se a tratar da lecitina de soja comercial *in natura*, da coloração característica, sobre o processo de lecitinação, como aditivo emulsificante em produtos de panificação, confeitoraria e fármacos, todos instantaneizados, bem como sobre seus aspectos nutracêuticos como suplemento alimentar em animais.

Devido sua importância para o setor alimentício existe a necessidade de trabalhos científicos que visem à ampliação de utilização das lecitinas de soja comerciais disponíveis, relacionando aos aspectos citados de viscosidade e coloração quando adicionada a alimentos líquidos, semi-sólidos e sólidos.

Em virtude dessa relevância, o presente trabalho teve como objetivo geral, estudar os aspectos físico-químicos envolvidos na purificação da lecitina de soja com os agentes descolorantes, peróxido de hidrogênio (inorgânico) e peróxido de benzoíla (orgânico), utilizados de forma isolada, visando o aspecto coloração no que tange à remoção, para possibilitar maiores aplicações do emulsificante nos alimentos, considerando-se que a coloração seja um parâmetro determinante na qualidade, no que diz respeito à decisão de uso do produto lecitinado de qualidade.

Como objetivos específicos necessários para atender ao objetivo geral tem-se:

- Revisar artigos e livros que associem a obtenção e utilização da lecitina de soja, especificando os principais constituintes químicos da lecitina relacionados à qualidade e à sua coloração específica.
- Realizar teste preliminar quanto ao solvente adequado para ser utilizado em determinadas análises físico-químicas em que haja necessidade de solubilizar a lecitina.
- Caracterizar físico-quimicamente a lecitina de soja comercial pura utilizada no estudo quanto a teor de umidade, índice de saponificação, estabilidade oxidativa, clorofilas, carotenóides e substâncias marrons.
- Tratar quimicamente a lecitina de soja comercial com a adição de diferentes concentrações de agentes descolorantes como o peróxido de hidrogênio e de benzoíla e caracterizá-la físico-quimicamente da mesma forma.
- Verificar na lecitina adicionada de agentes descolorantes, alterações químicas oxidativas de forma quantitativa, comparando os resultados obtidos em cada análise físico-química.
- Tratar estatisticamente os resultados obtidos, realizando a devida comparação entre os tratamentos (concentrações) e os tipos de descolorantes.

II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As bases tecnológicas utilizadas nos processos para a transformação, estudo e investigação em otimização e melhoria dos alimentos industrializados perpassam as expectativas acadêmicas e deslumbram os consumidores com a diversidade de produtos, os quais questionam a natureza em termos de saúde e sanidades oferecidas. Nesse contexto, os produtos ditos *in natura* ganham espaço no mercado atual e possuem a tendência estratégica de unir os processos tecnológicos à conservação dos nutrientes e à qualidade, trazendo novas linhas de pesquisa e aspectos inovadores a serem explorados.

A lecitina de soja é aditivo natural classificado como emulsificante e estabilizante, sua adição no alimento é em função de sua ação, características químicas, físicas e do custo. Originária como subproduto do processamento, da soja e do processo de obtenção do óleo refinado é um macronutriente do grão constituído de moléculas orgânicas fosfatídeas as quais são o maior destaque da fração não-glicerídica do óleo bruto da soja.

2.1 A soja e a lecitina de soja

A soja, grão oleaginoso, é constituída principalmente por lipídeos, proteínas, carboidratos e constituintes minerais, todos estes são macronutrientes e micronutrientes do grão, que variam em proporções a depender principalmente de fatores botânicos e biológicos, conforme mostrado na Tabela 2.1.

A soja (*Glycine max* L.) é um dos principais produtos agrícolas do Brasil, com papel importante na área econômica e social, devido ao elevado teor lipídico que apresenta como verificado na Tabela 2.1.

O complexo soja, basicamente restringe-se ao grão, farelo e óleo. Estes produtos são importantes itens da Balança Comercial Brasileira, cujo montante em exportações registraram mais de US\$16 milhões em 2009 (ABIOVE, 2010).

TABELA 2.1: Composição centesimal do grão de soja expresso em base seca.

Proteínas	41,0
Lipídeos	20,0
Carboidratos*	31,0
Cinzas	8,0

* No percentual de carboidratos estão incluídas as fibras.

Fonte: ANDRADE, 2006 (adaptada).

A soja é um produto com grande expressão na economia externa e interna do Brasil, não só pelo seu valor nutricional como grão adequado para consumo, mas pela gama de produtos oriundos das frações do grão, tais como os altos teores de óleo e proteínas, como também, à boa valorização comercial de seus resíduos, em destaque a lecitina de soja.

Parte da valorização comercial da lecitina de soja decorre de seus benefícios nutricionais e fisiológicos, o resultado de um estudo é descrito por Marconcin (2008) que a utilizou como suplemento alimentar para cães. Dentre as diversas funcionalidades enumeradas estão, a manutenção e regeneração hepática; prevenção da distrofia; ativação plaquetária; constituição das membranas celulares e manutenção fluídicas das mesmas; precursora de mediadores químicos da inflamação, como as prostaglandinas, os tromboxanos e os leucotrienos; controle dos níveis, solubilização e transporte de colesterol sanguíneo; aumento na produção de sais biliares; desenvolvimento do hipocampo e áreas envolvidas na formação e recuperação da memória, além da melhoria nos sintomas de depressão bipolar.

Tamanha diversidade de funcionalidades nutricionais em estudo, não supera a sua grande utilização como emulsificante e/ou estabilizante natural, em alimentos industrializados. Uma das utilizações mais importantes da lecitina de soja tem sido a lecitinação de alimentos em pó, por exemplo, no leite em pó e em pré-misturas, cujo valor agregado é a instantaneização, ou seja, a miscibilidade dos alimentos secos, granulados e aglomerados em água fria. Tais procedimentos visam à versatilidade no manuseio, praticidade e armazenamento dos produtos alimentícios. Muitas das propriedades para estes fins decorrem do correto processo de obtenção e extração da lecitina de soja (VISSOTTO et al, 2006).

A produção de lecitina de soja tem início nos processos industriais para obtenção de óleos refinados que se divide em duas partes: extração do óleo bruto e refino do mesmo. As etapas da produção do óleo bruto são (AMARAL; JAIGOBIND; JAIGOBIND, 2006):

- Armazenamento da soja
- Preparação da matéria prima
- Extração do óleo bruto

O armazenamento refere-se à etapa posterior ao beneficiamento dos grãos de soja (limpeza, classificação e secagem) por determinado período de tempo em estruturas conhecidas como silos sob condições controladas, principalmente a umidade. Dependendo da demanda e produção (safra) do grão, decorre-se à etapa de preparação para extração do óleo bruto que envolve as sub-etapas de descascamento, Trituração, laminação e cozimento. A etapa de extração do óleo bruto consiste na retirada do óleo mecanicamente por prensagem e/ou pelo contato do solvente com a estrutura sólida celular do grão preparado. O solvente mais utilizado nessa etapa é o hexano (MORETTO; FETT, 1998).

O óleo bruto extraído é composto por uma mistura de triglicerídeos (uma molécula de glicerol unida a três radicais de ácidos graxos), ácidos graxos livres, fosfatídeos (lecitina), compostos oxigenados, pigmentos (caroteno, xantofilas, clorofilas), gossipol, quinonas, dicetonas, voláteis diversos, dentre outros (LOPES, 2008).

A remoção dos fosfatídeos e de grande parte de estruturas diferentes aos triglicerídeos do óleo bruto corresponde ao processo denominado degomagem. Os compostos eliminados na etapa de degomagem do óleo bruto são denominados de lecitina de soja e a separação destes resumidamente é feita normalmente por hidratação com água quente, separação por centrifugação e secagem à vácuo (MORETTO; FETT, 1998). As borras ou gomas, obtidas através do refino do óleo, após a degomagem, contem cerca de 50% de umidade quando não secas, mas após o processo de secagem a umidade deve situar no máximo a 1% (DORSA, 1998). Os triglycerídeos isentos desses componentes seguem-se por etapas subsequentes de refino para então serem comercializados como óleo vegetal refinado comestível.

O produto chamado de lecitina compõe-se em cerca de 60% de mistura de fosfatídeos (colina, etanolamina e inositol), 38% de óleo e 2% de umidade segundo Moretto e Fett (1998). Miyasaka e Medina (1981) especificaram os componentes fosfatídicos dissolvidos em óleo de soja, na seguinte proporção aproximadamente: colina – 20%, etanolamina ou cefalina – 20%, inositol – 21%, óleo de soja – 35%, e umidade, açúcares, proteínas e outros – 4%.

Nota-se que no processo de degomagem, processo de hidratação dos fosfolipídeos, além da umidade em excesso. A lecitina de soja no estado de goma arrasta ou se complexa com uma série de outros compostos hidrossolúveis presentes no óleo bruto oriundas da composição do grão, que quando secos irão compor a lecitina de soja comercial.

2.2 Obtenção da lecitina de soja comercial: degomagem com água, processo tradicional.

O óleo bruto, tal como se obtém por processos de prensagem ou extração por solventes, a partir dos grãos de soja, é formado por glicerídeos e substâncias denominadas componentes não-glicerídeos. Estes últimos componentes são de natureza muito diversa e sua presença no óleo bruto ou recém-extraído é muito reduzida, geralmente variando de 1,1 a 3,2% com média de 1,8%. Estes, como relatado, são os fosfatídeos ou fosfolipídeos (OLIVEIRA, 2001).

Durante a refinação do óleo bruto de soja, com o objetivo de purificá-lo para os fins a que se destina, efetua-se a separação da maior parte daqueles componentes não-glicerídeos. Estas substâncias poderiam ser classificadas em dois grandes grupos, aquele cuja presença afeta o rendimento da refinação do óleo e que pode ser eliminado previamente por processo físico e aqueles cujos componentes somente podem ser eliminados com resultados mais notáveis por processos químicos e físico-químicos mediante a refinação parcial ou total do óleo (ALLEN et al, 1953a).

A degomagem com água corresponde à forma mais simples de se promover a redução de fosfatídeos, principalmente quando se deseja extrair a lecitina de soja. Geralmente a quantidade de água empregada na hidratação varia de 0,5 a 3,0% sobre o volume total de óleo bruto, determinando-se quase sempre a proporção mais adequada por meio de ensaios prévios em laboratórios (MORETTO; FETT, 1998).

O primeiro grupo de compostos a serem removidos do óleo bruto em sua maior parte coagulável e separável por hidratação libera uma massa de aspecto gomoso, daí a denominação de degomagem dado ao processo de separação das gomas do óleo como fase prévia e independente das etapas de refino propriamente ditas em que ocorrem as eliminações das substâncias do segundo grupo (BELITZ; GROSH, 1999).

O motivo para se proceder à degomagem do óleo bruto é que durante a estocagem, as gomas nele contidas se hidratam e precipitam, arrastando óleo, com a formação de fundo de tanque, também denominados, borras. Estas borras no óleo causam problemas de hidrólise e rancificação, consequentemente aumentam a acidez e geram sabores e odores estranhos (BELITZ; GROSH, 1999).

O grupo dos não-glicerídeos aglomeráveis (gomas) e separáveis por centrifugação, ao se ligarem com a água, formam as borras, e em seu conteúdo há uma proporção de óleo que varia segundo as condições de coagulação e separação. A esta porção denomina-se óleo arrastado na borra de lecitina. A quantidade de água, bem como a temperatura e a eficiência da centrifugação

no processo de obtenção da lecitina, são os fatores principais que mais estão relacionados com a presença do óleo nas borras (ALLEN et al, 1953a).

A Figura 2.1 é uma ilustração esquemática de uma instalação contínua de degomagem com água. Observa-se, a injeção de água quente ao óleo pré-aquecido, para possibilitar a redução do tempo de hidratação em alguns minutos. Neste caso, o volume de água quente (vapor) a ser incorporado ao óleo, deve ser proporcional ao conteúdo de gomas presentes no óleo bruto. Esse processo de injeção proporciona uma mistura intensiva da água com o óleo, sendo que um misturador centrífugo para esta finalidade é o equipamento mais indicado. Este proporciona uma mistura intensa que é capaz de promover a hidratação espontânea dos fosfatídeos, como resultado da fina dispersão da água no óleo (SANTOS; ZANETTI, 1981).

Degomagem com água

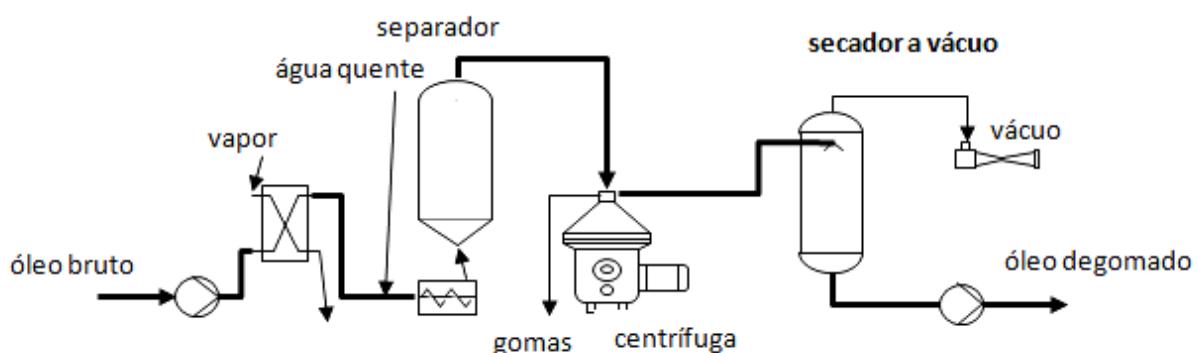


FIGURA 2.18: Diagrama do processo de degomagem com água.

Fonte: DORSA, 1998.

A temperatura durante o processo necessita ser controlada e mantida constante, pois, uma baixa temperatura irá promover uma melhor degomagem, porém acarretará maiores perdas de óleo incorporado nas gomas. Uma alta temperatura promoverá menor perda de óleo nas gomas, porém, maior quantidade de gomas permanecerá em solução e não serão separadas através do processo, comprometendo a qualidade da lecitina e do óleo (DORSA, 1998).

A Tabela 2.2 apresenta um estudo sobre a temperatura de degomagem, na obtenção da lecitina, com relação ao conteúdo de fosfatídeos eliminados no processo com água do óleo de soja bruto.

Observa-se na Tabela 2.2 que quanto maior a temperatura de extração do óleo, maior é a quantidade dos fosfatídeos após a degomagem no óleo, ou seja, menos eficiente é o processo de extração das gomas (MORETTO; FETT, 1998).

TABELA 2.2: Efeito da temperatura de extração sobre o conteúdo de fosfatídeos no óleo de soja degomado com água.

Amostra	% H₂O	Temperatura	fosfatídeos retirados do óleo após degomagem
1	12,4	40/50/60	0,43/0,70/1,05
2	12,3	40/50/60	0,50/0,85/1,21
3	13,0	40/50/60	0,44/0,91/1,10

Fonte: MORETTO; FETT, 1998.

À temperaturas superiores a 80°C e em exposição por tempo prolongado, a lecitina tende a se escurecer, devido à peroxidação de açúcares eventuais em sua composição, afetando assim sua qualidade comercial (MORETTO; FETT, 1998).

Em geral, estima-se que a temperatura de degomagem situa-se entre 55 e 82°C e mais precisamente, no caso do óleo de soja, a temperatura mais adequada para a centrifugação (processo de separação das gomas ou borras) é de aproximadamente 75°C (ALLEN et al, 1953a).

As gomas hidratadas, extraídas através do processo de degomagem, correspondem a pastas muito viscosas, separadas do óleo através de centrifugas auto-limpantes, que, quando dotadas de sistema CIP (*clean-in-place*), praticamente nunca necessitam de limpeza manual (NEUMUNZ, 1991).

No fluxograma do processo mostrado na Figura 2.2, as gomas úmidas das centrífugas são transferidas para um tanque de mistura, onde agentes branqueadores, agentes de fluidez, ou ambos podem ser adicionados.

A indústria brasileira Caramuru Alimentos Ltda é uma das empresas do ramo que adiciona ambos agentes e utilizam o processo do fluxograma da Figura 2.2, como se pode verificar nas descrições das etapas de seu processamento da lecitina (CASTEJON, 2007):

➤ **Degomagem/Hidratação:** após a filtragem prévia do óleo bruto, o óleo é hidratado com água desmineralizada e/ou deionizada provinda da estação de tratamento de água (ETA) cuja dosagem é entorno de 2 a 3% da vazão do óleo bruto filtrado.

➤ **Cristalização:** o tanque cristalizador com capacidade de 9 m³ possui agitação lenta para homogeneização e formação dos cristais de lecitina (hidratação dos fosfatídeos) denominados de gomas. Ao conjunto de gomas denomina-se borra.

➤ **Centrifugação:** após o cristalizador, o óleo é enviado para duas centrífugas com capacidade de 10 toneladas cada uma com rotação de 5000-6000 rpm, que operam simultaneamente, realizando a separação das borras de lecitina no óleo.

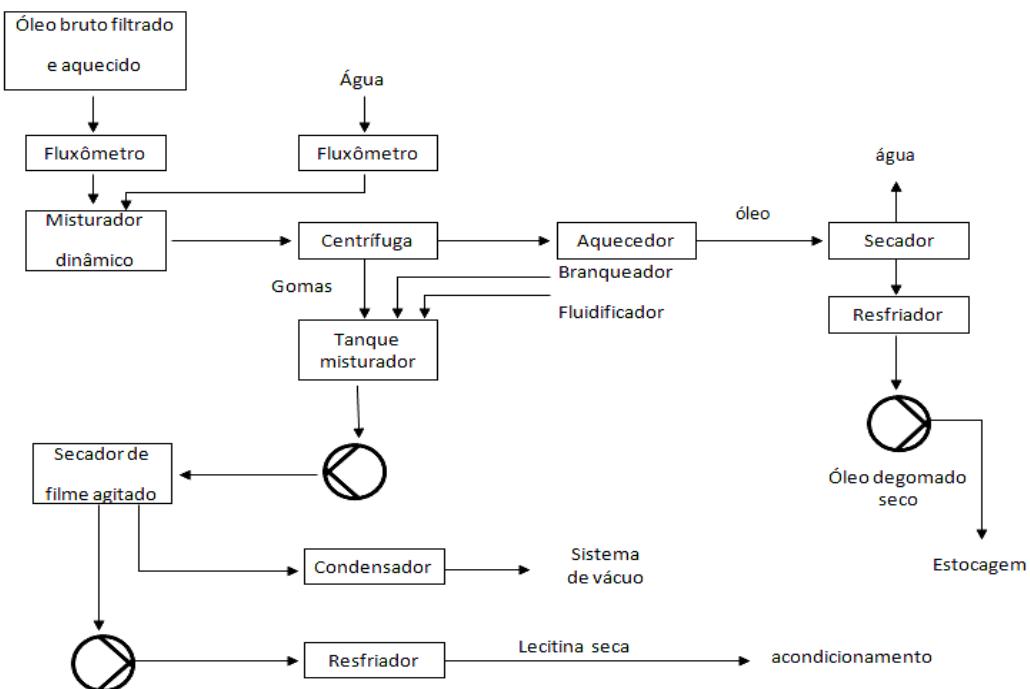


FIGURA 2.19: Fluxograma da degomagem de óleo de soja e produção de lecitina
Fonte: DORSA, 1998.

➤ **Secagem do óleo degomado:** a borra de lecitina segue para um aquecedor onde alcança a temperatura entre 95 e 115°C, e então é secada em pressão de 50 mmHg, e temperatura de secagem constante. Após atingir a umidade desejada descarregue-se a lecitina no tanque de preparação. O tempo de secagem pode variar entre 6 a 7 horas para cada batelada (5000 kg). A borra entra nos secadores com o teor de umidade de aproximadamente 45% e sai com umidade inferior a 1%.

➤ **Resfriamento:** a borra seca é resfriada em um trocador de calor tipo “Votator”, indo posteriormente para os tanques de armazenamento. As bateladas de borras secas forma-se um lote de lecitina de soja extraídas ao longo de um dia, resfriadas até 30-40°C.

➤ **Adição de peróxido de hidrogênio:** após o término da secagem, peróxido de hidrogênio é adicionado na proporção de 2% sobre o volume total da lecitina. A lecitina é distribuída sobre a superfície interna de um cilindro por onde escoa na forma de um filme sobre o qual é atomizado peróxido de hidrogênio.

➤ **Ajuste de especificação:** após a adição de peróxido, o lote de lecitina, é enviado para o tanque de padronização no qual é adicionado óleo degomado (isento de gomas) e/ou ácido graxo livre para que a lecitina de soja atenda às especificações físico-químicas quanto à viscosidade.

➤ **As quantidades e as especificações:** as especificações desejadas são previamente definidas conforme necessidades do cliente, realizando-se um balanço de massa quantifica-se a

quantidade necessária de ácido graxo para o ajuste da viscosidade. Feita a dosagem dos complementos adicionados, a lecitina é circulada e agitada durante 2 horas para garantir a homogeneização do produto final.

➤ **Filtragem da lecitina:** a lecitina dentro das especificações passa por um conjunto de filtros que retém partículas maiores que 0,2 mm.

➤ **Armazenamento:** realizada a filtragem, o lote de lecitina é enviado para o armazenamento final nos tanques de onde este será bombeado para caminhões isotanques, que mantêm a temperatura e pressão constantes, específicos para transporte deste tipo de produtos alimentícios, tanto para exportação, quanto para outras localidades do mercado interno. A temperatura de armazenamento é a temperatura ambiente, não havendo condições especiais a não ser da hermeticidade do tanque e proteção à penetração de luz.

Com ou sem aditivos, as gomas úmidas, contendo aproximadamente 50% de água devem então ser secas até um nível máximo de 1% de umidade e esta etapa constitui um ponto crítico de controle (PCC) nas etapas de obtenção da lecitina comercial.

De acordo com Santos e Zanetti (1981), a secagem da lecitina corresponde a uma etapa bastante crítica no processo de produção, devido à possibilidade de ocorrência de duas alterações, a tendência das gomas escurecerem com a ação do calor e a variação gradativa da viscosidade na medida em que a umidade vai sendo reduzida, existindo uma condição de viscosidade máxima permitida pela legislação.

Este comportamento pode ser visualizado na Figura 2.3, na qual a viscosidade inicial do produto com 20% de umidade vai aumentando gradativamente até atingir uma viscosidade máxima de aproximadamente 9.000 P (Poise) ou 900 Pa.s e umidade de 7 a 8%. Quando o processo de secagem proporciona ao produto uma umidade em torno de 7%, a viscosidade passa a decrescer continuamente até atingir cerca de 300 P ou 30 Pa.s e aproximadamente 4% de umidade, devendo ser mantida a temperatura constante em torno de 70°C (DORSA, 1998).

Devido às restrições quanto à utilização de temperatura excessiva que interfira diretamente na constituição da goma, muitas vezes é utilizado um evaporador de filme agitado, para reduzir a umidade (cerca de 50%) da lecitina após o processo de degomagem. O equipamento utilizado deve ser controlado à temperatura de 60-80°C e pressão constante de no máximo 20 mmHg (DORSA, 1998).

Secadores tipo batelada, como mostrado na Figura 2.4, funcionam sob vácuo e são equipados com serpentinas rotativas por onde escoa água à temperatura entre 60-70°C. Sistemas de secagem contínuos, mais modernos, utilizam secadores tipo “filme agitado” para remoção de umidade (DORSA, 1998).

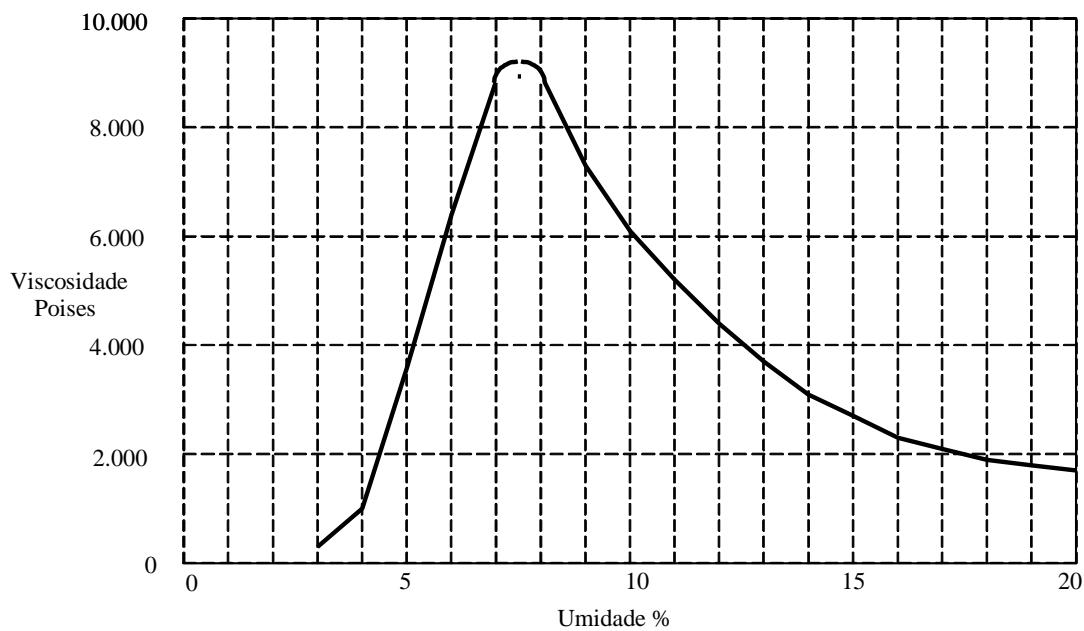


FIGURA 2.20: Viscosidade da lecitina bruta a 70°C em relação ao conteúdo de umidade.
Fonte: DORSA, 1998.

A Figura 2.4 apresenta um diagrama simplificado da secagem da lecitina de soja com a representação dos seus respectivos equipamentos.

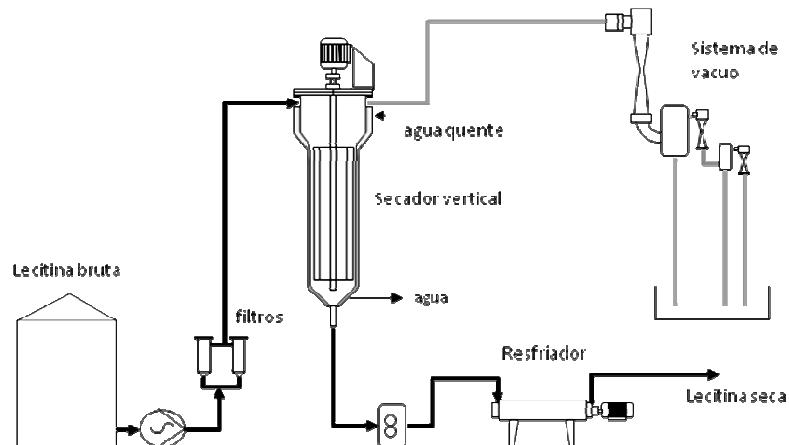


FIGURA 2.21: Diagrama simplificado do processo de secagem da lecitina
Fonte: DORSA, 1998.

De acordo com o fluxograma do processo de obtenção da lecitina de soja mostrado na Figura 2.2, uma grande variedade de lecitinas pode ser produzida. Uma classificação de lecitinas comerciais de soja é apresentada na Tabela 2.3.

TABELA 2.3: Classificação das Lecitinas de Soja

I. Natural

- A. Plásticas
 - 1. Não Branqueadas
 - 2. Branqueadas
 - 3. Duplamente branqueadas
- B. Fluidas
 - 1. Não Branqueadas
 - 2. Branqueadas
 - 3. Duplamente branqueadas

II. Refinadas

- A. Misturas especiais - naturais
- B. Isentas de óleo
- C. Fosfatídeos isentos de óleo fracionados
 - 1. Solúveis em álcool

III. Quimicamente modificadas

Fonte: DORSA, 1998.

De acordo com a classificação das lecitinas, existem três tipos diferenciados de produtos: as lecitinas naturais, as refinadas e as quimicamente modificadas. No processamento das lecitinas quimicamente modificadas, as alterações químicas são efetuadas para modificar as propriedades emulsificantes e para aumentar a sua miscibilidade em fase aquosa (ABOISSA, 2008).

As lecitinas quimicamente modificadas incorporam características que podem ser: hidrogenada, hidroxilada, acetilada, sulfonada e halogenada. Assim, os derivados de lecitina têm propriedades emulsificantes variáveis para usos também variáveis (DORSA, 1998).

2.3 Aspectos quantitativos e qualitativos da lecitina de soja comercial

As especificações dos diversos tipos de lecitina de soja para fins de comercialização no mercado internacional são difundidas pela NSPA – *National Soybean Processors Association* que anualmente edita um boletim que informa às empresas produtoras as normas e especificações do óleo, farelo e lecitina de soja definidas para o exercício do ano seguinte. As especificações dos padrões internacionais dizem respeito à: viscosidade, matéria insolúvel, umidade, índice de acidez, pureza (coloração), dentre outros e são baseados em pesquisas e estudos quantitativos e qualitativos dos produtos basicamente realizados pelos membros da AOCS (*American Oil Chemistry Society*) e de instituições renomadas na área (DORSA, 1998).

Uma descrição mais detalhada sobre o uso dos diversos tipos de lecitina, suas características qualitativas pode ser encontrada na Tabela 2.4.

TABELA 2.4: Usos e Funções dos Fosfolipídeos

Produto	Função
Alimentos	
Solúveis	Agente umectante e dispersante; emulsificante
Panificação	Modificação das propriedades de panificação; emulsificante; antioxidante
Chocolate	Redução de viscosidade; antioxidante
Margarina	Emulsificante; impermeabilizante; antioxidante
Dietéticos	Suplemento nutritivo
Nutrientes	
Substituto em leite	Emulsificante; agente umectante e dispersante
Indústria	
Inseticidas	Emulsificante; agente dispersante
Tintas/Fitas	Agente dispersante; estabilizador
Magnéticas	Agente dispersante; emulsificante
Couro	Agente amaciante; óleo penetrante
Têxtil	Amaciante; lubrificante
Cosméticos	
Cabelos	Estabilizador de espuma; emoliente
Pele	Emulsificante; emoliente; umectante
Farmacêuticos	
Nutrição parental	Emulsificante
Supositórios	Agente atenuador
Cremes, loções	Emulsificante

Fonte: DORSA, 1998 (modificada).

A lecitina comercial ou lecitina de soja natural, não branqueada, como é conhecida, usualmente é transportada em tambores tipo mini-contêineres e/ou caminhões tanques. É a mais utilizada e comercializada no atacado para grandes indústrias de fármacos, cosméticos e de alimentos em tonéis metálicos de 50 kg se na forma líquida, acompanhados de laudos técnicos contendo as especificações necessárias do produto.

As especificações que constam nos laudos técnicos expedidos pelas indústrias processadoras de lecitina de soja dizem respeito aos aspectos microbiológicos e físico-químicos utilizados na avaliação da qualidade da lecitina (CECCHI, 2003).

As análises físico-químicas realizadas pelas empresas que processam soja e lecitina de soja seguem algumas das metodologias nos planos de amostragem e métodos de ensaio adotados pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC). Entretanto, é mais comum a utilização das metodologias elaboradas pela *American Oil Chemistry Society* (AOCS), bem como de seus parâmetros de qualidade.

As metodologias das análises físico-químicas são as que se seguem, com os respectivos registros normativos:

➤ **Insolúveis em acetona** (AOCS-Ja-4-46): Representa aproximadamente o conteúdo total de fosfolipídios existentes na lecitina. A característica de insolubilidade em acetona determina o rendimento da lecitina em relação ao teor fosfatídeos (concentração), ou seja, tem-se a fração hidratável retirada do óleo bruto, que não se solubiliza em acetona, cujas características são, a apolaridade das moléculas de fosfolipídios. O índice máximo de insolúveis em acetona para lecitina comercial não deve ultrapassar 62%, mas em se tratando de lecitinas do tipo *Premium*, essas devem possuir teores maiores.

➤ **Insolúveis em hexano** (AOCS-Ca-3-46): É medida de pureza da lecitina, visto que é geralmente composta de fibras residuais, carboidratos, pigmentos carotenóides e clorofilados e/ou auxiliares de filtração. A matéria insolúvel em hexano determina as impurezas insolúveis polares que acompanham a lecitina e que lhes causa turbidez, mau aspecto e sedimentação, como é o caso da presença dos sais de cálcio e magnésio complexados com os fosfatídeos, ou mesmo carboidratos e proteínas arrastadas na degomagem. O índice máximo de insolúveis em hexano não deve ser maior que 0.3% em relação ao volume da amostra.

➤ **Viscosidade** (AOCS-Ja-11-87): É ajustada em função da facilidade de manuseio requerida, relacionando concentração de fosfolipídios, umidade e índice de acidez. A viscosidade corresponde a uma importante característica físico-química da lecitina de soja comercial, que influencia o manuseio do produto. A viscosidade da lecitina de soja é determinada por um viscosímetro, sendo que à temperatura ambiente, a viscosidade mínima da lecitina de soja poderá ser de 30 P que são lecitinas especiais utilizadas no processo de lecitinação (VISSOTTO et al, 2006), mas também podem ter viscosidade máxima de até 300 P para utilização comum (MIYASAKA; MEDINA, 1981).

➤ **Umidade** (AOCS-Ja-2b-87 ou AOCS-Tb-2-64): É extremamente importante um produto com baixa umidade para assegurar a sua estabilidade microbiológica. A umidade em todos os tipos de lecitina sempre deve ser inferior a 1%, pois tem grande influência na viscosidade da lecitina e no tempo de armazenamento do produto.

➤ **Índice de Acidez** (AOCS-Ca-5a-40): Indica o grau de degradação da lecitina, devido à baixa qualidade da soja processada, ou condições inadequadas de processo. O índice de acidez interfere em outros parâmetros qualitativos da lecitina de soja, tal como na viscosidade e no coeficiente de emulsão (BHL – Balanço Hidrofóbico e Lipofílico). Para que a acidez não comprometa a qualidade do produto, o índice de acidez titulável máximo deve ser igual a 30 mL do reagente de caráter básico utilizado na titulação padronizado a 0,01N.

➤ **Índice de peróxido** (AOCS-Ja-8-87): revela o grau de deterioração que se refere à oxidação dos fosfolipídeos e geração de odores e sabores indesejáveis.

➤ **Cor** (AOCS-Cc-13b-45): Basicamente é uma característica estética, contudo revela o excesso de temperatura no processo, podendo afetar as propriedades funcionais da lecitina.

A coloração corresponde a um parâmetro qualitativo da lecitina de soja relevante sob o aspecto comercial, que define a qualidade do produto sobre sua utilização. Relaciona-se à intenção de compra e valorização do produto em que foi inserida, por exemplo, do leite em pó, cuja cor é branca e na etapa de lecitinação (adição de lecitina natural) a coloração da lecitina não deve influenciar na cor natural do produto, pois pode levar a uma rejeição do produto. Entretanto, isoladamente a coloração da lecitina, mais ou menos acentuada, pode revelar secagem excessiva que diminui a viscosidade, já a adição em excesso de agente branqueador e adição em excesso de agente lubrificante irá elevar também a viscosidade. Além, dos aspectos físico-químicos listados acima, pode revelar deterioração devido à armazenagem incorreta exposta à luz, descorando e deteriorando.

As análises de índice de peróxido, umidade e acidez referem-se à qualidade do produto quanto à geração de componentes que conferem odores e sabores não característicos ao produto. A determinação da acidez dos produtos alimentícios diz muito a respeito do tempo de validade e modificações químicas, físicas e microbiológicas do produto, embalagem e tecnologias empregadas. Nos óleos e gorduras, outras análises são mais freqüentemente realizadas do que as determinações de acidez, como o índice de saponificação, peróxidos e índice de iodo, que determinam a qualidade em termos de estruturas presentes e componentes do óleo que não os triglicerídeos.

A Tabela 2.5 detalha algumas especificações técnicas disponíveis aos compradores industriais de lecitina de soja, específico da empresa Cargill S/A com relação aos aspectos qualitativos.

Como pode ser observado na Tabela 2.5, as empresas produtoras de lecitina de soja comercial destinada para fins alimentícios devem preocupar-se em atender a determinados requisitos quantitativos e qualitativos, sendo monitoradas todas as etapas do processo desde o beneficiamento, armazenamento, preparo dos grãos de soja e até a degomagem. Atentando-se para estas etapas e para qualidade inicial dos grãos de soja, consegue-se obter óleos refinados de excelente qualidade, bem como a lecitina de qualidade nos aspectos químicos, físico e físico-químicos, para ser utilizada como aditivo nos alimentos.

TABELA 2.5: Especificações comerciais da lecitina de soja produzida na Cargill S.A.

Especificações físico-químicas	
Consistência	Fluida
Insolúveis em Acetona	Mín. 62,0%
Índice de Acidez	Máx. 30 mg de KOH/g
Umidade	Máx. 1,0%
Índice de Peróxidos	Máx. 0,1%
Especificações microbiológicas	
Contagem total em placa	Máx. 1000 UFC/g
Coliformes	Ausente/1 g
Salmonella	Ausente/25 g

Prazo de validade: 2 anos

Embalagem: Tambor 200 kg e embalagens de 1000 kg

Recomendação: Estocar em ambiente seco e fresco

Fonte: CARGILL, 2007.

Sobre os parâmetros listados na Tabela 2.5 e mais alguns outros importantes, a determinação é realizada por órgãos legislativos tais como o *Codex Alimentarius* (Código Alimentar), mas sobre tudo, pesquisados e levantados experimentalmente pela AOCS – *American Oil Chemistry Society* que define os limites máximos e mínimos permitidos das substâncias analisadas para os fins a que se destina a lecitina de soja, bem como os óleos, as gorduras e derivados. Na Tabela 2.6, há uma lista expedida pelo *Codex Alimentarius* do Comitê da FAO (*Food and Drug Administration*) sobre as recomendações físico-químicas da lecitina, assim como os parâmetros de outros órgãos (VAN NIEUWENHUYZEN E TOMÁS, 2008).

Como visualizado na Tabela 2.6, a União Européia aprova a lecitina como aditivo de inscrição número E322 que pode ser padronizada, fracionada (sem óleo) e hidrolisada enzimaticamente ou não, desde que atendam os parâmetros listados. Observa-se que o índice de Insolúveis em Tolueno (TI) é utilizado como análise padrão para se determinar a quantidade de matéria polar presente na lecitina. Esta análise é substituída pela análise de Insolúveis em Hexano (HI) sem prejuízos maiores à determinação de substâncias polares. Assim, tem-se que os parâmetros tabelados são utilizados como referência sobre os aspectos qualitativos físico-químicos da lecitina de soja purificada ou não, uma vez que esses valores são oficiais e estabelecidos para a utilização alimentar da lecitina de soja (VAN NIEUWENHUYZEN E TOMÁS, 2008).

TABELA 2.6: Parâmetros físico-químicos internacionais da lecitina de soja.

Pureza	FAO/WHO Código Alimentar	União Européia E 322	Código de Química Alimentar
Insolúveis em acetona (%)	>60	>60 Hidrolisada >56	>50
Insolúveis em hexano (%)	-	-	<0,3
Insolúveis em tolueno	<0,3	<0,3	-
Umidade (%)	-	-	<1,5
Matéria seca (%)	<2,0	<2,0	-
Acidez titulável (mg KOH/g)	<36,0	<35,0	<36,0
Índice de peróxido (meq/kg)	<10,0	<10,0	<100,0
Arsênico (ppm)	<3,0	<3,0	-
Chumbo (ppm)	<10,0	<5,0	<1,0
Mercúrio (ppm)	-	<1,0	-
Metais pesados totais (ppm)	<40,0	<10,0	-

Fonte: Van Nieuwenhuyzen e Tomas, 2008.

Existem outros parâmetros físico-químicos também importantes para a avaliação da qualidade das lecitinas, sendo eles: o índice de saponificação, índice de iodo, turbidez, transparência, brilho, características sensoriais e microbiológicas.

As indústrias produtoras de lecitina de soja comercial ainda podem oferecer o produto no varejo para consumo dietético e fitoterápico, podendo ser encontrada em embalagens de 1 kg ou em cápsulas de 500 mg. Estes produtos serão então rotulados respeitando as determinações por parte da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) quanto aos dizeres obrigatórios na embalagem do produto. Uma empresa de destaque no Brasil, que realiza vendas de frações menores de lecitina de soja é a SOLAE, cujo produto mais vendido em unidades pequenas é do tipo SOLEC™ SG em sacos de polietileno de 1 kg.

2.4 Características das gomas de lecitina na degomagem

As gomas são compostas por um complexo de estruturas coloidais, derivadas de fontes naturais, formadas por fosfatídeos (maior parte), proteínas, sais, entre outros e com elevada umidade. É formada por toda e qualquer estrutura lipossolúvel e algumas hidrossolúveis presentes no óleo bruto, que quando ligada à água no processo denominado de degomagem, aumentam de massa e se depositam no fundo dos tanques, sendo chamadas também de borras.

Os diferentes tipos de óleos e gorduras contêm quantidades variáveis de fosfolipídios, ou também, denominados de fosfatídeos, principais constituintes das gomas (DORSA, 1998). Esses fosfolipídios são definidos estruturalmente pela presença de um polialcool ou por bases nitrogenadas, esterificadas com o ácido fosfórico (H_3PO_4) e sustentados por um radical de glicerol ligados a, normalmente, outros dois radicais de ácidos graxos (MORETTO; FETT, 1998).

Quando saturados possuem apenas ligações simples entre os carbonos e possuem pouca reatividade química. Já os ácidos graxos insaturados, contêm uma ou mais ligações duplas na cadeia carbônica e são mais reativos, mais suscetíveis a termoxidações, entretanto são denominados de ácidos graxos essenciais, necessários à alimentação (REDA; CARNEIRO, 2007).

Os ácidos graxos ligados ao radical de glicerol na molécula do fosfatídeo podem ser insaturados ou saturados, normalmente são insaturados, de natureza estritamente apolar e com considerável reatividade química, devido à duplas ligações (HASENHUETTL; HARTEL, 2008).

Na Figura 2.5 e Figura 2.6, nas quais se pode-se visualizar as estruturas químicas dos ácidos graxos livres, saturado e insaturado, assim como a de um fosfolipídio simples.

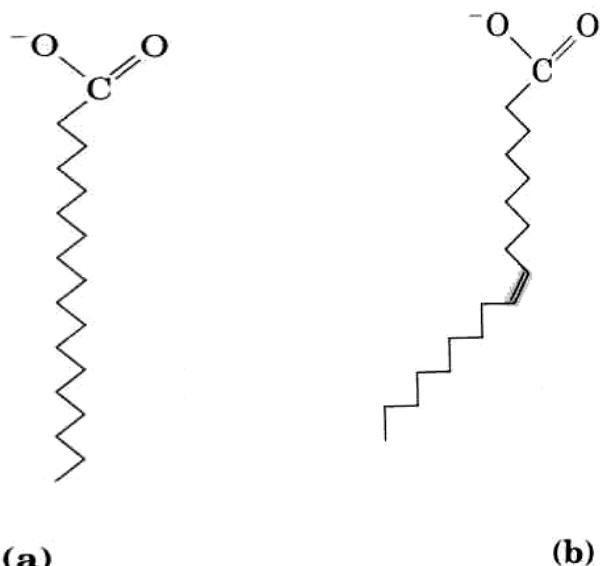


FIGURA 2.22: Estruturas de ácidos graxos livres; (a) ácido graxo livre saturado de cadeia linear e (b) ácido graxo livre insaturado (monoinsaturado) de isomeria cis.

Fonte: FIN, 2007.

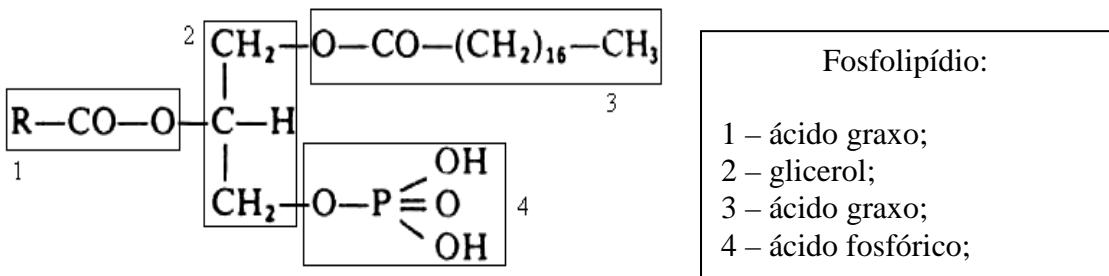


FIGURA 2.23: Estrutura química de um fosfolipídio (fosfatidilglicerol).

Fonte: FIN, 2007.

Os derivados dos ácidos graxos, situados na posição 1 e 3 da Figura 2.6, variam quanto ao número de insaturações e comprimento da cadeia, além do mais a posição 1 normalmente é ocupada por ácidos graxos insaturados e na posição 3 por ácidos graxos saturados ou monoinsaturados (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Para a determinação do conteúdo de fosfatídeos no óleo, normalmente é analisado o conteúdo de fósforo, do ácido fosfórico segundo técnica laboratorial da AOCS (*American Oil Chemists Society*), sendo o resultado da análise de fósforo, expressos em ppm. O valor obtido na análise, multiplicado pelo fator 25,4 fornece o conteúdo de fosfatídeos no óleo. O fator utilizado no cálculo é derivado da relação entre a massa específica do fósforo, do teor de ácido fosfórico determinado e da quantidade de fosfatídeos (MORETTO; FETT, 2002).

Na literatura, para a determinação do teor de fósforo no óleo de soja, pode-se encontrar fatores compreendidos entre 24 e 27, apesar disso, talvez por facilidade de cálculo, recomenda-se o uso do fator 30. Este fator é calculado tomando-se por base a massa molar média dos fosfolipídios presentes na lecitina ou no óleo, divididos pela massa atômica do fósforo (SOARES, 2004). A relação entre fósforo e fosfolipídio pode ser obtida pela Equação 1, na qual *Fl* é o percentual de fosfolipídeos e *Fo* de fósforo.

$$\% Fl = 30,0 \times \% Fo \quad (1)$$

Alguns óleos com seus conteúdos típicos de gomas estão listados na Tabela 2.7. No caso do óleo de soja, o conteúdo de gomas após o processo de degomagem (retirada dos fosfatídeos) está entre 80 e 250 ppm de fósforo. Os valores mostrados na Tabela 2.7, somente são atingíveis no óleo de sementes de primeira linha, como o encontrado normalmente na América do Norte e também na América do Sul, em grãos melhorados e armazenados adequadamente (DORSA, 1998).

TABELA 2.7: Conteúdo típico de fosfatídeos em alguns óleos brutos.

Tipo de óleo	Fosfatídeos (ppm)
Óleo de soja	700-1000
Óleo de colza	450-500
Óleo de milho	250-300
Óleo de girassol	300-1000
Óleo de arroz	450-700
Óleo de palma	20-30

Fonte: DORSA, 1998

A Tabela 2.8 ilustra os valores percentuais de gomas (fosfatídeos) extraídas dos respectivos grãos em percentuais sobre o conteúdo de 100% do grão.

TABELA 2.8: Conteúdo de fosfatídeos nos grãos.

Óleo	% Fosfatídeos
Soja	1,1-3,1
Milho	1,0-2,0
Algodão	0,7-0,9
Arroz	0,5
Amendoim	0,3-0,4
Colza	0,1

Fonte: MORETTO; FETT, 1998.

Nota-se na Tabela 2.8 que em termos proporcionais, a soja é a melhor fonte de fosfolipídeos, seguida das demais fontes apresentadas. É importante destacar que atualmente, as gomas advindas do algodão tem tido destaque no mercado comercial devido a investimentos e tecnologias novas empregadas no Brasil pela empresa Maeda S/A no beneficiamento das mesmas (MAEDA, 2010).

Com relação à caracterização dos fosfatídeos extraídos e no estado de goma, pode-se dizer que existem dois tipos de gomas, as hidratáveis e as não hidratáveis. As gomas hidratáveis são insolúveis no óleo e podem ser separadas facilmente pela adição de um volume de água quente equivalente ao volume de gomas. Os fosfatídeos hidratáveis que compõem a lecitina de soja comercial são: a fosfatidilcolina (colina), parte da fosfatidiletanolamina (cefalina) e fosfoatidilinositol (inositol) (MORETTO; FETT, 1998).

O conteúdo de gomas não hidratáveis é muito diferente nos diversos óleos e dependem da qualidade das sementes, das quais o óleo foi extraído e da manutenção dos equipamentos metálicos. O conteúdo de fosfatídeos não hidratáveis cresce, por exemplo, durante a estocagem

das sementes danificadas ou úmidas. Estes são sais de ferro, sódio e magnésio do ácido fosfatídico, que podem ser condicionados a uma fase hidratável por tratamento com um ácido concentrado (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

Segundo Lopes (2008), os fosfolipídios hidratáveis constituem 90% das gomas e os fosfolipídios não hidratáveis são causadores de problemas irreversíveis no óleo e na lecitina no que tange à coloração, pois são responsáveis pela coloração marrom quando aquecidos. No óleo, estes são removidos na etapa de neutralização e caso não o sejam, causarão escurecimento na etapa de desodorização. Na lecitina são considerados impurezas que diminuem a qualidade do produto ao elevar sua coloração característica.

Durante o processo de refino do óleo, os fosfatídeos, as proteínas, e as substâncias coloidais podem formar emulsões que prejudicam a extração das gomas. Segundo Schuck (2004), no processo de degomagem com água, o óleo resultante, ainda pode conter fosfatídeos não hidratáveis que se hidratam lentamente, pois possuem em sua estrutura sais de cálcio e magnésio que se complexados com o ácido fosfatídico e a fosfatidiletanolamina, permanecem no óleo dito degomado.

A Tabela 2.9 mostra a composição típica dos fosfatídeos do óleo de soja bruto e respectivas siglas usadas para identificar as denominações quanto aos tipos de fosfolipídios.

TABELA 2.9: Composição dos fosfatídeos (sem o óleo) no óleo de soja bruto.

Fosfolipídio	Sigla	Porcentagem
Fosfatidilcolina	PC	22,0
Fosfatidiletanolamina	PE	23,0
Fosfatidilserina	OS	2,0
Fosfatidilinositol	PI	20,0
Ácido fosfatídico	PA	5,0
Fitoglicolipídeo	PGL	13,0
Outros fosfolipídeos	-	15,0

Fonte: DORSA, 1998.

Na Tabela 2.9, sobre as frações percentuais, estas nortearam estudos sobre a degomagem tradicional com água no sentido de quantificar a água inserida e tempo de retenção com homogeneização para a hidratação e formação das borras por determinado período de tempo.

Na Tabela 2.10, encontram-se os valores percentuais normais de um óleo cru de soja antes e depois da degomagem com água. É necessário dizer que a redução desses componentes está ligada à solubilidade dos mesmos na água e ao efeito de hidratação que sofrem os

fosfolipídios ou fosfatídeos. Durante a hidratação pode ocorrer a absorção de outros compostos, tais como: açúcares, proteínas, sais de ferro, dentre outros (MORETTO; FETT, 1998).

TABELA 2.10: Componentes menores nos óleos de soja brutos e após a degomagem com água.

Componentes	% No óleo cru	% No óleo degomado com água
Fosfolipídios (%)	2,0-3,0	0,30-0,80
Glicolipídios (%)	0,15-0,30	0,02-0,03
Açúcares livres (%)	0,10-0,15	0,02-0,03
Ca (ppm)	70-200	50-120
Mg (ppm)	50-150	20-100
Fe (ppm)	1,0-5,0	0,5-3,0

Fonte: MORETTO; FETT, 1998.

Como se observa na Tabela 2.10, a água não ocasiona a total eliminação dos fosfolipídios hidratáveis durante o processo de degomagem e muito menos dos não hidratáveis, ocasionando um teor residual de fosfatídeos não hidratáveis de 0,3 a 0,8%, ou seja, de 10 a 15 ppm de fósforo. Para melhorar a eficiência do processo de degomagem, pode-se acrescentar na água de hidratação substâncias químicas ou enzimáticas que proporcionam a redução do teor de gomas residuais (MORETTO; FETT, 1998).

Na degomagem do óleo de soja a altas temperaturas pela adição de ácido e água, ocorre que ainda é muito difícil obter-se a total separação dos fosfatídeos do óleo. Mesmo porque, os compostos acidulados do ácido fosfatídico e da fosfatidiletanolamina permanecem se hidratando lentamente. Do exposto, surge-se a necessidade de conjugar à ação da água, processos físicos tais como a agitação que melhorem a degomagem (MORETTO; FETT, 1998).

Outros processos físicos de filtração utilizando membranas fazem-se presentes na literatura, cuja intenção é a extração máxima dos fosfolipídios do óleo, entretanto muito ainda deve ser elucidado e a utilização desse recurso de certa forma oneroso, torna-o ainda impraticável, a não ser que haja elevado valor agregado e tenha viabilidade econômica, além do propósito.

Conclui-se, portanto, que a quantidade de fosfolipídios hidratáveis e não hidratáveis em um óleo bruto irá depender de muitos outros fatores como: qualidade de semente; tipo de semente; condições climáticas durante o desenvolvimento da semente e sua colheita; armazenamento, acondicionamento, moagem e extração (REGITANO-d'ARCE, 2002).

Resumindo, é imprescindível enfatizar que as gomas são todos os compostos, em maior parte os fosfatídeos, que se hidratam rapidamente ou lentamente pela adição de água. E portanto, difere do termo, borras, que são o conjunto de gomas decantadas no processo de degomagem. As

borras são uma denominação industrial referente ao conjunto de gomas a serem removidas ou hidratadas do óleo de soja bruto, que quando secas, constituem a lecitina de soja comercial.

2.5 Propriedade emulsificante das gomas de lecitina de soja

A maior fonte vegetal de lecitina como foi dito, é o óleo de soja, e os componentes de maior interesse na lecitina, são os fosfolipídeos ou fosfatídeos, devido às suas propriedades emulsificantes. Os principais fosfatídeos encontrados na lecitina de soja são: fosfatidilcolina (PC) fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilinositol (PI), misturados com quantidades variáveis de outras substâncias, tais como: triglicerídeos, ácidos graxos e carboidratos, clorofilas, carotenóides, ácidos voláteis, dentre outras.

A lecitina é utilizada nos alimentos como aditivo, cuja função é emulsificar e estabilizar as reações químicas entre os diversos constituintes dos alimentos, tais como proteínas, carboidratos, lipídeos e água. Mais propriamente, atua como um ligante impedindo que os alimentos, principalmente líquidos, formem fases distintas. Como estabilizante a lecitina atuará como uma substância que favorece e mantém as características físicas das emulsões e das suspensões e em alguns tipos de produtos, podendo até ter a função de espessante, ou seja, uma substância capaz de aumentar a viscosidade de soluções, de emulsões e de suspensões além de melhorar a consistência dos alimentos.

De acordo com Pavanelli (2000) os emulsificantes são substâncias que apresentam, na mesma molécula, uma porção hidrofílica, ou seja, que tem afinidade por água, e uma porção lipofílica, que tem afinidade por óleo ou outras substâncias apolares. Esta característica é que faz com que os emulsificantes possam exibir a capacidade de formar emulsões, tornando miscíveis substâncias normalmente imiscíveis, como água e óleo.

A função básica da lecitina de soja como emulsificante será a de revestimento físico das partículas, principalmente daquelas que contêm gordura em sua composição, de tal forma que o óleo quando em meio aquoso, promove uma redução da tensão superficial entre as fases sólida e líquida. A diminuição na tensão superficial entre as fases faz com que estas se misturem formando apenas uma (VISSOTTO et al, 2006).

Molecularmente, a lecitina possui o radical de ácido graxo que é solúvel em óleo e o radical de ácido fosfórico que é solúvel em água. Essas estruturas justificam a característica intrínseca da molécula sobre a lipofilicidade e hidrofilicidade. Assim, os fosfolipídios, pela sua tendência a formar películas ou filmes em torno das partículas sólidas ou semi-sólidas, quando

entram em contato com os líquidos, evitam a formação de grumos, mantendo a dispersão estável em processo, semelhante ou similar ao que ocorre nas membranas celulares cujo modelo é o mosaico fluídico (VISSOTTO et al, 2006).

A quantificação do poder emulsificante de determinado composto é realizada pelo Balanço Hidrofóbico Lipofílico – HBL, que é um coeficiente numérico relativo à atração simultânea do emulsificante pela água e pelo óleo, cujo valor denota a solubilidade do emulsificante em determinado meio, mas não a eficiência do mesmo. Para determinar o valor de HBL geralmente utiliza-se a equação de Griffin, na qual leva-se em consideração o índice de saponificação e a acidez do ácido graxo (ARAÚJO, 1999).

Entretanto, de acordo com Hasenhuettl e Hartel (2008), em 1957, uma importante contribuição para a determinação do valor de HBL foi realizada pelo pesquisador Davies ao levar em consideração no cálculo a soma de todas as contribuições moleculares existentes no sistema, atribuindo aos grupos valores quanto às forças moleculares apresentadas. Tal fato possibilitou explorar novos emulsificantes e a mistura deles, porém muito ainda há que ser estudado, pois o valor de HBL é unilateral, não leva em consideração interferências dependentes como, peso molecular, densidade do emulsificante e a temperatura na determinação do fator.

A lecitina comercial de soja, degomada com água, normalmente possui propriedade emulsificante do tipo água/óleo, ou seja, no meio óleo forma micelas com a água e apresenta valores de HBL aproximados de 3. Após processos químicos de hidrólise enzimática ou degomagem química com ácidos e bases fortes pode-se aumentar os valores de HBL da lecitina de soja a aproximadamente 8 a 11, tornando a lecitina comercial um emulsificante com propriedade do tipo óleo/água (ARAÚJO, 1999).

A fosfatidilcolina é o composto químico responsável pela estabilidade da emulsão do tipo água/óleo, enquanto que a fosfatidiletanolamina e o fosfatidilinositol estabilizam a emulsão do tipo óleo/água (ARAÚJO, 1999).

Deve-se levar em consideração que a fosfatidiletanolamina perde seu poder emulsificante e flocula em presença de altas concentrações de sais de cálcio e magnésio presentes em água dura. Portanto, a água a ser utilizada no processo de extração da lecitina do óleo na degomagem, deve ser realizada com água desmineralizada ou deionizada (SCHUCK, 2004).

Para a obtenção de emulsões mais estáveis em produtos alimentícios específicos, a lecitina muitas vezes deve ser utilizada em combinação com outros emulsificantes. Os emulsificantes em alimentos mais utilizados são os monogliceróis e digliceróis de origem animal

ou vegetal e álcoois polivalentes, como o glicerol, propileno glicol e sorbitol (NORMANN, 1980).

Os emulsificantes pertencem à classe de compostos caracterizados por sua natureza ampifílica, apresentando em sua estrutura química, segmentos hidrofóbicos e hidrofílicos, espacialmente separados. A porção hidrofóbica da molécula é geralmente uma cadeia alquila longa, enquanto que a parte hidrofílica consiste em um grupo dissociável ou a grupos hidroxilados (ARAÚJO, 1999).

Além de reduzirem a tensão superficial como agentes estabilizantes para a emulsão, espuma e suspensão, os emulsificantes são importantes modificadores das propriedades físicas do alimento. Na indústria de alimentos, o termo emulsificante se refere às moléculas de pequeno tamanho e que não necessariamente conferem estabilidade prolongada. Eles simplesmente possuem a capacidade de adsorver rapidamente à uma nova superfície durante a emulsão, protegendo as gotículas de óleo e água formadas. O bom emulsificante mantém as gotículas separadas tão logo sejam formadas, mantendo a emulsão durante um armazenamento prolongado (SOLER et al, 2001).

São dois os tipos de emulsificantes, os de ocorrência natural e sintética, que são também classificados em iônicos e os não iônicos. A lecitina está no grupo dos emulsificantes naturais iônicos, cujas propriedades são por estabilizar emulsões do tipo água/óleo (ARAÚJO, 1999).

Na interface ou superfície, os emulsificantes iônicos interagem com as gotículas de óleo, enquanto que os grupos finais carregados se projetam para a fase aquosa. O envolvimento de íons contrários forma uma camada dupla, que previne a agregação das gotículas de óleo, como mostrado na Figura 2.7.

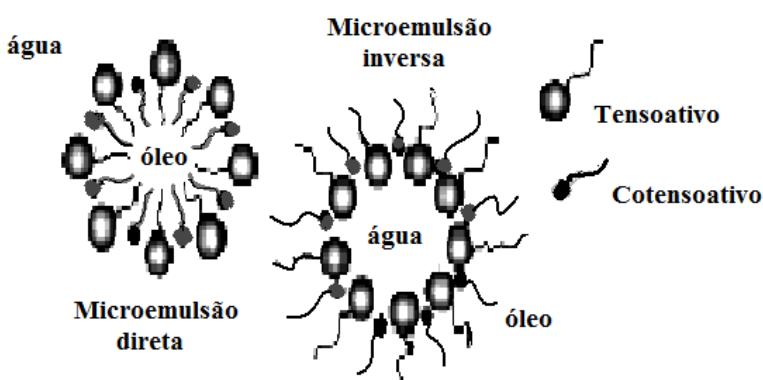


FIGURA 2.24: Estrutura da microemulsão óleo/água e água/óleo.

Fonte: ARAÚJO, 1999 (adaptado).

Já os emulsificantes não iônicos orientam-se na superfície das gotículas do óleo com a porção polar projetada para a fase aquosa. A formação de gotas maiores na emulsão óleo/água é prevenida pela formação de uma camada hidratada em volta dos grupos polares (ARAÚJO, 1999).

Na escolha do emulsificante adequado para uso em determinado produto, é importante levar em conta que as emulsões do tipo óleo/água são estabilizadas por emulsificantes solúveis em água, ao passo que as emulsões água/óleo são estabilizadas por emulsificantes solúveis em óleo. Como os radicais ácidos graxos são solúveis em óleo e o radical colina solúvel em água, fica justificado a ação emulsificante da lecitina de soja para o tipo de emulsão água/óleo (BUCZENKO, 2002).

A lecitina de soja, emulsificante natural dotado de características físicas específicas, corresponde a um produto comestível de alto valor nutricional, com grande utilidade industrial. Sua versatilidade é exemplificada pelos usos em nutrição (médico, dietético), como agente emulsificante (produtos de padaria e balas), agente ativo de superfícies (sorvetes, chocolates e produtos farmacêuticos), agente contra salpiqueiro (fabricação de margarina), agente estabilizador (gorduras), agente dispersante (tintas, inseticidas), agente umidificador (cosméticos, pigmentos, metais em pó, têxteis), agente estabilizante (emulsões em geral como maionese) e agente anti-detonante (gasolina) (BELITZ; GROSH, 1999).

Por suas especificidades emulsificantes, é solúvel na maioria dos solventes orgânicos (óleos vegetais, animais e minerais), parcialmente solúvel em álcool etílico e insolúvel em acetona (geralmente a lecitina comercial contém 62% de insolúveis em acetona, ou seja, os fosfatídeos) (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

O aumento da temperatura, segundo Dorsa (1998), afeta negativamente a estabilidade da emulsão, podendo chegar a destruí-la, conjuntamente com a agitação. Porém, breves exposições às temperaturas altas não interferem em suas características.

Outra forma de diminuir a estabilidade da emulsão seria adicionar-lhe íons ou sais, como foi descrito anteriormente, pois estes provocam quimicamente a destruição da camada dupla eletrostática, ou seja, ocorre uma hidrólise que destrói a característica emulsificante, precipitando principalmente a fosfatidiletanolamina e o ácido fosfórico (ARAÚJO, 1999).

Resumindo, os fosfatídeos ou fosfolipídeos possuem a tendência de formar películas ou filmes em torno de partículas sólidas ou semi-sólidas nas misturas a que foram inseridos como emulsificantes. Quando um sólido se dispersa em um líquido, a ação da lecitina previne a formação de aglomerados, mantendo a dispersão muito estável (BELITZ; GROSH, 1999).

Dessa forma, a lecitina apresenta as seguintes propriedades físicas:

- agente emulsificante (comestível);
- redutor da viscosidade de emulsões gordurosas;
- agente dispersante;
- antioxidante para compostos orgânicos;
- inibidor de cristalização.

2.6 Propriedades químicas das gomas de lecitina de soja

A lecitina de soja comercial é basicamente composta por três principais fosfolipídeos (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol), mas também por compostos hidrossolúveis como carboidratos e proteínas, compostos clorofilados e carotenóides, lipossolúveis.

A fosfatidilcolina (FC) possui destaque dentre os fosfolipídeos da lecitina de soja, com funções fitoterápicas, possui uma extremidade polar formada por um grupo colina ligado a um grupo fosfato que porventura é sustentado pelo grupamento de glicerol que estão ligados à porção hidrofóbica da molécula, duas longas cadeias de ácidos graxos. Estes podem conter uma ou mais insaturações ou nenhuma insaturação. As moléculas de fosfatidilcolina, assim como os demais fosfolipídeos tendem a se auto-organizar em bicamadas com importantes funções biológicas como, por exemplo, as membranas celulares de organismos vivos (MERTINS et al, 2008).

Quimicamente, todos os três fosfolipídeos da lecitina são compostos orgânicos constituídos por dois radicais de ácidos graxos (R_1 e/ou R_2), ligados a um radical de glicerina e a um radical fosfatídico, como foi mostrado na Figura 2.6. Os grupos de ácidos graxos (R_1 e R_2) desses fosfolipídeos são os mesmos do óleo do qual o produto foi extraído. O conjunto dessas estruturas apresenta uma conformação de simetria óptica (rancemização) nas posições dos radicais de ácido graxo da estrutura molecular as quais definem o tipo de degomagem mais apropriada, ácida, alcalina ou enzimática, a ser empregada (BELITZ; GROSCH, 1999).

De acordo com Ribeiro e Seravalli (2007) os ácidos graxos dos fosfolipídeos variam em número de insaturações e comprimento da cadeia e normalmente, os ácidos graxos centrais nos fosfolipídeos são insaturados e os da ponta são saturados.

Marconci (2008) analisou a lecitina comercial usada como aditivo e um suplemento alimentar energético denominado de Lecitipalm® à base de lecitina e os resultados são apresentados na Tabela 2.11.

TABELA 2.11: Porcentagem de ácidos graxos presentes na lecitina de soja e no lecipalm®

Ácidos Graxos	Lecipalm® (%)	Lecitina de soja (%)
Láurico C:12	0,965	-
Mirístico C:14	0,409	-
Pantadecílico C:15	0,164	0,489
Palmítico C:16	1,537	1,742
Heptadecanóico C:17:1	0,023	0,043
Esteárico C:18	0,573	0,803
Oléico C:18:1	2,342	0,218
Linoléico C:18:2	3,825	6,574
Linolênico C:18:3	0,099	0,048
Araquidônico C:20:4	0,064	0,082

Fonte: Laboratório de Bioquímica de Lipídios da UFPR, (MARCONCI, 2008).

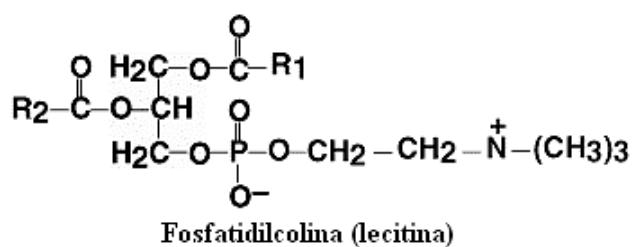
Como verificado na Tabela 2.11, há variações entre os componentes da lecitina comercial com relação ao complemento alimentar, devendo-se destacar os ácidos graxos insaturados (heptadecanóico, oléico, linoléico, linolênico e araquidônico). Nota-se que os percentuais de heptadecanóico, linoléico e araquidônico são mais elevados no emulsificante, enquanto que os percentuais no suplemento de oléico e linolênico são maiores. Ressalta-se que os ácidos graxos citados são insaturados e, portanto essenciais a alimentação, sendo os de relevância maior o linoléico e linolênico.

A fosfatidilcolina e a fosfatidiletanolamina são estruturas químicas compostas por um polialcool (glicerol ou propanol) esterificado com ácidos graxos e ácidos fosfóricos. Os ácidos fosfóricos, por sua vez, apresentam-se combinados com um composto básico nitrogenado, na colina essa base nitrogenada encontra-se no meio da ramificação e na cefalina no final, como mostram as Figuras 2.8 (SANTOS; ZANETTI, 1981).

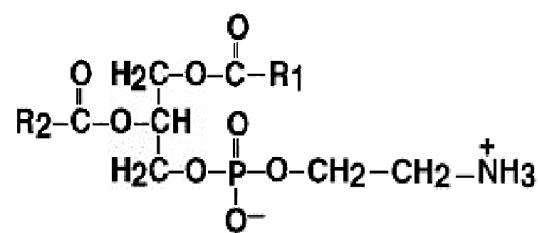
Da mesma forma, na estrutura do fosfatidilinositol (inositol) há uma base de polialcool (gicerol esterificado com dois radicais de ácido graxo e um ácido fosfórico) entretanto, o radical de ácido fosfórico encontra-se ligado a um álcool cíclico como visualizado na Figura 2.8 (ARAUJO, 1999).

Os grupamentos fosfóricos, as bases nitrogenadas e o álcool cílico dos fosfolipídeos apresentados constituem a parte polar das moléculas de lecitina de soja. Na fosfatidiletanolamina devido a base nitrogenada estar ligada no final do radical, essa é denominada de fosfatídeo não hidratável ou lentamente hidratável que se complexa facilmente com metais bivalentes, formando matérias insaponificáveis, que arrastadas intensificam sua coloração marrom, mas que

se presente no óleo diminui a qualidade, podendo ser removidas nas etapas subsequentes de industrialização do óleo.

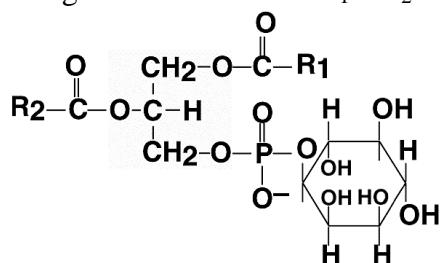


R_1 e R_2 são radicais de ácido graxo.



R_1 e R_2 são radicais d

R₁ e **R₂** são radicais de ácido graxo.



Fosfatidilinositol

R_1 e R_2 são radicais de ácido graxo.

FIGURA 2.25: Estruturas químicas da fosfatidilcolina (colina), da fosfatidiletanolamina (cefalina) e foafatidilinositol (inositol).

Fonte: FIN, 2007.

A determinação do conteúdo de fósforo no óleo bruto refere-se diretamente à quantidade de fosfatídeos a serem removidos e comumente o volume de borras obtidas no final da degomagem é maior, devido à complexação e arraste de outras substâncias lipossolúveis e hidrossolúveis além dos fosfatídeos.

Como mostrado na Tabela 2.11, a lecitina de soja não possui em sua composição apenas fosfatídeos, mas apresenta alta quantidade de matéria graxa, composta de ácidos graxos saturados e insaturados, que é inserida para adequação físico-química e diminuição da viscosidade. Nessa matéria graxa além dos ácidos graxos livres podem ser contabilizados os não-glicerídeos derivados tais como clorofilas e carotenóides, como carboidratos hidratados na degomagem e arrastado nas gomas e ainda há em algumas lecitinas certa quantidade de proteína solubilizada. Todos os componentes da lecitina comercial de soja contribuem significativamente para a coloração característica do produto.

Os pigmentos de maior relevância que são removidos dos óleos brutos e que compõem a lecitina comercial de soja com suas respectivas colorações características são (OLIVEIRA, 2001)

- Clorofilas: verde;
- Carotenóides: amarelo, vermelho;
- Produtos da degradação de proteínas e carboidratos: marron;

As substâncias pigmentares citadas serão descritas mais sucintamente adiante, devendo-se ter em mente que os pigmentos são todas as substâncias que absorvem luz seletivamente. A cor do pigmento é determinada pelo comprimento de onda não absorvida, ou seja, refletida e cada pigmento possui um espectro de absorção característico (SOUZA, 2002).

2.6.1 Clorofila

As clorofilas são substâncias orgânicas de cor verde que constituem o principal pigmento fotossintetizante das plantas e que sofrem degradação, resultando em compostos derivados com diferentes colorações (BAREAL; REINEHR, 2006).

As diferenças aparentes na cor dos vegetais são devidas à presença e distribuição variável de outros pigmentos associados, como os carotenóides, os quais sempre acompanham as clorofilas (VON ELBE; SCHWARTZ, 2000).

As clorofilas são os pigmentos que dão às plantas a sua coloração verde característica. A clorofila “a” tem espectro de cor verde-azulado e a clorofila “b” de verde-amarelado (SOUZA, 2002).

De acordo com Von Elbe e Schwartz (2000), os comprimentos de onda máximos de absorção para as clorofilas “a” e “b” diluídas em éter etílico são respectivamente 642 a 660 nm e 428 a 452 nm.

Os máximos comprimentos de onda de absorção (correspondente a um pico na curva de absorção de luz) da clorofila “a” são de aproximadamente 420 e 670 nm correspondendo às regiões azuis e vermelhas, respectivamente. Já os máximos de absorção da clorofila “b” correspondem, respectivamente, a 435 e 625 nm nas regiões azul e vermelho. Na Tabela 2.12 têm-se os comprimentos de onda de absorção máxima para os principais elementos que fornecem cor aos alimentos (PIMENTEL, 1998).

TABELA 2.12: Pigmentos, fontes e respectivos espectros de absorção máxima.

Pigmento	Absorção máxima de luz (nm)	Ocorrência
*Clorofila “a”	663, 623, 607, 597, 577, 534, 494, 432	Todas as plantas superiores e algas verdes
*Clorofila “b”	644, 614, 594, 567, 542, 503, 456 e 428	Plantas superiores e algas verdes
**Carotenóides	420, 440, 470	Plantas superiores e algumas algas
**Luteol	425, 445, 475	Plantas superiores e algumas algas
**Violoxantol	425, 450, 475	Plantas superiores

*em éter etílico; **em hexano.

Fonte: adaptado de OLIVEIRA, 2001.

Nota-se na Tabela 2.12 que os comprimentos de onda máximos de absorção para a clorofila “a” e “b” são maiores que para os demais pigmentos apresentados, ou seja, possuem uma faixa maior de absorção de luz, o que é apropriado uma vez que são substâncias fotossintéticas. E como já verificado, o espectro de absorção para os carotenóides se inicia em 420 nm e vai até 470 nm, entretanto Pimentel (2002) definiu ser até 480 nm.

As clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes, encontrando-se nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais, normalmente associadas a carotenóides e tocoferóis (STREIT et al, 2005).

De acordo com Ribeiro (2005), as clorofilas são classificadas como lipídeos derivados e consideradas substâncias insaponificáveis, ou seja, compostos obtidos por extração com solvente apolar e normalmente quantificada nos óleos através do resíduo de saponificação, cuja etapa de industrialização corresponde à neutralização. Entretanto, a maior parte dos compostos clorofilados são removidos na etapa de degomagem, uma vez que se associam às moléculas de fosfolipídios e são arrastados nas borras. Portanto, o produto comercial lecitina de soja apresenta quantidade significativa de compostos clorofilados e inúmeros trabalhos têm descrito o uso de membranas filtrantes na degomagem e após esta etapa, para extrair ainda mais estes compostos.

As clorofilas são lipossolúveis, conferem coloração verde aos alimentos de origem vegetal e seus extratos. As ligações dos compostos clorofilados nos cloroplastos são fracas e facilmente quebradas com solventes orgânicos por simples maceração da matéria-prima. Normalmente em frutas, ao longo da maturação, a clorofila presente no início é degradada e a cor verde desaparece, ao passo que a síntese e produção de carotenóides aumentam, cuja coloração característica é amarelada tendendo ao vermelho. Uma forma de conservar a coloração verde em vegetais e prevenir o aparecimento de coloração desagradável é a adição de um álcali, como o

bicarbonato de sódio ou mesmo de neutralizantes como fosfato e citrato, conservantes (RIBEIRO, 2005).

Todas as clorofitas apresentam uma estrutura tetrapirrólica quelada com magnésio, contendo radicais metilas, ácido propiônico esterificado com ácido fítico, cetonas e carboximetoxila. Essa estrutura pode ser visualizada na Figura 2.9.

As clorofitas são moléculas formadas por complexos derivados da porfirina, tendo como átomo central o cátion de magnésio (Mg^{+2}) (Figura 2.9). Esse composto apresenta uma estrutura macrocíclica assimétrica totalmente insaturada constituída por quatro anéis de pirrol. Esses anéis enumeram-se de 1 a 4 ou de “a” a “d”, de acordo com o sistema de numeração de Fisher (SCHOEFS, 2002).

Na natureza, são encontradas várias clorofitas cujas estruturas diferem com relação aos substituintes em torno do núcleo nitrogenado ao magnésio. As clorofitas mais importantes são denominadas de “a” e “b”. São encontradas sempre na proporção de 3 clorofitas “a” para cada uma clorofila “b” nos tecidos vegetais verdes. A clorofila “a” difere da “b” em função do radical presente na estrutura, cuja primeira possui o grupamento metila (-CH₃) e a segunda o radical formila (-HC=O), como apresentado na Figura 2.9 (RIBEIRO, 2005).

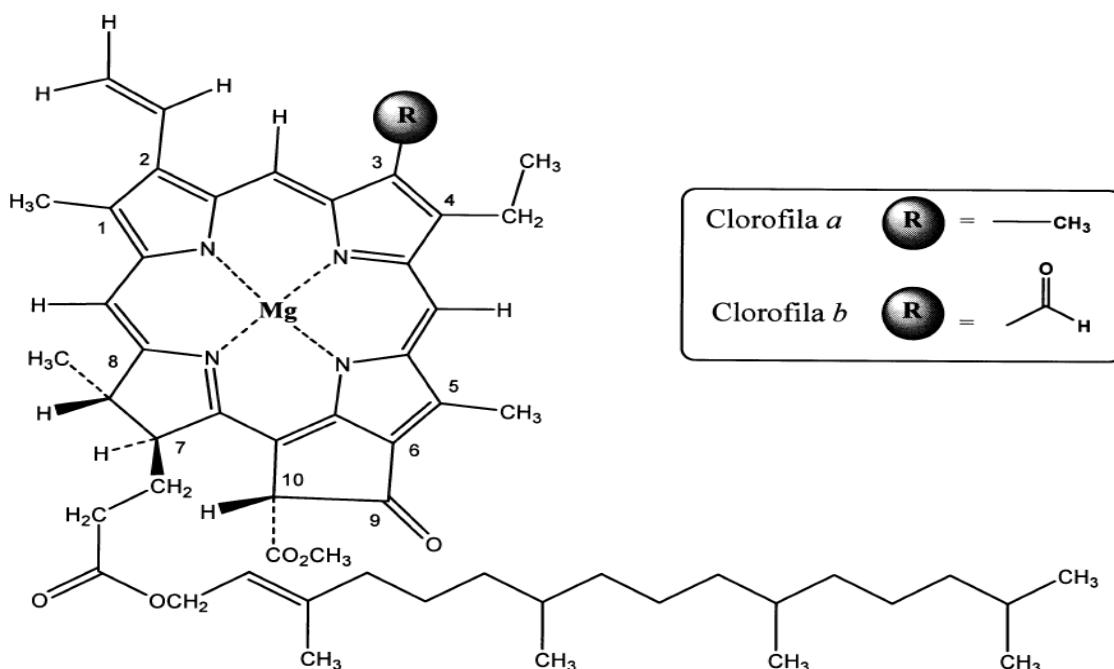


FIGURA 2.26: Estrutura base dos compostos clorofilados e radicais dos grupamentos da clorofila “a” e “b”.

Fonte: STREIT, et al (2005).

Das estruturas clorofiladas degradadas podem ser obtidas uma série de outros compostos naturais como: fitol, forbina, feoforbídeo, clorina, feofitina, fitina e clorofilina, dentre

as quais se destacam o feoforbídeo e a feotinina. As clorofilas são facilmente modificadas por vários fatores: pH, temperatura elevada (aquecimento), presença de luz e oxigênio, presença de metais bivalentes (cobre e zinco) e enzimas (RIBEIRO, 2005).

Devidos às moléculas de clorofilas possuírem uma longa cadeia de duplas ligações conjugadas, reagem facilmente com ácido, base, oxigênio e luz. Tais moléculas reagem facilmente com O₂ (oxigênio atmosférico) sob luz, formando moléculas de oxigênio ativas em processo denominado de foto-oxidação, que oxidam outras moléculas, incluindo lipídios e proteínas e, por esta razão, devem ser monitoradas durante a extração e análises físico-químicas (SHOEFS, 2002).

Nas análises, o caráter hidrofílico/hidrofóbico da molécula de clorofila influí diretamente na escolha do melhor solvente para a sua extração. No caso, nas clorofilas “a” e “b”, ocorre um aumento da polaridade da clorofila “b” em relação à clorofila “a” que se deve ao ligante aldeído (STREIT et al, 2001).

Os solventes orgânicos com características polares como a acetona, o metanol, o etanol, o acetato de etila, a piridina e a dimetilformamida são os mais eficazes para a extração completa das clorofilas. Já os solventes apolares como o hexano e o éter de petróleo são os menos eficazes, mesmo as clorofilas sendo considerados compostos lipídicos derivados, lipossolúveis (STRIET et al, 2005).

Normalmente em plantas, a extração do pigmento é realizada utilizando 10 mL de acetona 80% como solvente, procedendo-se à filtração do extrato e submetendo-o à leitura de absorbância em espectrofotômetro, com comprimentos de onda de 645, 652 e 663 nm em cubetas cujo caminho óptico é de 1cm. Os teores de clorofila “a”, clorofila “b” e clorofila total (em mg/g) podem, dessa forma, ser determinados utilizando-se as Equações 2, 3 e 4, respectivamente (ENGEL; POGGIANI, 1991).

$$Clor.\text{ "a"} = \frac{(12,7xA_{663nm} - 2,69xA_{645nm})}{(100xm)} \quad (2)$$

$$Clor.\text{ "b"} = \frac{(22,9xA_{645nm} - 4,68xA_{663nm})}{(100xm)} \quad (3)$$

$$Clor.total = \frac{A_{652nm}}{(3.45 \times m)} \quad (4)$$

Nas equações 2, 3 e 4, A é a absorbância do extrato e m é a massa da amostra (g).

Tais estruturas tetrapirrólicas caracteristicamente apresentam forte absorção na região visível do espectro. A região polar, que contém o cátion de Mg⁺² com carga positiva é representada pelo anel de porfirina e a região não polar é composta pelo fitol, álcool isopropanóide monoinsaturado de 20 átomos de carbono, na molécula de clorofila. Portanto, a intensidade do verde tem relação direta com a concentração dessa estrutura (OLIVEIRA, 2001).

Quimicamente, a molécula de clorofila é uma porfirina e essa é qualquer pigmento tetrapirrólico macrocíclico, na qual os anéis de pirrol formam um circuito conjugado fechado. O fato de os pigmentos clorofílicos apresentarem um circuito fechado de ligações duplas conjugadas lhes permite a absorção de luz e lhes confere polaridade na molécula mesmo sendo lipossolúvel. Os espectros de absorção da clorofila “a” e da clorofila “b” em solventes orgânicos polares revelam a presença de duas bandas distintas, uma no vermelho e outra no azul, com pequenas diferenças entre elas. Entretanto, as modificações químicas na estrutura radial da porfirina não afetam o cromóforo e não alteram o espectro de absorção acentuadamente desses pigmentos (SHOEFS, 2002).

Como foi dito, as clorofilas são compostos instáveis que se alterados ou dissociados dos cloroplastos sob determinadas condições podem se degradar e fornecer tonalidades coloríferas distintas. As clorofilas são decompostas principalmente em feofitinas, feofóbidos e pirofeofóbidos, em pH ácido e na presença de oxigênio, de luz e calor.

Quando prevalecem essas condições e estão presentes a luz e o oxigênio, a clorofila é descolorida irreversivelmente e a fotodegradação da clorofila tem como resultado a oxidação e consequente abertura do anel tetrapirrólico, além de ocorrer sua fragmentação em compostos de massas moleculares mais baixas, entre eles monopirróis, os quais são incolores e na sua maioria hidrofílicos (VON ELBE; SCHWARTZ, 2000).

A oxidação da molécula de clorofila pode ocorrer em dois níveis: no anel macrocíclico (núcleo) ou no anel isocíclico (externo), provocando a abertura destes. A abertura do anel isocíclico leva à produção de formas coloridas (geralmente pardas), entre elas as clorinas. Porém, a oxidação pode ocorrer no anel isocíclico, sem sua clivagem, mas pela substituição dos hidrogênios por um átomo de oxigênio no carbono do anel. Estes pigmentos geralmente apresentam coloração próxima a da molécula originária. Já a abertura do anel macrocíclico acarreta na formação de moléculas incolores e de estruturas químicas variadas, como pode ser observado na Figura 2.10 (VON ELBE; SCHWARTZ, 2000).

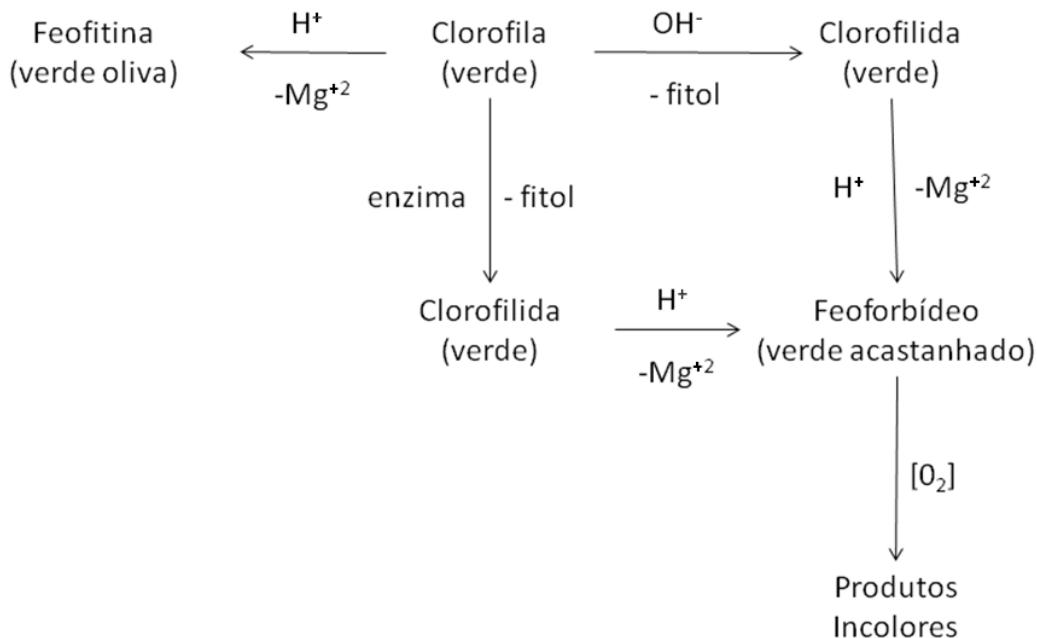


FIGURA 2.27: Esquema de degradação da clorofila.

Fonte: MORETTI, 2007.

A clorofila “a” é mais suscetível à degradação oxidativa na presença de ácidos graxos saturados, quando comparada com ácidos graxos insaturados durante o aquecimento. A presença de ácidos graxos saturados pode facilitar a formação de isômeros da clorofila “b” enquanto a presença de ácidos graxos insaturados pode facilitar a formação de clorofila “a” (MORETTI, 2007).

Como verificado na Figura 2.10, os íons de hidrogênio presentes no meio têm a capacidade de remover facilmente o átomo de magnésio central e substituí-lo, transformando irreversivelmente clorofila em feofitina. Ácidos presentes ou formados durante qualquer condição adversa à conservação das clorofilas são os principais responsáveis pela reação de feofitinização.

A feofitinização é necessariamente a substituição do magnésio do centro da molécula de clorofila por hidrogênio. Essa reação causa uma drástica mudança de cor, de um verde-brilhante para um verde-oliva, e pode ocorrer sob muitas condições de processamento e armazenagem. A velocidade da reação de feofitinização é geralmente maior do que a de outras rotas de degradação da clorofila, sendo considerado o mais importante mecanismo de destruição da clorofila durante o processamento e armazenagem de vegetais (STREIT et al, 2005).

A formação de feofitina “a”, produto da feofitinização da clorofila “a”, geralmente é mais rápida que a de feofitina “b”, devido à diferente velocidade de ligação das respectivas clorofilas aos íons hidrogênio. Tem-se que o conteúdo de feofitina deve ser levado em

consideração, pois apresenta atividade pró-oxidativa e maior instabilidade para a foto-oxidação dos triglicerídeos do que a clorofila, comprometendo a estabilidade do óleo. A feotinina em presença de calor degrada o grupamento carboximetil (acetato) (-CO₂CH₃) formando as pirofeofitinas (VON ELBE; SCHWARTZ, 2000).

A degradação da clorofila durante o aquecimento é seqüencial: clorofila - feofitina - pirofeofitina. Em alguns produtos, pirofeofitinas foram determinadas como os derivados clorofílicos predominantes e que apresentam as mesmas propriedades espectrais das feofitinas, cor verde oliva (VON ELBE; SCHWARTZ, 2000).

Outro tipo comum de deterioração é a hidrólise da cadeia fitol das clorofilas em presença da enzima clorofilase, conduzindo à formação de clorofílida que pode ter o magnésio central substituído por hidrogênios em meio ácido ou básico formando os feoforbídeos, cuja coloração é um verde acastanhado. Os feoforbídeos, por sua vez, podem ser oxidados e perderem o grupamento carboximetil (-CO₂-CH₃) na presença de calor e oxigênio atmosférico, formando os pirofeofórbidos, cujos espectros são incolores (VON ELBE; SCHWARTZ, 2000).

Sabe-se que os produtos de decomposição das clorofilas são cerca de dez vezes mais fotossensibilizadores que as clorofilas, portanto, a decomposição da clorofila pode ter um impacto muito significativo na estabilidade do óleo. O produto primário da foto-oxidação é o hidroperóxido e a foto-oxidação ocorre através de reações fotoquímicas ou fotossensibilizadoras, envolvendo a interação entre as duplas ligações e o oxigênio *singlet*, produzido pelo efeito da luz (especialmente UV ou próxima de sua faixa) sobre o oxigênio *triplet* (SHOEFS, 2002).

A foto-oxidação é um processo irreversível e devido à clorofila e seus derivados absorverem muita luz e interagirem com o oxigênio *singlet*, produzindo radicais livres, como superóxido (O₂⁻) e hidroperóxidos, perdem suas características coloríferas iniciais. Entretanto, devido aos carotenóides poderem prevenir a foto-oxidação das clorofilas e estarem diretamente associados a elas, a relação entre as clorofilas e carotenóides pode ser usada como um indicador potencial da proporção de perdas foto-oxidativas causadas por adversidades do meio (CARVALHO, 2007).

2.6.2 Carotenóides

Os carotenóides são compostos de estrutura isoprenóide, cuja coloração varia de amarelo a vermelho. A estrutura fundamental dos carotenóides pode ser representada pelo pigmento do tomate, o licopeno, Figura 2.11, e a partir dessa ser obtida uma série de outras

estruturas similares por meio de hidrogenação, ciclização, oxidação ou a combinação das estruturas (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

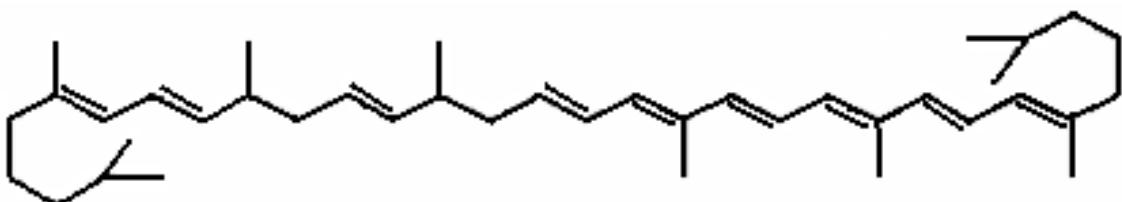


FIGURA 2.28: Estrutura química espacial do licopeno.

Fonte: GRANATO, 2009.

A estrutura acima, do licopeno é caracterizada por uma estrutura simétrica e acíclica, constituída somente por átomos de carbono e hidrogênio, contendo 9 ligações duplas conjugadas e 2 duplas ligações não conjugadas. Sua estrutura é responsável pela coloração vermelho-alaranjado de frutas e vegetais, nas quais está presente. Esse pigmento carotenóide não tem atividade de pró-vitamina A, mas tem um efeito protetor direto contra radicais livres, sendo considerado um potente antioxidante protetor devido à reação com os radicais peróxidos e com o oxigênio atmosférico. O organismo humano não é capaz de sintetizar carotenóides, dessa forma eles são obtidos exclusivamente por meio da dieta alimentar (MORITZI; TRAMONTE, 2006).

A estrutura básica dos carotenóides consiste em oito unidades de isopreno unidas de tal forma que ocorre uma inversão na parte central da molécula e os dois grupos metílicos centrais ficam separados por três carbonos (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007). A principal característica dos carotenóides é um sistema de ligações duplas conjugadas, que corresponde ao cromóforo, e que permite a estes compostos absorver luz na região do visível, como pode ser observado na estrutura do β -caroteno, Figura 2.12.

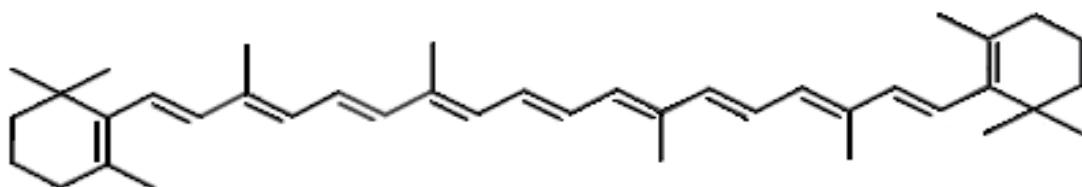


FIGURA 2.29: Estrutura química espacial do β -caroteno.

Fonte: ZANATTA, 2004.

O β -caroteno, quantitativamente, é o mais importante e mais ativo dos carotenóides, é considerado um potente antioxidante originário das plantas, sendo que das EROs (espécies reativas de oxigênio) as mais eficientemente neutralizadas pelo β -caroteno são o oxigênio singlet

e o radical peroxil. O conhecimento da ação protetora dos carotenóides, especialmente do β -caroteno, contra os danos oxidativos justificam o seu efeito benéfico à saúde, prevenindo assim, doenças geradas pelo estresse oxidativo, bem como inibirem degradações e modificações indesejadas que podem acometer o alimento no que diz respeito aos lipídeos, carboidratos e também proteínas (SANT'ANNA, 2005).

Como dito, a cor é resultante da presença de um sistema de duplas ligações conjugadas. Para que a cor amarela apareça são necessárias no mínimo sete ligações conjugadas. O aumento no número de ligações conjugadas resulta em maiores bandas de absorção em maiores comprimentos de onda e nesse caso, os carotenóides tomam espectros vermelhos (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Alguns carotenóides são precursores de vitamina A, sendo então denominados de pró-vitamina A. Somente os carotenóides que contém em suas moléculas a estrutura cíclica apresentam atividade pró-vitamínica. O α -caroteno possui uma molécula de pró-vitamina A, enquanto que o β -caroteno possui duas, como verificadas na Figura 2.12, por isso tem-se sua relevância na constituição centesimal de frutas e vegetais (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Já foram identificados mais de 300 carotenóides, os quais podem ser divididos em dois grupos principais: os carotenos (constituídos apenas por carbono e hidrogênio) e as xantofilas (derivadas da oxidação dos carotenos). As xantofilas podem ser hidroxiladas, metoxiladas, carboxiladas e cetônicas. São amplamente distribuídas na natureza, encontradas nos vegetais em conjunto com as clorofilas (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Os carotenóides são compostos lipofílicos e são solúveis em solventes orgânicos tal como o hexano. Eles são moderadamente estáveis ao calor e perdem a cor por oxidação. Podem ser facilmente isomerizados pelo calor, ácido ou luz. A isomerização influencia na coloração característica do carotenóide, ou seja, as duplas ligações das estruturas carotenóides podem ocorrer nas formas isoméricas *cis* ou *trans*, sendo a forma *trans* a mais freqüente na natureza, pois apresenta coloração mais intensa (escura), já as ligações *cis* enfraquecem gradualmente a coloração dos carotenóides (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Normalmente a coloração dos carotenóides em vegetais é mascarada pela clorofila, mas nas frutas e vegetais essas são degradadas ao longo da maturação, dando lugar ao aparecimento pronunciado da coloração dos carotenos. Os carotenóides têm espectros de absorção de luz na região entre 400 a 550 nm. A energia absorvida por esses pigmentos pode ser transferida para a clorofila "a" durante a fotossíntese, entretanto, os carotenóides protegem as moléculas de clorofilas e proteínas, bem como os lipídeos, contra a foto-oxidação sob luz excessiva (SOUSA, 2002).

Segundo Pimentel (1998), os comprimentos de onda capazes de excitar os elétrons variam dentro do espectro de luz visível para os carotenóides de 420 até 480 nm, cujo espectro de luz vermelha possui o maior comprimento de onda e, portanto, menos energético.

A oxidação é a principal causa da degradação de carotenóides em alimentos e são facilmente oxidados devido ao grande número de duplas ligações conjugadas. A estabilidade é dependente do meio e os produtos de sua degradação são muito complexos. Uma auto-oxidação intensa, ou seja, a geração de radicais livres em cadeia resulta em despigmentação devido os peróxidos reagirem com os carotenos (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

O possível papel antioxidante do β -caroteno se deve ao decréscimo da formação do oxigênio *singlet*, que também reage diretamente com os radicais peróxidos e alcóxidos, interferindo na reação em cadeia da peroxidação lipídica (VANNUCCHI et al, 1998).

De acordo com Fontana et al (2000), os carotenóides de maneira geral atuam sobre estes radicais peróxidos e alcóxidos, segundo diferentes mecanismos de reação, resultando na extinção do radical livre inicial, peroxil, segundo as reações 1 ou 2.



E, paralelamente, sob uma disponibilidade maior de oxigênio, o curso das reações se completa como nas reações 3 e 4.



De acordo com Von Elbe e Schwatz (2000), na oxidação do β -caroteno de configuração *trans*, inicialmente formam-se epóxidos e compostos carboxílicos. Numa oxidação contínua dos carotenóides há a formação de monoepóxidos, alcoóis e diepóxidos. A oxidação do β -caroteno se intensifica em presença de sulfito e íons metálicos. Os produtos da oxidação são incolores, pois os centros ativos (duplas ligações) dos carotenóides são degradados. A oxidação descrita para o β -caroteno pode ocorrer com os demais carotenóides, ou seja, não é restritiva.

Vários estudos indicam que os carotenóides desempenham um papel importante na prevenção de doenças como câncer, catarata, arteriosclerose e retardo pelo envelhecimento precoce. Podem também ser extraídos e tratados para serem utilizados como corantes naturais em alimentos industrializados (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

No caso específico do β -caroteno, pró-vitamina A, é absorvido pelo homem através do intestino delgado, sendo utilizado como antioxidante, cujo mecanismo pelo qual os carotenóides protegem os sistemas biológicos contra radicais livres, inativando-os, doando elétrons (FONTANA et al, 2000).

Estas propriedades benéficas, antioxidativas são devidas às estruturas poliênicas dos carotenóides, as quais ao mesmo tempo são responsáveis pela instabilidade química perante o calor e outros agentes oxidantes, sendo a oxidação a principal causa das perdas destes componentes durante o processamento térmico intenso dos alimentos (BELÉN-CAMACHO ET AL, 2007).

Na matriz complexa de nutrientes que compõem os alimentos, os carotenóides impedem as degradações oxidativas em cadeia de radicais livres, as quais geram compostos indesejáveis que modificam sabores, odores e cores característicos. Com relação à saúde, a ingestão regular desses componentes antioxidantes, bem como dos tocoferóis, dos fenólicos ou aromáticos geram não só benefícios contra doenças, mas contra envelhecimento celular de tecidos e combatem sobretudo, todas as reações orgânicas que possuem radicais livres.

2.6.3 Substâncias Marrons

Um grande número de componentes indesejáveis estão presentes em óleos e gorduras e cada um desses deve ser quase ou totalmente removido pelas etapas do processo de refino, para a obtenção do óleo vegetal ou banha visando utilização doméstica que requer maior tempo de armazenamento (MORETTO; FETT, 1998). Estes componentes são removidos dos óleos e das gorduras devido à capacidade dessas estruturas químicas reagirem sob determinadas condições de armazenamento e transporte dos produtos, impossibilitando a comercialização dos mesmos ao gerar compostos desagradáveis em termos de coloração, odor e sabor. A Tabela 2.13 foi apresentada por Soares (2004) e consiste numa lista desses compostos não-glicerídeos que compõem o óleo bruto.

Ressalta-se que é improvável algum óleo ou gordura conter todos esses componentes listados, mas, de qualquer maneira, contendo todos ou não, alguns desses são protagonistas da composição centesimal do produto oriundo do processo de degomagem realizado durante o refino de óleos e gorduras. Normalmente, como explicado, o produto final obtido na degomagem é denominado de lecitina, seguido do nome da matéria-prima que lhe deu origem. A lecitina de soja, no caso, para ser comercializada como agente emulsificante não deve conter qualquer componente estranho, tais como sujidades, pesticidas e outros que vão interferir nas suas

características específicas de coloração, viscosidade e conteúdo de estruturas químicas como os fosfolipídeos, assim não conterá vários dos componentes listados na Tabela 2.13.

TABELA 2.13: Componentes não-glicerídeos dos óleos e gorduras brutos.

Ácidos Graxos Livres (AGL)
Gliceróis parciais (mono e diacilglicerídeos)
Fosfolipídios
Pigmentos (Carotenóides e Clorofilas)
Esteróis
Tocoferóis
Produtos de oxidação
Minerais
Fragmentos de proteínas
Ceras
Hidrocarbonetos
Umidade
Sujidades
Resíduos de pesticidas
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA)

FONTE: SOARES, 2004.

A lecitina também pode ser chamada de fosfatidilcolina, porque na prática essa representa a maior proporção dos fosfolipídios presentes. A remoção de fosfolipídios resulta na consequente remoção de ferro e cobre, se houver no óleo bruto, que decorre na melhoria da estabilidade oxidativa do óleo. Os fosfolipídios do óleo de soja bruto estão presentes em formas hidratáveis e não hidratáveis, sendo que os primeiros são removidos por adição de água (degomagem com água) sob temperaturas entre 60-75°C, enquanto que os segundos para serem removidos completamente com água necessitariam de um maior tempo para hidratação e temperaturas mais amenas. Assim, dentre os diferentes tipos de fosfolipídios, a fosfatidilcolina (PC) e o fosfatidilinositol (PI) hidratam-se relativamente rápido. Já o ácido fosfatídico livre (PA) e a fosfatidiletanolamina (PE) reagem consideravelmente mais lentamente com a água, daí serem denominados de não hidratáveis e caso não sejam extraídos na etapa de degomagem, podem ser retirados na etapa subsequente de neutralização. A colina hidratada pode encapsular ou mesmo arrastar até 80% dos outros fosfolipídios (SOARES, 2004).

No processo de hidratação e remoção desses fosfolipídeos recomenda-se a utilização de água desmineralizada e deionizada na degomagem, além de adicionar os ácidos, fosfórico ou

cítrico, como agentes auxiliares no processo. Estes dois ácidos se combinam com os sais de cálcio e magnésio e permitem a transferência dos ácidos fosfatídicos e da etanolamina do óleo para a fase aquosa, removendo-os do óleo bruto. Entretanto, o uso de ácidos na degomagem não é recomendado para as gomas que se destinam à produção de lecitinas comerciais, pois sua presença as escurece ainda mais e as fazem perder parte de sua propriedade emulsificante (BEI, 2005).

O escurecimento indesejável citado, cuja coloração predominante é o marrom intenso, tendendo ao preto, na lecitina se deve à fosfatidiletanolamina que se complexada com os sais de cálcio e magnésio e submetida à temperaturas elevadas, tal qual é a atingida na secagem da lecitina, adquire uma coloração marrom irreversível (FERNANDES JÚNIOR, 2009).

Ressalta-se que mesmo sem a adição dos ácidos fosfóricos e cítricos na água de degomagem, a lecitina apresentará coloração marrom devido à presença de fosfatidiletanolamina que se complexa com os sais, mas a coloração não será intensificada.

A lecitina de soja characteristicamente é um líquido de coloração âmbar, extremamente viscoso e de odor específico. Possui em sua composição compostos lipossolúveis como as clorofilas (verdes) e carotenóides (amarelo/vermelho), que quando misturados e concentrados fornecerão a coloração tendendo ao espectro marrom.

Da mesma forma, além das espécies químicas citadas que fornecem coloração e compõem a lecitina de soja, observa-se em muitos rótulos do produto, gorduras saturadas e insaturadas (óleos), cuja coloração é próxima ao amarelo, e há em algumas, as proteínas e os carboidratos que se oxidados em temperaturas elevadas formam produtos cuja coloração tendem ao marrom, como as melanoidinas da reação de Maillard. As substâncias ditas marrons na lecitina são grupamentos aldeídicos e aminos livres, associados ou não aos carboidratos simples e aos ácidos graxos. Estes grupamentos não são oxidados ou reduzidos, mas sim modificadas fisicamente, como por exemplo, em temperaturas elevadas, intensificando suas colorações (SHOLFIELD; DUTTON, 1952).

Da mesma forma, Van Nieuwenhuyzen e Tomáz (2008), primeiramente verificaram que a lecitina naturalmente possui uma coloração marrom e essa cor pode ser atribuída à cor dos componentes coloridos, carotenóides, melanoidinas, e porfirinas (clorofilas), além dos produtos oriundos das reações de Maillard e Amadori. Segundo, atentaram que o simples branqueamento preferencialmente das gomas secas com o peróxido de hidrogênio a 35% em solução, deve atender às especificações estabelecidas para a lecitina ser utilizada como emulsificante em alimentos, cuja denominação é E322 e possuir valores de índice de peróxidos (POV) máximos de 10 meqg/kg, como especificado na Tabela 2.6. Assim, o efeito da purificação com peróxido de

hidrogênio é limitado, mesmo tendo um impacto positivo bacteriológico. Nos Estados Unidos há a lecitina duplamente purificada com peróxido de benzoíla, entretanto essa lecitina não é permitida para ser utilizada como aditivo alimentar em continentes como a Europa.

Apesar da grande variedade de colorações intensas da lecitina comercial, fornecidas por seus componentes descritos, há outros em menores proporções, como as ceras e hidrocarbonetos incolores ou mesmo produtos de oxidação que a compõem, mas que, no entanto não irão lhe conferir tonalidades, já que são incolores.

Como verificado, além da qualidade da matéria-prima, soja, a etapa de degomagem define sobremaneira os aspectos qualitativos e químicos da lecitina de soja, ainda mais se seca sob condições controladas. Na degomagem, o solvente utilizado para extrair os fosfolipídios do óleo vegetal bruto é a água, que pode ser alcalina ou acidificada para melhorar o processo de extração, entretanto emprega-se na maioria dos processos apenas água deionizada e desmineralizada. Os fosfolipídios e demais componentes degomados, por suas características moleculares se ligam com a água e entre si, formando gomas ou mais apropriadamente micelas. A característica primordial desses componentes extraídos é a lipossolubilidade, cuja característica molecular é a apolaridade. A ausência de polaridade proporciona a estes solubilidades em solventes orgânicos, tal fato é de extrema importância, pois dele dependem a eficiência nas análises, miscibilidade dos componentes da lecitina e da lecitina como um todo.

2.7 Solvente

O solvente universalmente adotado nas indústrias de óleo é o hexano. Trata-se de um derivado do refino do petróleo e o que chega às indústrias é uma mistura de frações n-parafínicas apresentando não um ponto de ebulição específico, mas uma faixa de temperatura de volatilização como seria esperado, dada sua composição variável. A faixa de temperatura de volatilização deve estar entre 65 e 70°C. Apesar da presença de outros componentes no hexano comercial, eles têm pouca influência em sua eficiência e forma de uso (OETTERRER; REGITANO d`ARCE; SPOTO, 2006).

Vários solventes foram empregados antes do hexano, porém a prática industrial levou à adoção do mesmo por atender a alguns requisitos como ser totalmente apolar e dissolver o óleo, ser imiscível à água, ter baixo ponto de ebulição (vaporização), não corroer as canalizações e os aparelhos com os quais entra em contato, apesar de ter como desvantagens: alta inflamabilidade, explosividade e toxicidade (OETTERRER; REGITANO d`ARCE; SPOTO, 2006).

Um solvente ideal deveria apresentar: alta solubilidade em óleo a baixas temperaturas, alta seletividade pela substância a ser extraída; ser inerte quimicamente, evitando reações paralelas e protegendo os equipamentos; ser não inflamável; não explosível; não irritante; não cáustico; não venenoso; ter baixa viscosidade e tensão superficial para garantir boa percolação e umedecimento; facilmente removível; baixo ponto de ebulação; ser imiscível em água; possuir baixo ponto de ebulação e baixo calor de evaporação e por fim, ser pouco poluente (OETTERRER; REGITANO d'ARCE; SPOTO, 2006).

Nenhum solvente preenche todos esses requisitos mencionados. Busca-se sempre o solvente que apresente o menor número de desvantagens associado às vantagens que se deseja (OETTERRER; REGITANO d'ARCE; SPOTO, 2006).

O solvente é uma substância química ou uma mistura líquida de substâncias químicas capazes de dissolver outro material de utilização industrial. Geralmente o termo “solvente” se refere a um composto de natureza orgânica. Suas composições químicas são diversas, entretanto os solventes possuem certo número de propriedades em comum: são compostos líquidos, normalmente lipossolúveis, com grande volatilidade, muitos inflamáveis, e produzem efeitos tóxicos (FONSECA, 2001).

Sua natureza química é tão variada, que para facilitar seu estudo e aplicação, são classificados em vários grupos de acordo com suas propriedades químicas. Os solventes de acordo com Garbelotto (2007) podem ser divididos em três grupos de acordo com interação com o soluto:

- polares próticos;
- dipolares apróticos;
- não polares apróticos.

A distinção entre as classificações restringe-se sobre a polaridade do solvente e na sua habilidade de formar pontes de hidrogênio, tal como a água, solvente polar universal. Os polares próticos referem-se às estruturas que possuem um átomo de hidrogênio ligado a um átomo eletronegativo e são solvatadores de ânions. Pertencem a este grupo a água, amônia, alcoóis, ácidos carboxílicos e aminas primárias (GARBELOTTO, 2007).

Os solventes dipolares apróticos não atuam como formadores de pontes de hidrogênio, possuem ligações do tipo carbono-hidrogênio que não são polarizadas o suficiente, geralmente são bons doadores de elétrons e consequentemente solvatadores de cátions (GARBELOTTO, 2007).

Já os solventes do tipo não polares apróticos são os que interagem levemente como o soluto por forças de indução e de dispersão. Pertencem a este grupo os hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos e seus derivados halogenados, aminas terciárias e bisulfeto de carbono (GARBELOTTO, 2007).

Entretanto, a classificação dos solventes não é rígida, há vários solventes que não se encontram em nenhum destes grupos como, por exemplo, os ésteres e aminas secundárias. Mas, esta classificação faz-se proeminente com relação à solvatação dos íons, densidade de carga iônica que compõem a molécula do solvente ou mesmo sobre as forças intermoleculares envolvidas num processo de dissolução (GARBELOTTO, 2007).

O termo solvatação refere-se à dissolução do soluto em um solvente, na qual as forças de atração entre as moléculas do soluto decrescem na proporção em que as moléculas do solvente penetram entre as moléculas e finalmente formam uma camada em torno de cada molécula do soluto (GARBELOTTO, 2007).

A força da solvatação e o número de moléculas de solventes na camada de solvatação dependem principalmente do parâmetro solubilidade, momento dipolar, ligação hidrogeniônica e o tamanho molecular do soluto e do solvente.

A solubilidade de um soluto em um solvente particular refere-se à máxima quantidade de soluto que se dissolverá em uma específica quantidade de solução ou solvente. Isto representa o nível de saturação da solução onde não mais soluto será dissolvido, criando um equilíbrio dinâmico na solução (GARBELOTTO, 2007).

Hildebrand em 1916 propôs que moléculas com forças intermoleculares semelhantes poderiam se atrair e interagir entre si. Tal estudo foi formalizado em 1950 com a colaboração de Scott, no qual a equação proposta para descrever a solubilidade de um determinado soluto em um solvente, referindo-se somente a sistemas apolares ou fracamente polares e no estado líquido (forças moleculares do tipo dipolo induzido e instantâneo, cujas ligações atômicas são covalentes), propôs valores para estas solubilidades (ARCHER, 1996).

Em 1964, Prausnitz e Blanks realizaram um aprimoramento ao considerar as interações polares de compostos com dipolo permanente (ligação molecular do tipo dipolo-dipolo entre moléculas polares), definindo uma solubilidade total constituída por dois componentes: coesão apolar e um parâmetro polar (GARBELOTTO, 2007).

Mas, em 1968 e em 1969, Burrell e Hansen respectivamente, introduziram um conceito melhor ao atribuir valores numéricos à solubilidade total dos solventes representados por três componentes (forças químicas moleculares): apolaridade (δ_d), polaridade (δ_p) e

hydrogenicidade da molécula (δ_h). Assim, a base do Parâmetro de Solubilidade de Hansen (PSH) é uma suposição de que a energia total coesiva molecular é constituída pela adição das contribuições entre as interações apolares (dispersivas), interações polares (dipolo-dipolo e dipolo induzido) e ligações hidrogeniônicas e outras interações específicas como as de ácido-base de Lewis (GARBELOTTO, 2007).

A solubilidade total é quantificada pela raiz quadrada da soma dessas três forças que imperam nas moléculas dos solventes e dos solutos elevadas ao quadrado, dada pela Equação 5.

$$\delta_T = (\delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2)^{1/2} \quad (5)$$

Cada componente da Equação 5, bem como o valor da solubilidade total possuem como unidades originais $(\text{cal}/\text{cm}^3)^{1/2}$, que no Sistema Internacional de Medidas foram modificadas por $\text{J}^{1/2} \text{ cm}^{3/2}$ ou $\text{MPa}^{1/2} \text{ cm}^3$ (ARCHER, 1996).

A estrutura molecular do solvente determina a sua característica polar, apolar ou hidrogeniônica, podendo-se definir a característica do soluto uma vez conhecidos a molecularidade do solvente e seus parâmetros. A pequena interação ou associação entre os átomos de hidrogênio reflete uma solubilidade polar na molécula, como por exemplo, o benzeno que é um solvente composto por somente carbono e hidrogênio, possuindo estrutura cíclica com duplas ligações caracterizando 98% de apolaridade e 2% hidrogeniônica (doação de elétrons). Já o comportamento polar de uma molécula como a acetona é devido à ligação covalente do grupo carbonila (-C=O) presente na estrutura, nessa, o átomo de oxigênio por ser extremamente eletronegativo irá atrair os elétrons dos outros átomos da molécula, bem como irá predispor a mesma a realizar ligações moleculares ou não. O hexano é um solvente composto somente por átomos de carbono e hidrogênio, cujas ligações são covalentes e que apresenta 100% de característica não polar, portanto o valor de sua força de dispersão apolar será elevado (ARCHER, 1996).

Mais recentemente, em 1978 e 1984, Karger e Beerbower respectivamente, propuseram modelos de multiparâmetros para o cálculo da solubilidade de misturas de solventes envolvidos na dissolução de determinado soluto ou solutos. Entretanto, tais modelos não dizem respeito ao estudo sobre a solubilidade da lecitina de soja, no qual intenciona-se apenas um solvente, o mais apropriado, na dissolução da mesma (GARBELOTTO, 2007).

Na Tabela 2.14, pode-se verificar alguns solventes, inclusive o benzeno e seus respectivos valores relacionados às forças químicas moleculares elucidadas por Hansen. Verifica-se uma tendência à apolaridade em cada solvente. O solvente que menos demonstra esta

característica apolar é o metanol, que apresenta elevado valor polar, seguido da acetona, do propanol e pentanol, respectivamente. Os melhores solventes apolares de acordo com os valores de Hansen são o benzeno, ciclohexano, octanol e hexano. O tolueno e o clorofórmio apresentam peculiaridades, pois são excelentes solventes apolares, mas, no entanto apresentam cerca de 20% de caracteres polares. Também é possível observar sobre o potencial hidrogeniônico dos solventes na Tabela 2.14, que os menores potenciais referem-se às moléculas compostas somente por carbono e hidrogênio e que esses, se presentes, correspondem à disponibilidade energética dos átomos de realizarem ligações externas, pela doação ou recepção de elétrons.

TABELA 2.14: Parâmetros de solubilidade de Hansen.

Solvente	Apolar (δ_d)	Polar (δ_p)	Parte hidrogeniônica (δ_h)
Acetona ($\text{CH}_3)_2\text{CO}$	15,5	10,4	7,0
Benzeno (C_6H_6)	18,4	0,0	2,0
Ciclohexano (C_6H_{12})	16,8	0,0	0,2
Clorofórmio (CHCl_3)	17,8	3,1	5,7
Hexano (C_6H_{14})	15,0	0,0	0,0
Metanol (CH_3OH)	15,1	12,3	22,3
Octanol (C_8H_{18})	17,0	3,3	11,9
Pentanol ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$)	15,9	4,5	13,9
Propanol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$)	16,0	6,8	17,4
Tolueno (C_7H_8)	18,0	1,4	2,0

Fonte: ARCHER, W. L., (1996).

De acordo com Melo (2006), quando se dissolve uma substância, soluto, separa-se os seus componentes que se introduzem entre as moléculas do solvente. Assim, é do senso comum que uma dissolução só se dará quando todas as energias que compõem o sistema, favoráveis à dissolução, possuírem:

- Energia de ligação entre moléculas ou íons de soluto, é consumida
- Energia de ligação entre moléculas de solvente, é consumida
- Energia de ligação soluto-solvente, é libertada

Deve ser observado, porém, que o mecanismo de dissolução difere, conforme as características do soluto e solvente. No caso dos compostos iônicos, em solventes polares (por

exemplo, em água) dissociam-se nos seus íons constituintes e os íons em água ficam envolvidos por uma camada de solvente constituída por dipolos moleculares que estabilizam as cargas elétricas (MELO, 2006). Tal mecanismo pode ser visualizado esquematicamente na Figura 2.13, cujas trocas iônicas do ácido fosfatídico ocorrem em presença dos sais de cálcio e magnésio, formando as chamadas substâncias marrons irreversíveis na lecitina.

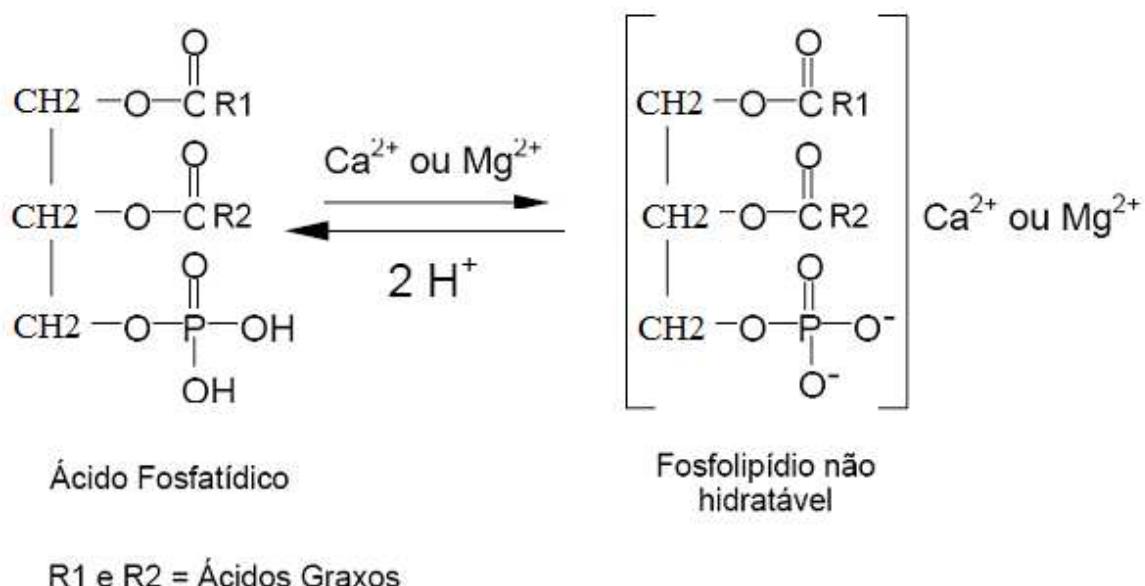


FIGURA 2.30: Reação iônica do ácido fosfatídico.

Fonte: BEI (2005).

Esta reação é importante e responsável pela geração de coloração marrom na lecitina e por vezes ocorre também com a fosfatidiletanolamina. Alguns autores consideram que esta reação confere impurezas à lecitina, desqualificando-a em termos qualitativos.

No caso de compostos moleculares a análise da sua solubilidade ou miscibilidade deve sempre ser feita através da avaliação das energias atribuídas a cada componente molecular no processo de dissolução, como foi realizado por Hansen (MELO, 2006). A representação química de estruturas moleculares com distribuição energética pode ser verificada na Figura 2.14 que se refere ao hexano e ao metanol.

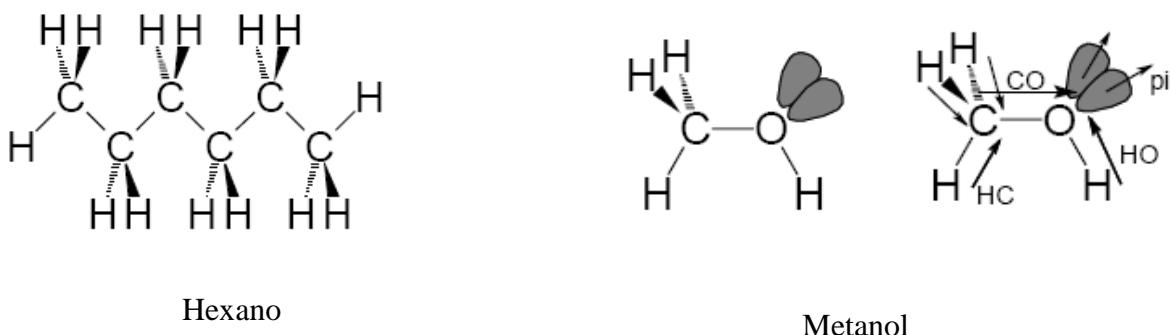


FIGURA 2.31: Representação espacial das estruturas químicas de hexano e metanol.
Fonte: MELO, 2006.

Observa-se na Figura 2.14 que o hexano é estritamente apolar (pelo menos na conformação apresentada, a mais estável), possui entre os átomos ligações do tipo covalente, sem cargas e o metanol é claramente polar devido à diferenças de eletronegatividades entre os seus átomos, possui ligações covalentes (carbono e hidrogênios), mas também de ponte de hidrogênio (MELO, 2006).

Assim, quando se desejar solubilizar adequadamente e totalmente compostos de natureza apolar como a lecitina de soja (componentes lipossolúveis do produto) deve-se verificar os Parâmetros de Hansen dos solventes para se obter a melhor solubilização possível.

2.8 Processos Químicos de Despigmentação de Lecitina de Soja (Lecitina Branqueada e Duplamente Branqueada)

O termo, purificação empregado no decorrer deste trabalho em detrimento ao termo branqueamento, mais usual nas indústrias, é mais abrangente em denotar não só processo de redução e/ou retirada da cor da lecitina de soja. Entretanto, observações visuais devem ser realizadas nas lecitinas de soja adicionadas de peróxido de hidrogênio e peróxido de benzoíla para de fato denominar a despigmentação de purificação. O processo de redução da cor irá depender da especificação comercial e utilização da lecitina, mas não somente à cor, como também outros tipos de impurezas que possivelmente podem estar presentes na lecitina de soja após processo de obtenção.

Segundo Martines (2006) a purificação é necessária para eliminar os aspectos que imputam características indesejáveis e causam rancificação e oxidação do óleo. Tal afirmação não é restritiva, podendo-se conferir ao termo purificação a conotação sobre a extração do elemento que se deseja.

Em boas condições do processo de obtenção, a lecitina natural apresenta cor âmbar ou castanha, mais ou menos escura cujas tonalidades dependem principalmente da qualidade do óleo bruto obtido e da qualidade da semente processada (MORETTO; FETT, 1998). Para a obtenção de lecitina de boa qualidade, a soja deve ser de primeira linha, não tendo sido mal processada durante a secagem, nem estocada junto com grãos quebrados ou ardidos e com impurezas, que possam provocar aquecimento do grão e consequente oxidação do óleo e das gomas (DORSA, 1998).

Com relação à eficiência do processo para obtenção de lecitina de boa qualidade, dois pontos críticos de controle a serem monitorados são a temperatura e a pressão nos equipamentos durante a secagem da lecitina. O equipamento deve ser operado com vácuo e em temperaturas que não ultrapassem 90°C, com a finalidade de não intensificar a coloração escura da lecitina comercial natural (DORSA, 1998).

Obtendo-se como ideal, um produto de cor âmbar, pode ser comercializado em seguida ou passar pelo processo de despigmentação (purificação) através da aplicação de agentes descolorantes. De acordo com Morita e Assupção (1967) nos processos de descoloração podem ser utilizados um ou vários dos agentes químicos:

- Cloreto estanhoso: bastante utilizado para descolorização de óxi-ácidos ou ácidos fenólicos como o ácido ânsico, ácido salicílico e ácido cresetínico.
- Peróxido de benzoíla: ou comercialmente denominado de lucidol, forma anidrido benzóico e oxigênio ativo; branqueador de farinhas em moinhos.
- Peróxido de hidrogênio: é principalmente utilizado para branqueamento de fibras animais, mas pode ser usado para descoloração de soluções.
 - Carvão ativado: para a absorção de enxofre, alcaloides, aminas e corantes.
 - Caulim D: usado na descoloração de petróleo e gorduras.
 - Acetato básico de chumbo: descolorante de gorduras (óleos) e agente precipitador.
 - Hidróxido de alumínio: descolorante de soluções em geral, floculante.
 - Gás sulfuroso: descoloração de açúcares.

Dentre esses compostos químicos utilizados para descoloração da lecitina de soja, destaca-se o peróxido de hidrogênio, também conhecido comercialmente em solução como água oxigenada. Esse composto possui propriedade bactericida (anti-séptico), isentando assim a possibilidade de contaminação da lecitina de soja por microorganismos e aumentando a qualidade do produto (BELITZ; GROSH, 1999).

Geralmente, o peróxido de hidrogênio é introduzido no processo durante a homogeneização das gomas e antes do transporte ao secador. Outro método também empregado é a adição do peróxido na operação de degomagem, sendo adicionada uma solução de 30 a 35% juntamente com a água de hidratação das gomas (POLEDNA, 2006).

A adição de peróxido de hidrogênio pode ser ainda, feita após a secagem das gomas, nos secadores através do arraste por vácuo com o objetivo de prolongar a vida útil do produto (ação bactericida). Esta adição não deve ultrapassar os limites de segurança do produto quanto ao teor de peróxido de hidrogênio, devendo atender, portanto, aos padrões oficiais quanto às características físicas comerciais definidos pela AOCS. Em ambos os métodos, a quantidade de agente purificador adicionado pode chegar a 2% em relação aos fosfatídeos contidos, ou seja, segundo especificação técnica da AOCS (Ja, 8-87) sobre a determinação da quantidade (índice) de peróxidos presente na lecitina de soja, não deve ser menor que 1,5 mL de tiosulfato de sódio 0,01N por titulação volumétrica e não maior que 20 mL (SANTOS; ZANETTI, 1981).

Quanto à eficiência dos processos, os resultados obtidos são semelhantes e as demais fases de operação de secagem e fluidificação da lecitina são idênticas àquelas para obtenção de lecitina não purificada.

Existe ainda, a possibilidade de realizar uma dupla operação de purificação da lecitina pelo emprego de um segundo agente purificador, geralmente o peróxido de benzoila, o que resulta em produtos acabados de cor mais clara. Normalmente, quando se aplica o duplo branqueamento, a adição dos agentes descolorantes se faz durante a degomagem do óleo bruto, adicionando-se aproximadamente 2,0% de peróxido de hidrogênio em solução a 35% e 0,008% de peróxido de benzoila seco, em relação ao óleo bruto. As demais fases de operação de secagem e fluidificação dessa lecitina também são idênticas às utilizadas para a obtenção de lecitina natural e à purificada apenas uma vez (SANTOS; ZANETTI, 1981). A despigmentação da lecitina de soja realizada somente com o peróxido de benzoila não consta na literatura, sendo verificados estudos com esse agente na descoloração de farinhas.

A lecitina obtida pelo processo utilizando esses dois agentes descolorantes é denominada de lecitina de soja duplamente purificada. A adição de água oxigenada deve ser muito bem controlada, pois em excesso, provoca índice de peróxido muito elevado, limitando, dessa forma o uso da lecitina em alimentos.

Uma outra forma de purificação descrita por Allen et al (1953b) é a purificação pela dissolução da lecitina bruta em éter etílico e a secagem com sulfato de magnésio anidro ($MgSO_4$), seguida de filtração. Parte do éter é evaporado utilizando-se um rotoevaporador, reduzindo-se o volume a um terço do original. A solução é então resfriada em um banho de gelo,

purificada pela adição de carvão ativo e novamente é realizada a filtração. O solvente restante é assim completamente removido em um rotoevaporador. Tem-se que por este processo são removidas as substâncias hidrossolúveis que formam gomas, como também a fosfatidiletanolamina e o ácido fosfatídico complexados com os sais de cálcio e magnésio.

Os métodos descritos e os agentes descolorantes possibilitam, portanto, a produção de um grande conjunto, de pelo menos cinco tipos de lecitina de soja diferenciadas pelo grau de acidez, percentual de ácidos graxos, cor, viscosidade e outros parâmetros.

Quimicamente, o processo de purificação da lecitina de soja pela inserção de agentes descolorantes como o peróxido de hidrogênio e peróxido de benzoila ocasiona a peroxidação (oxidação) de todos componentes químicos que compõem a lecitina de soja comercial cuja principal característica é a geração de radicais livres e substâncias conhecidas como peróxidos.

2.9.1 Peroxidação

Diz-se que depois da deterioração microbiana, a oxidação de lipídeos que leva ao ranço é a segunda causa mais importante de modificação maléfica nos alimentos, pois geram compostos de odores e sabores desagradáveis que levam à rejeição do produto durante a comercialização. A deterioração de lipídeos pode ocorrer pelos mecanismos de auto-oxidação, termo-oxidação, foto-oxidação e também de forma enzimática. Esses mecanismos são favorecidos por vários fatores, como insaturações ou pontos reativos da molécula de triglicerídeo, temperaturas elevadas, exposição à luz e presença de metais, mas principalmente pela presença de oxigênio (REGITANO d'ARCE, 2006).

Duas formas de deterioração de óleos e gorduras que se destacam são a rancificação hidrolítica e a oxidativa. Ambas as reações modificam as estruturas dos óleos e gorduras produzindo produtos indesejáveis, cujo sabor e odor não são característicos.

A racidez hidrolítica ocorre pela ação de microorganismos ou enzimas naturalmente presentes nos alimentos, a ação do calor favorece essa degradação, além de poder promover a desidratação do glicerol formando acroleína, substância comprovadamente cancerígena. Além do calor, modificações no pH e atividade de água favorecem este processo. Já a racidez oxidativa dá-se pela ação de radicais livres que promovem a ruptura de ligações químicas entre cada átomo das moléculas formadoras das gorduras e óleos. Os radicais livres são estruturas extremamente reativas por possuírem um orbital eletrônico vazio o que o torna ávido por elétrons em busca do equilíbrio químico. Inicialmente há a formação dos peróxidos com a inclusão de uma molécula

de oxigênio, cuja reatividade elevada, promove reações seqüenciais para formar compostos mais estáveis quimicamente, sendo menos reativos os hidroperóxidos, aldeídos, cetonas e epóxidos. A temperatura e a atividade de água influenciam neste processo (ANDRADE, 2006).

Devido à lecitina de soja ser um composto lipídico, componente do grupo dos óleos e gorduras, sofre também o processo de deterioração denominado de peroxidação lipídica que é a degradação de compostos apolares, a rancificação, formando como produtos da reação os peróxidos, superóxidos e/ou hidroperóxidos pela reação em cadeia e geração de radicais livres.

Em se tratando do processo de produção de lecitina de soja comercial, que ocorre normalmente à temperaturas inferiores a 90°C e que inúmeras enzimas perdem suas atividades nessas condições, entende-se que na lecitina não haja enzimas ou se houver tenha pouquíssimas. Mas, no presente estudo, desconsiderando a possibilidade da presença de alguma enzima na lecitina de soja e focando o estudo de reações químicas envolvidas após a inserção de agentes descolorantes para promover a purificação, tem-se que a rancidez que acomete a lecitina é a oxidativa.

Assim, o termo radical livre pode ser freqüentemente usado na rancidez oxidativa para designar qualquer átomo ou molécula com existência independente, contendo um ou mais elétrons não pareados, nos orbitais externos, tornando a substância altamente reativa. Radicais livres podem ser formados pela perda de um único elétron ou pelo ganho de um elétron de uma substância não radical. Eles podem ser formados quando uma ligação covalente é quebrada e um elétron de cada um dos pares permanece em cada átomo, em um processo chamado fissão homolítica, ou seja, quebra realizada de forma homogênea entre os ligantes. Na maioria das vezes, a energia necessária para dissociar uma ligação covalente pode ser fornecida por fontes externas, como irradiação e calor. Entre as várias espécies de radicais livres estão principalmente derivadas do oxigênio e dos metais de transição (VANNUCCHI et al, 1998). As principais espécies de radicais livres derivadas do oxigênio, denominadas de EROs - Espécies Reativas de Oxigênio, foram listados na Tabela 2.15.

O oxigênio é um bom agente oxidante, entendendo-se por oxidação a perda de elétrons e por redução, o ganho de elétrons por um átomo ou molécula. O agente oxidante é a espécie que age como receptor de elétrons das moléculas que oxida enquanto que um agente redutor é um doador de elétrons (VANNUCCHI et al, 1998).

As formas mais reativas de oxigênio mostradas na Tabela 2.15, como o oxigênio *singlete*, podem ser geradas por absorção de energia, nessa condição a restrição de rotações dos elétrons em sentidos contrários é removida e a habilidade de oxidação é grandemente aumentada. Se um elétron é adicionado ao oxigênio no estado fundamental forma-se o radical superóxido

(O_2^-), já a adição de mais um elétron resultará no íon peróxido (O_2^{2-}), que por muitos não é considerado propriamente um radical (VANNUCCHI et al, 1998).

TABELA 2.15: Algumas espécies reativas de oxigênio.

Espécies Reativas de Oxigênio	
Sigla	Nomenclatura
OH	Radical Hidroxilar
O_2H	Radical Hidroperoxilar
RO	Radical Alcoxilar
ROO	Radical Peroxilar
H_2O_2	Peróxido de Hidrogênio
O_2^-	Radical Superóxido
1O_2	Oxigênio Singlet
Q	Radical Semiquinona
NO	Radical Óxido Nítrico
HOCL	Ácido Hipocloroso
ONOO ⁻	Peroxinitrito

R – radical de ácido graxo.

Fonte: adaptado de VANNUCCHI et al. (1998).

O radical superóxido é menos reativo que o radical hidroxila (OH^-) e é formado a partir da redução do oxigênio atmosférico. As reações desencadeadas pelo radical superóxido podem gerar os radicais, hidroxila e peroxil. Em meio ácido, essas espécies reativas de oxigênio rapidamente formam peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Os hidroperóxidos são os produtos mais estáveis formados durante a peroxidação de lipídios insaturados, como ácidos graxos e colesterol (ANDRADE JÚNIOR; SOUZA; SANTOS, 2005).

Os ácidos graxos esterificados com o glicerol, formando os triglicerídeos são os principais componentes da fração lipídica e a fração fosfolipídica corresponde ao glicerol esterificado com o ácido fosfórico mais dois radicais de ácidos graxos. Entre os ácidos graxos estão presentes estruturas insaturadas que são mais susceptíveis à oxidação que as saturadas (GÓMEZ; MENDONÇA JÚNIOR; MANCINI FILHO, 2003).

Os ácidos graxos poliinsaturados, ácidos graxos essenciais os quais não são produzidos pelo organismo humano e necessitam ser adquiridos via alimentação, constituem as membranas biológicas ligados aos fosfolipídeos e são alvo importante para o ataque de EROS (GÓMEZ; MENDONÇA JÚNIOR; MANCINI FILHO, 2003).

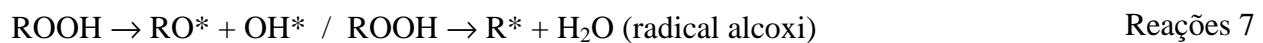
A rancidez oxidativa pode também ser denominada de rancificação auto-oxidativa e é dividida em três etapas: iniciação, propagação e terminação. Nas reações de iniciação formam-se os radicais livres a partir, normalmente, dos ácidos graxos insaturados, submetidos a condições adversas (irradiação, calor, umidade, etc), combinados com o oxigênio, produzindo peróxidos lipídicos. Nas reações de propagação, acumulam-se os peróxidos e é nessa etapa que se oxida a maioria dos ácidos graxos insaturados. Já nas reações de terminação, os radicais livres procedentes da decomposição dos peróxidos lipídicos associam-se formando compostos não-radicais de massa molecular baixa (aldeídos, cetonas, lactonas, ácidos graxos de cadeia curta, etc) responsáveis pelo odor de ranço (PEREDA, 2005).

Nas membranas celulares fosfolipídicas, como resultado da peroxidação de ácidos graxos ocorre a produção de malonaldeído em tecidos submetidos à oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados. Nessas membranas as vitaminas (tocoferois) bem como os carotenóides, fornecem átomos de hidrogênio para os radicais livres no meio, impedindo a propagação em cadeia (VANNUCCHI, et al, 1998).

Sobre a fase de iniciação da reação de auto-oxidação, há um período prévio de indução, pois as reações dessa etapa possuem elevada energia de ativação, daí a impossibilidade de iniciar de forma espontânea, sendo necessários temperaturas elevadas e iniciadores como a luz e a presença de metais bivalentes ou metaloproteínas no meio. A fase de iniciação pode ser dividida em duas sub-etapas: primária e secundária. A sub-etapa primária foi esquematizada apropriadamente por Pereda (2005) como:



Como verificado, nas reações 5 e 6 há a formação induzida de radicais alquilas e peroxilas respectivamente, que quando em elevadas concentrações iniciam as reações da sub-etapa secundária de forma monomolecular ou bimolecular da seguinte forma:



As reações 7 ocorrem de forma monomolecular e a reação 8, bimolecular. De acordo com Regitano D'Arce (2002) e Belitz e Grosh (1999), a degradação bimolecular na maioria dos casos é desconsiderada, pois até atingir o nível de hidroperóxido necessário, a oxidação como

um todo já tornou o alimento não palatável. A etapa de propagação é dominada pelas duas reações monomoleculares.

Segundo Pereda (2005), após as quatro reações acima, tem-se como resultado dois radicais livres que na etapa de propagação podem formar mais peróxidos que consomem oxigênio gasoso, ao invés de seguirem para etapa de terminação.



Reações 9

As reações 9 podem ocorrer centenas de vezes, entretanto, como o acúmulo de peróxidos é de natureza muito instável e não se decompondo, o conteúdo dos mesmos ao final da propagação vai diminuindo e como consequência a determinação realizada sobre o índice de peróxidos só constitui medida efetiva no início da oxidação dos óleos e gorduras (PEREDA, 2005).

Como resultado da decomposição dos peróxidos, etapa de terminação, obtém-se hidrocarbonetos, ácidos graxos de cadeia curta, radicais livres e compostos voláteis como aldeídos e cetonas, produtos não reativos, como verificado nas reações 10 (PEREDA, 2005).



Reações 10



Nunes (2003), de forma didática montou um quadro no qual facilmente pode-se visualizar as reações e estruturas formadas na peroxidação de hidrocarbonetos, como mostrado na Figura 2.15.

Das estruturas formadas durante a peroxidação, os peróxidos (O_2^{-2}) e hidroperóxidos (OOH^-) possuem destaque. A decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos ocorre por fissão homolítica formando radicais alcoxi, que por sua vez sofrem quebra e formam os aldeídos, cetonas, alcoóis, hidrocarbonetos, ésteres, furanos e lactonas como produtos finais da peroxidação (REGITANO d'ARCE, 2006).

DESCRÍÇÃO DA REAÇÃO	REAÇÃO
Formação de radical livre	$R-H \xrightarrow{O_2} R^*$
Formação de radical peróxido	$R^* + O_2 \longrightarrow R-O-O^*$
Formação de hidroperóxido	$R-O-O^* + R'-H \longrightarrow R-O-O-H + R''$
Transformação de hidroperóxido em radical peróxido	$ROOH + 1/2O_2 \longrightarrow ROO^* + *OH$

FIGURA 2.32: Esquema simplificado sobre as reações em cadeia de degradação dos lipídeos.
Fonte: NUNES (2003).

Os radicais alcoxi (RO^*) formam os produtos finais mais estáveis e podem ser formados por três vias distintas: ruptura homolítica dos hidroperóxidos (11), interação entre radicais peroxy (12) e ruptura homolítica de um peróxido (13). As reações das três vias são:



Entretanto, os hidroperóxidos na maioria das vezes reagem novamente com o oxigênio formando os produtos secundários da peroxidação que são: epoxihidroperóxidos, cetohidroperóxidos, dihidroperóxidos, peróxidos cílicos e endoperóxidos bicíclicos (REGITANO d'ARCE, 2002).

Os produtos formados destes hidroperóxidos diferem de acordo com a espécie que lhe deu origem, conforme mostrado na Figura 2.16.

Andrade (2006) assegura que no processo de peroxidação inicialmente forma-se o peróxido, que por ser um composto altamente reativo se converte a hidroperóxido, que por reações de degradação formam os respectivos produtos secundários e finais da oxidação. A determinação da peroxidação muitas vezes é avaliada através da análise de índice de peróxidos que fornece a quantidade de peróxidos na amostra, entretanto como os peróxidos são produtos primários tem sua quantidade decrescida ao longo do tempo, pois são degradados a hidroperóxidos.

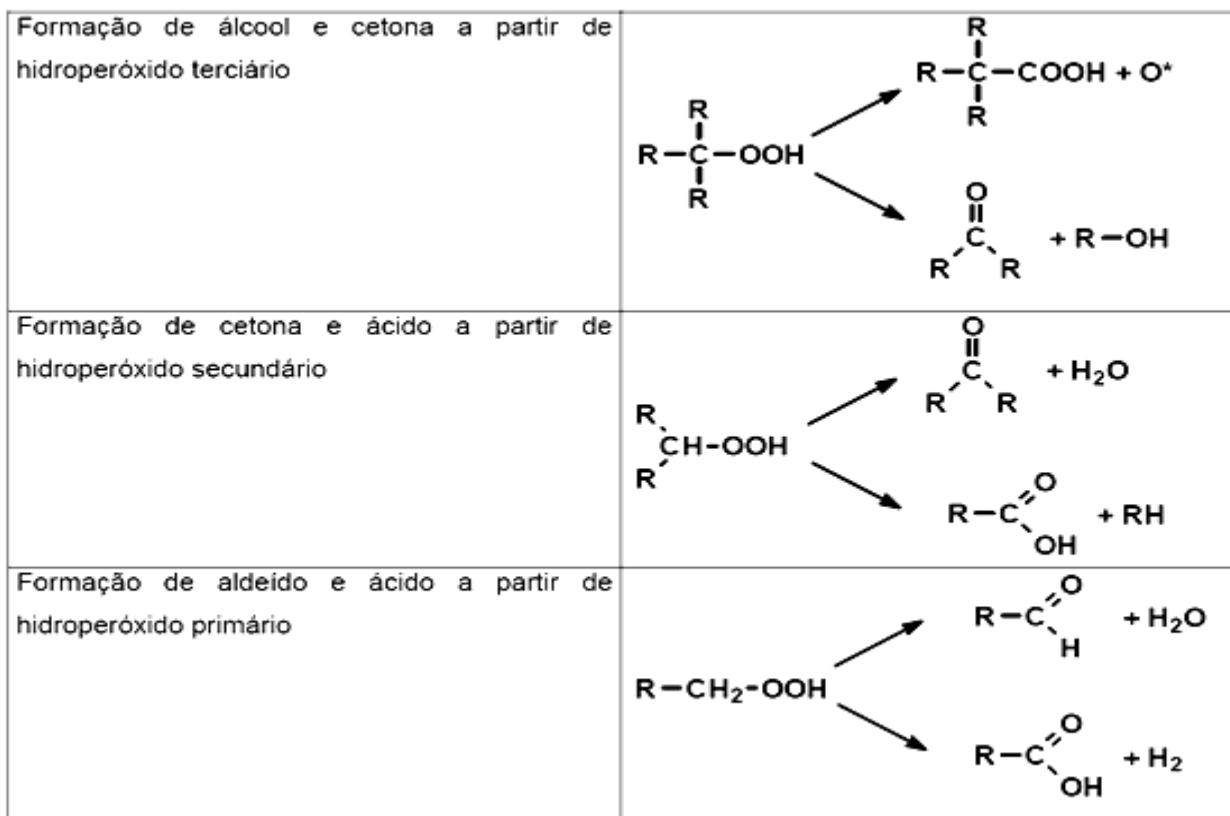


FIGURA 2.33: Estruturas formadas a partir de hidroperóxidos distintos.

Fonte: NUNES, (2003).

O acompanhamento do índice de peróxido em função do tempo pode indicar em qual estágio de oxidação está o alimento. Quando os hidroperóxidos se quebram para produzir compostos voláteis de sabor, é criado um sistema dinâmico de radicais livres e a natureza não reativa da maioria dos produtos com o iodeto na análise titulométrica pode manter o índice de peróxido constante (IAL, 2002).

Entretanto, o exame espectrofotométrico na faixa do ultravioleta pode fornecer indicações sobre a qualidade de uma substância graxa, seu estado de conservação e as modificações provocadas pelos processos tecnológicos, pois os produtos da auto-oxidação de óleos e gorduras exibem espectros característicos nessa região. Os valores de tais absorbâncias são expressos como coeficiente de extinção ou absorbância específica, ou seja, a absorvidade de uma solução de matéria graxa a 1% no solvente prescrito, em célula com passagem ótica de 1 cm (REGITANO d'ARCE, 2006).

A análise espectrofotométrica é capaz de fornecer informações da auto-oxidação dos ácidos graxos sempre em termos relativos, visto ser acompanhada da isomerização, que é absorvida em comprimentos de onda específicos na faixa do ultravioleta (232 nm para dienos conjugados e 270 nm para trienos conjugados). Também os aldeídos insaturados absorvem nessa

região. São conhecidos, em 270 nm, produtos de oxidação secundária e terciária, por exemplo, dicetonas e cetonas. Essa distinção é interessante porque permite diferenciar os estágios de evolução: quanto maior a absorção em 232 nm, maior a concentração de peróxidos. Esse é o início da oxidação (REGITANO d'ARCE, 2002).

Ao contrário, com a absorção em 268 nm mais alta, maior é a concentração de produtos secundários, hidroperóxidos. O espectro pode detectar a oxidação que ocorreu antes do refino de um óleo que venha a reduzir sua estabilidade oxidativa, embora as propriedades organolépticas ainda sejam satisfatórias (REGITANO d'ARCE, 2002).

O aumento do índice de peróxido com o tempo influí diretamente na absorção do espectro na região do ultravioleta, mas não com a mesma magnitude. Os valores de absortividade ou absorbância específica geralmente apresentam boa correlação com o aumento de índice de peróxido, substituindo-o em algumas situações.

O desenvolvimento da oxidação lipídica em sistemas alimentícios complexos, os quais contêm os macro e micronutrientes, é grandemente afetado pelas interações, tendo impacto negativo sobre a coloração, nutrientes, odor e sabor desses alimentos.

Como citado anteriormente, são várias estruturas de espécies reativas de oxigênio (EROs), dentre elas está o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e outra pouco comentada, mas também utilizada como oxidante é o peróxido de benzoíla.

Os agentes oxidantes como o peróxido de hidrogênio e peróxido de benzoíla são utilizados como bactericidas no leite, agentes branqueadores nas farinhas dos cereais, nos refinados protéicos e nos concentrados protéicos de pescados. O hipoclorito de sódio também é utilizado freqüentemente como bactericida e branqueador de farinhas. No entanto, os agentes oxidantes adicionados nos alimentos geram vários compostos oxidativos, como os radicais livres pelo processo de degradação de peroxidação do respectivo substrato modificado, como peroxidação lipídica, peroxidação de carboidratos e peroxidação protéica (FENNEMA, 2000).

A adição desses agentes nos alimentos deve ser realizada sob determinadas condições e restrições, principalmente em termos de concentração adicionada, pois em excesso de ambos geram compostos degradadáveis e inapropriados à alimentação.

2.9.2 Peróxido de Hidrogênio

O agente peróxido de hidrogênio é um líquido transparente e sem odor. É uma substância relativamente instável e se decompõe lentamente liberando oxigênio. Essa

decomposição é acelerada pela luz e pelo calor. É completamente solúvel em água e se apresenta como uma solução ácida com pH variando de acordo com a sua concentração (TRANCOSO, 2006).

Quimicamente é classificado como um peróxido, ou seja, compostos que apresentam a estrutura, (- O – O -)²⁻, chamada de íon peróxido. Normalmente, os elementos que formam peróxidos são os seguintes: hidrogênio, metais alcalinos, metais alcalino-terrosos, prata e zinco (H_2O_2 , Na_2O_2 , MgO_2 , Ag_2O_2 , ZnO_2). Apenas o H_2O_2 é molecular e todos os demais são iônicos.

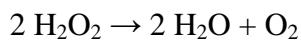
O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é considerado um dos oxidantes mais versáteis que existe, superior ao cloro, dióxido de cloro e permanganato de potássio. Através de catálise, o peróxido de hidrogênio pode ser convertido em radical hidroxila (*OH) com reatividade inferior apenas ao flúor (MATTOS, et al, 2003).

Sabe-se que o radical hidroxil (*OH) é um dos mais deletérios ao organismo humano, possui estabilidade oxidativa maior que o peróxido e não possui enzimas que catalisem sua remoção, diferentemente do peróxido de hidrogênio. Pode ser gerado principalmente por radiação ionizante e em reação com metais de transição, a partir da Reação de Fenton ou de Haber-Weiss, ou ainda pode reagir com o radical ânion superóxido e peróxido de hidrogênio. Frequentemente causa danos por quebrar as duplas ligações dos ácidos graxos poliinsaturados (BRAGATO; TENÓRIO, 2007).

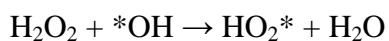
Atribui-se ao radical hidroxil, ao ânion superóxido e ao peróxido de hidrogênio, a toxicidade do oxigênio, ao reagir com biomoléculas, danificando ou inativando estruturas celulares (BRAGATO; TENÓRIO, 2007).

O peróxido de hidrogênio, quando em contato com os tecidos, se decompõe em oxigênio e água, liberando radicais livres que são substâncias instáveis e muito reativas, possuindo em sua estrutura um elétron desparelhado. Para se tornarem estáveis, eles procuram roubar elétrons de outras moléculas como os pigmentos (TRANCOSO, 2006).

O peróxido de hidrogênio em excesso no meio reacional favorece reações de auto-decomposição e de seqüestro de radical hidroxila, gerando radicais com menor poder oxidante (VILLA; SILVA; NOGUEIRA, 2007).



Reação 14



Reação 15

Como oxidante, sua aplicação abrange a oxidação seletiva e manufatura de compostos orgânicos, desde a despigmentação como, por exemplo, de polpas celulósicas na indústria de papel como no tratamento de efluentes aquosos até como agente bactericida.

2.9.3 Peróxido de Benzoíla

O peróxido de benzoíla é considerado um agente oxidante orgânico, ou seja, que contém a estrutura bivalente, $-O-O-$ (O_2^{2-}), peróxido e pode ser considerado derivado do peróxido de hidrogênio, em que um ou ambos os átomos de hidrogênio foram substituídos por radicais orgânicos, grupamentos cíclicos. A Figura 2.17 é a representação química espacial do peróxido de benzoíla.

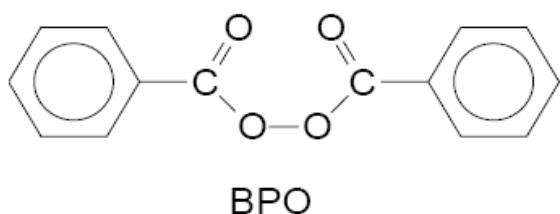


FIGURA 2.34: Estrutura química espacial do peróxido de benzoíla.

Fonte: KUNITA, 2005.

Como pode ser verificado na estrutura do agente peróxido de benzoíla, há quatro átomos de oxigênio ativos e dois anéis benzílicos com três insaturações conjugadas cada, tal estrutura torna o peróxido extremamente reativo. Se considerarmos a quantidade de oxigênio como proporcional à atividade da espécie reativa de oxigênio, pode-se dizer que o peróxido de benzoíla é mais reativo que o peróxido de hidrogênio. Entretanto, tal afirmação não é verdadeira, pois devido ao tipo de ligações estabelecidas em cada molécula e à eletronegatividade de estabilidade angular e de elétrons, o peróxido de hidrogênio reage maisativamente que o peróxido de benzoíla.

Segundo, Brasileiro, Clodette e Piló-Veloso (2001), o potencial de redução do peróxido de hidrogênio é o segundo maior ($1,78e_{\text{o},v}$) dentre as espécies reativas mais estudadas, perdendo apenas para o ozônio ($2,07e_{\text{o},v}$).

O uso de agentes branqueadores de farinha é bastante recente no Brasil, e o único branqueador previsto pela legislação brasileira é o peróxido de benzoíla. O tratamento com este aditivo é feito exclusivamente pelos moinhos de trigo, já que sua adição é feita logo após a moagem do trigo. Os agentes branqueadores atuam sobre os pigmentos carotenóides da farinha

de trigo, oxidando-os. Isto permite a obtenção de pães com miolo mais branco, que é uma característica que agrada bastante o consumidor (PAVANELLI, 2000).

A utilização do peróxido de benzoíla não é realizada apenas nas farinhas de um modo geral, mas também pode ser utilizada em requeijões, observando-se os limites máximos permitidos a serem adicionados (GALLINA, 2005).

O peróxido de benzoíla é uma substância termicamente instável em condições adversas como temperatura elevada, assim ocorre com a maioria dos peróxidos orgânicos, que podem sofrer decomposição exotérmica auto-acelerável. Além disso, podem apresentar uma ou mais das seguintes propriedades (KUNITA, 2005):

- ser sujeitos a decomposição explosiva;
- queimar rapidamente;
- ser sensíveis a choque ou atrito;
- reagir perigosamente com outras substâncias;
- causar danos aos olhos.

Peróxido de benzoíla (BPO) é um composto muito empregado nos mais diversos setores, dentre os quais na indústria farmacêutica, alimentícia e petroquímica. Na indústria alimentícia e petroquímica é utilizado como agente oxidante descolorante, já na indústria farmacêutica, além de agente descolorante é utilizado amplamente como agente anti-acnéico possuindo destaque em sua ação (KOZAN et al, 2010).

Como anti-acnéico, é um agente que possui efeito oxidante, irritante e anti-séptico capaz de provocar a queda da camada córnea da pele ou reduzir sua espessura se utilizado descomedidamente. Sua utilização controlada, no que se refere a sua eficácia contra a acne é atribuída à ação antibacteriana pela liberação de radicais livres tóxicos para os microrganismos. O peróxido de benzoíla pode possuir também atividade sebo-estática, ao reduzir e reagir com os lipídeos superficiais e ácidos graxos livres da pele durante o tratamento. Adsorve-se na pele, é metabolizado a ácido benzóico e posteriormente excretado como benzoato pela urina. Não há casos registrados de toxicidade sistêmica causada pelo fármaco. Tem ação bactericida por liberar oxigênio gradualmente, principalmente contra bactérias anaeróbias ou microaeróflicas. Supõe-se que atue também reduzindo as enzimas bacterianas, do tipo lipase, que são responsáveis pela formação de ácidos graxos livres, irritantes (BATISTUZZO, 2006).

Portanto, pela ação similar do peróxido de benzoíla com o peróxido de hidrogênio, para a despigmentação ou mais apropriadamente, para a purificação da lecitina de soja usada como emulsificante.

III – MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução do projeto da dissertação, foram adquiridas no comércio de cidade Uberlândia, amostras de lecitina de soja comercial do tipo padrão (*standard*), cujos parâmetros físico-químicos de qualidade eram conhecidos e certificados pela AOCS. As amostras adquiridas foram da marca SOLAE tipo SOLEC™ SG, cujo conteúdo líquido era de 1 kg, acondicionado em saco branco de polietileno e estampado com o rótulo verde, como mostra a Figura 3.1.



FIGURA 3.1: Imagem das amostras de lecitina de soja pura adquiridas.

Foram adquiridos 8 sacos de 1 kg da lecitina e foram utilizados no experimento cerca de 7,200 kg dessa lecitina nos experimentos e respectivos tratamentos. A lecitina utilizada trata-se de emulsificante de grau alimentício, composto por fosfolipídeos e óleo de soja. Observa-se na Figura 3.1 que a lecitina utilizada no experimento possui dados de Informações Nutricionais que são apresentadas na Tabela 3.1.

TABELA 3.1: Informação nutricional da lecitina de soja em 20 g (2colheres de sopa).

Quantidade por porção		VD (*)
Valor energético	175 kcal= 732 kJ	8%
Carboidratos	0,7 g	0%
Proteínas	0,0 g	0%
Gorduras totais	19,0 g	34%
Gorduras saturadas	4,0 g	18%
Gorduras trans	0,0 g	-
Fibra alimentar	0,0 g	0%
Sódio	4,0 mg	0%
Fosfatidilcolina	260,0 mg	47%

* % Valores Diários com base em uma dieta de 2.000 kcal ou 8.400kJ. Os valores diários podem ser maiores ou menores dependendo das necessidades energéticas de cada indivíduo.

Fonte: RÓTULO LECITINA SOLAE (1 kg)

Foi verificado na rotulagem do produto que a lecitina comercial utilizada contém grande quantidade de gorduras, que se somadas (gorduras totais) compõem 34% do produto, além do mais consta no produto, percentuais de carboidratos e sais de sódio.

A lecitina de soja comercial adquirida possui alguns parâmetros físico-químico de qualidade, regulamentados, estabelecidos e emitidos pela AOCS, como mostra a Tabela 3.2.

TABELA 3.2 - Parâmetros físico-químicos de qualidade da lecitina de soja classificada como *standard*.

Características	Lecitina Comercial
Insolúvel em acetona (%), mín.)	62,0
Umidade (%), máx.)	1,0
Insolúvel em hexano (%), máx.)	0,3
Índice de acidez (%), máx.)	30,0
Cor Gardner (%), máx.)	12,0
Viscosidade a 25°C (Poise, máx.)	300,0
Índice de Peróxido (mL, máx.)	20,0
Umidade da borra (%), máx.)	40
Oleo Arrastado na borra (%), máx.)	30

Fonte: AOCS, 2005.

Observa-se que o teor de umidade máximo para a lecitina de soja tipo *standard* ser comercializada é de 1%, deve possuir no mínimo 62% de fosfolipídeos (fosfatidilcolina,

fosfatidilinositol e fosfatidiletanolamina) e no máximo arrastar no processo de degomagem 30% de óleo, podendo posteriormente à secagem da lecitina serem adicionados ácidos graxos livres ao produto para reduzir a viscosidade e assim adequá-la quanto à classificação comercial.

Com a lecitina comercial citada, foram realizados experimentos com peróxido de hidrogênio e com peróxido de benzoíla. Para cada experimento foram realizados quatro tratamentos, ou seja, em quatro bêqueres de vidro com capacidade para 200 mL, foram adicionadas quantidades diferentes de agentes descolorantes nas proporções de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0% aos quais em seguida adicionou-se 100 g de lecitina de soja comercial pré-aquecida a 45°C. O planejamento experimental do presente trabalho pode ser visualizado na Figura 3.2.

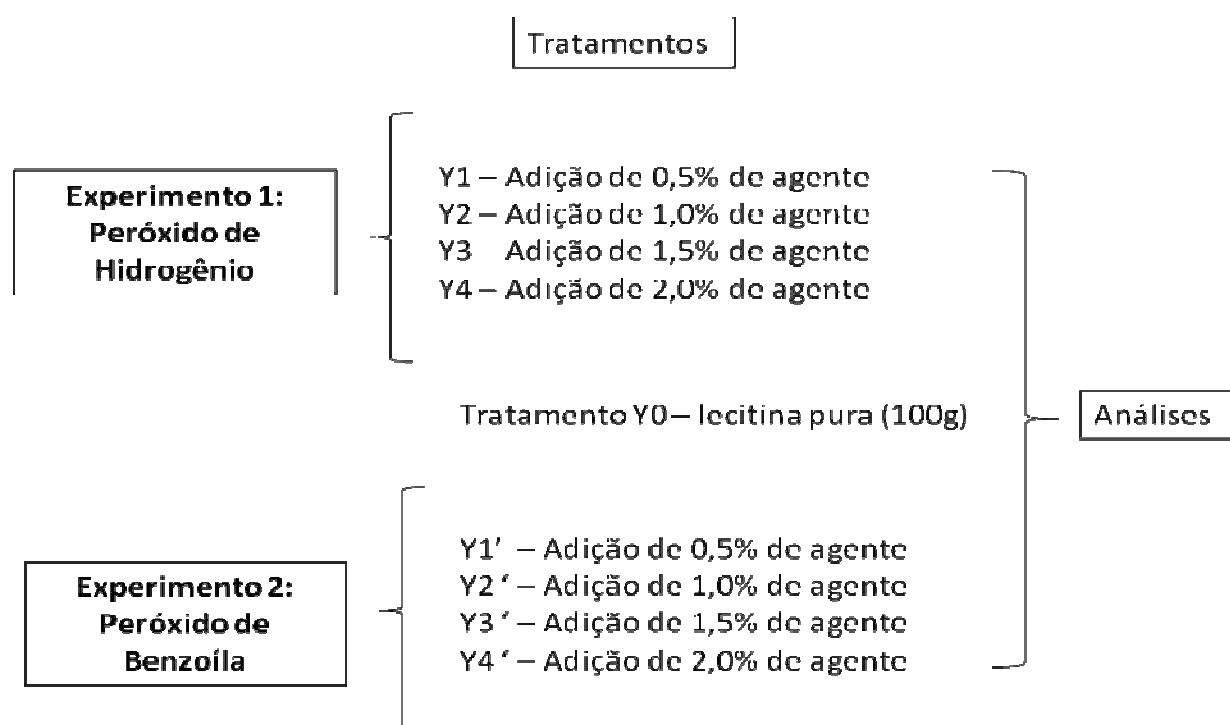


FIGURA 3.2 – Fluxograma dos experimentos

Manteve-se um tratamento branco contendo somente 100 g de lecitina de soja pura que foi denominado de tratamento Y0 para ambos os agentes descolorantes.

Anteriormente às adições dos agentes descolorantes, a lecitina de soja comercial armazenada em sua respectiva embalagem foi colocada em um suporte plástico rígido de polipropileno, aquecida em banho-maria até atingir a temperatura de 45°C±1,0°C, medidos com termômetro de escala até 100°C±1,0°C através de um pequeno orifício aberto na embalagem. Tal procedimento foi realizado para diminuir a viscosidade aparente da lecitina de soja, mas sem alterar as propriedades químicas da lecitina. A diminuição na viscosidade aparente da lecitina de

soja foi realizada para auxiliar na dispersão dos agentes descolorantes, peróxido de hidrogênio em estado líquido e o peróxido de benzoíla em estado sólido na forma de pó fino.

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) utilizado foi da marca Impex cuja, concentração de peróxidos era de 35% (v/v) na forma líquida. Já o peróxido de benzoíla utilizado foi da marca Vetec em estado sólido cuja dosagem anidra era de 65% (p/p).

O peróxido de hidrogênio foi adicionado com auxílio de pipeta de 1,00 mL em bêqueres de 200 mL e em seguida esses bêqueres foram tarados em balança analítica e adicionados de 100 g de lecitina de soja. O mesmo procedimento foi realizado para o peróxido de benzoíla, mas por ser sólido, foi pesado em 0,5 g, 1,0 g, 1,5 g e 2,0 g, respectivamente, conforme prevê os tratamentos. As concentrações de peróxidos de hidrogênio a 35% adicionadas nas proporções citadas nos tratamentos foram calculadas pela equação 05 e as concentrações de peróxido de benzoíla pela equação 06:

$$C(g) = \frac{\rho_{\text{lecitina}} * m_{\text{peróxidos}}}{100g} \quad (05)$$

$$C(g) = \frac{g_{\text{peróxido}}}{100g} \quad (06)$$

Os percentuais calculados de peróxido de hidrogênio a 35% adicionados em cada tratamento, correspondem às respectivas concentrações $7,380 \times 10^{-3}$ g/g (Y1), $1,476 \times 10^{-2}$ g/g (Y2), $2,214 \times 10^{-2}$ g/g (Y3) e $2,952 \times 10^{-2}$ g/g (Y4), considerando-se a densidade do peróxido igual a 1,476 g/mL, apresentada no rótulo do produto utilizado. Para o peróxido de benzoíla anidro 65% as concentrações calculadas em cada tratamento foram $5,000 \times 10^{-3}$ g/g (Y1'), $1,000 \times 10^{-2}$ g/g (Y2'), $1,500 \times 10^{-2}$ g/g (Y3') e $2,000 \times 10^{-2}$ g/g (Y4').

As dispersões dos agentes descolorantes foram realizadas com auxílio de agitador elétrico da marca Biomatic modelo 1006, com hélice simples e cilíndrica sendo mantida a rotação em 900rpm variando em ± 100 rpm, aferida com o aparelho tacômetro, marca Shimpco modelo DT-205B. O tempo de mistura foi de 2 minutos para cada tratamento, controlado com cronômetro simples de pulso. Antes de se realizar as análises físico-químicas, verificou-se a temperatura de cada tratamento, ficando essa próxima à ambiente, $28^\circ C \pm 2^\circ C$.

As lecitanas adquiridas foram tratadas com agentes descolorantes e analisadas no Laboratório de Físico-química do Instituto Federal de Educação do Triângulo Mineiro (IFTM), campus Uberlândia. Foram analisados os teores de umidade, índice de saponificação e clorofilas, após elaboração dos tratamentos com os agentes descolorantes. Também foram analisados os resultados dos experimentos no Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia – UFU, departamento de Engenharia Química, as substâncias primárias e

secundárias formadas durante a reação de peroxidação, carotenóides e substâncias marrons presentes nos tratamentos.

Para a realização das análises físico-químicas em ambos os laboratórios, foram usadas vidrarias, equipamentos e utensílios pertinentes a cada um dos métodos selecionados para o estudo da purificação da lecitina de soja em termos de redução de sua coloração natural.

A escolha sobre quais análises deveriam ser realizadas para compreender a despigmentação da lecitina de soja, foi relacionada às características químicas e de composição do produto. Relacionando-se os componentes arrastados na etapa de degomagem que interferem na coloração da mesma (carotenóides, substâncias marrons e clorofilados) e os componentes químicos gerados na reação de peroxidação pela adição de peróxidos de hidrogênio e benzoíla, como peróxidos, hidroperóxidos, ácidos graxos livres e água sobre a coloração típica da lecitina.

Para a execução das análises físico-químicas de determinação de estruturas formadas durante a reação de peroxidação (extinção específica por absorção), substâncias marrons e carotenóides, foi necessário utilizar um solvente adequado, que melhor solubilizasse a lecitina de soja pura (Y_0). Portanto, houve a necessidade de se verificar qual entre os solventes de característica predominantemente apolar, melhor dispersaria e diluiria a lecitina, o que foi feito por meio da realização dos Testes Preliminares.

Vários autores, para extração de substâncias oleaginosas, cuja característica química é a apolaridade das moléculas, citam o hexano como o solvente mais utilizado e adequado para solubilizar óleos, principalmente de soja, entretanto, foi necessário verificar a solubilização específica do produto lecitina de soja. A lecitina é excelente emulsificante, possui natureza hidrofóbica (apolar) predominante e características hidrofílicas (polar) formando micelas quando dispersa a depender do meio.

Os resultados de cada análise físico-química foram comparados entre os agentes descolorantes, peróxido de hidrogênio e peróxido de benzoíla, e discutidos para se verificar qual dentre os peróxidos despigmentou efetivamente a lecitina de soja comercial.

3.1 Teste Preliminar

Procedeu-se à execução de teste preliminar para selecionar o solvente a ser utilizado na determinação de substâncias marrons, carotenóides e estruturas primárias e secundárias formadas durante a peroxidação. A solubilidade da lecitina de soja foi testada com 10 diferentes solventes: acetona, benzeno, ciclohexano, clorofórmio, hexano, metanol, octanol, pentanol, propanol e

tolueno. Os Testes Preliminares foram realizados no laboratório de físico-química do Instituto Federal do Triângulo Mineiro, campus Uberlândia.

A metodologia modificada refere-se à determinação de Umidade a 105°C descrita pelo Instituto Adolf Lutz (2002). A adaptação no método oficial consistiu na utilização filtros de papel secos em estufa a 105°C (três para cada solvente, triplicata) por 1 hora e mais 30 minutos em dessecador de vidro com sílica gel, com massa quantificada e identificados, em detrimento às cápsulas de porcelanas originalmente utilizados na metodologia.

Os filtros de papel com as massas quanificadas e identificados após tempo de estufa e dessecção foram inseridos em funis de vidro suportados em erlermeyers de 500 mL nas condições ambientes (pressão a 1atm, temperatura de 28°C), como mostra a Figura 3.3.



FIGURA 3.3: Etapa de filtração do Teste preliminar.

As amostras de lecitina de soja comercial foram diluídas na proporção de 1+2 ou 1:3, ou seja, uma parte de soluto para o dobro da quantidade de solvente orgânico, para cada um dos dez tipos de solventes testados: acetona, benzeno, ciclohexano, clorofórmio, hexano, metanol, octanol, pentanol, propanol e tolueno.

Quantificou-se a massa final dos filtros de papel, após a filtração dos conteúdos líquidos por duas horas e secagem desses em estufa a 105°C por uma hora. Em intervalos de 30 em 30 minutos, após a uma hora, as massas foram aferidas até obtenção de massa constante. O resíduo do filtro foi convenientemente denominado de insolúveis seguido do respectivo nome do solvente.

Procurou-se como resultado do teste, o solvente que solubilizasse ao máximo possível a lecitina de soja, deixando a menor massa residual retida (insolúveis) nos filtros de papel considerando-se o caráter oleaginoso da lecitina de soja (lipossolúvel) de característica apolar predominante.

3.2 Análises físico-químicas dos Tratamentos

Após a realização dos Testes Preliminares e determinação do solvente apropriado para solubilizar a lecitina de soja para quantificação de substâncias marrons, estruturas primárias e secundárias da reação de peroxidação e carotenóides, procedeu-se à realização dos experimentos e execução das análises com as metodologias específicas e demais análises pertinentes para quantificar as alterações nos componentes da lecitina. As metodologias utilizadas em cada análise físico-química estão resumidamente descritas na Tabela 3.3.

TABELA 3.3: Resumo descritivo das análises físico-químicas.

Análises físico-químicas dos experimentos nos tratamentos: Y1, Y2, Y3, Y4 (Peróxido de Hidrogênio), Y1', Y2', Y3', Y4' (Peróxido de Benzoíla) e Y0 (lecitina pura)

Teor de Umidade	Método convencional em estufa a 105°C segundo metodologia descrita pelo Instituto Adolf Lutz (2002).
Índice de Saponificação	Método titulométrico denominado de índice de Koettstorfer segundo metodologia descrita pelo Instituto Adolf Lutz (2002).
Estabilidade Oxidativa	Extinção Específica - Método espectrofotométrico descrito pelo Instituto Adolf Lutz (2008).
Teores de Compostos Clorofilados	Método espectrofotométrico descrito na metodologia utilizada por Engel e Poggiani (1991).
Teores de Subst. Marrons e Carotenóides	Método espectrofotométrico descrito por Lezerovich (1985).
Coloração e Despigmentação	Método Qualitativo de Comparativo Visual

3.2.1 Umidade – Secagem direta em estufa a 105°C (IAL, 012/IV, 2002).

A umidade corresponde à perda em massa do produto quando aquecido em condições nas quais a água é removida. Na realidade, não é somente a água removida, mas podem ser outras substâncias que se volatilizam em estufa mantida a 105°C. O resíduo obtido no aquecimento direto é chamado de resíduo seco. O aquecimento direto da amostra a 105°C é o processo mais usual (IAL, 2002).

E, para a execução da metodologia no laboratório de físico-química do IFTM, foram usadas a estufa a 105°C, estabilizada a essa temperatura por meia hora antes de sua utilização; balança de precisão com resolução de 0,1 mg; dessecador de vidro com sílica gel; cápsulas de porcelanas e pinça.

Utilizando a balança, quantificou-se as massas das cápsulas de porcelana previamente aquecidas a 105°C em estufa e determinou-se as massas de lecitina de soja, que variaram em torno de 5 g de amostra de cada tratamento nas cápsulas de porcelanas previamente taradas e codificadas. Essas foram levadas à estufa e aquecidas por três horas a 105°C constante, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e determinadas as massas. Determinou-se as massas finais repetindo a operação de aquecimento, de uma em uma hora e resfriamento até massa constante em cada tratamento ou em cada cápsula.

A massa final e o teor de umidade determinado nos tratamentos foram obtidos pela Equação 07:

$$(100 \times N) / P = \% \text{ umidade (m/m)} \quad (07)$$

Na qual N refere-se à massa de umidade (g) perdida em cada cápsula de cada tratamento e P é o número em gramas da massa no início do procedimento de determinação da umidade.

Tal procedimento foi realizado em triplicata para se determinar o teor de umidade (percentual) em cada tratamento no instante em que eram realizados os tratamentos com os agentes descolorantes, pelo mesmo procedimento de adição dos agentes descolorantes.

3.2.2 Índice de Saponificação (IAL, 328/IV, 2002).

O índice de saponificação é a quantidade de álcali necessário para saponificar uma quantidade definida de amostra e expressa o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para saponificar um grama de amostra (IAL, 2002).

Para a execução dessa metodologia no laboratório de físico-química do IFTM, foram utilizadas as amostras de cada tratamento, aproximadamente 5 g, obtidas após secagem em estufa a 105°C, pois o método consiste em utilizar de 4 a 5 g de amostra sem impurezas e sem traços de umidade.

Cada uma dessas massas foi transferida para erlenmeyers identificados e com massas determinadas e a esse foram adicionados 50 mL de solução alcoólica de KOH (hidróxido de potássio) a 4% (g/mL). Em seguida levou-se esses frascos para uma chapa aquecida até que os conteúdos fervessem, acoplados a condensadores por uma hora, ou seja, sistema com refluxo de água.

Desconectados dos condensadores e após resfriamento completo dos frascos, foi adicionado 1,0 mL de fenolftaleína (indicador) a 0,1N e titulados com solução de ácido clorídrico a 0,5N (mol/L) padronizado, até a completa viragem, ou seja, o desaparecimento da coloração rósea da solução.

Foi preparado um frasco de erlenmeyer denominado branco por não conter amostra de lecitina de soja, sendo utilizado no cálculo de determinação do índice de saponificação. Foi também determinado do fator de correção da solução de ácido clorídrico 0,5N (mol/L), solução padronizada.

A determinação dos índices de saponificação em cada tratamento foi realizada através da seguinte equação:

$$[26,05 \times f \times (B - A)] / P = \text{índice de saponificação (mg)} \quad (08)$$

Na qual, A refere-se ao volume gasto de ácido clorídrico na titulação de cada tratamento, B é o volume de ácido clorídrico gasto na titulação do branco, f é o fator de correção da solução de ácido clorídrico. P refere-se às massas sem impurezas e livres de umidade das amostras de lecitina de soja.

Tal procedimento foi realizado em triplicata para se determinar o índice de saponificação (ácidos graxos livres) em cada tratamento no momento em que eram realizados os tratamentos, pelo mesmo procedimento de adição dos agentes descolorantes.

3.2.3 Estabilidade Oxidativa - Extinção Específica por absorção na região do ultravioleta (IAL, 343/IV, 2002).

Segundo Oetterer, Regitano d'Arce e Spoto (2006), a determinação do índice de peróxido é o procedimento mais utilizado para determinar o grau de oxidação. Embora a teoria

da oxidação de gorduras e óleos postule que os compostos iniciais sejam hidroperóxidos, normalmente são denominados de peróxidos, cujos teores podem ser determinados quantitativamente pela titulação com iodeto de potássio em meio de ácido acético glacial.

O índice de peróxido, segundo os métodos oficiais da AOCS e IUPAC é a medida do teor de oxigênio reativo expresso em termos de miliequivalentes de oxigênio por 1000 gramas de matéria graxa ou como milímoles de peróxido por quilo de matéria graxa, 1 milimol = 2 miliequivalentes (OETTERER; REGITANO D`ARCE; SPOTO, 2006).

O método de Extinção Específica é normalmente utilizado para o exame espectrofotométrico de azeite de oliva e outros óleos e gorduras na região do ultravioleta. A absorção em 232 e 270 nm, comprimentos de onda especificados no método, correspondem à presença de dienos e trienos conjugados, respectivamente, a serem identificados nas amostras. Estes compostos são formados através dos mecanismos oxidativos e/ou decorrentes do refino de óleos (IAL, 2002).

A análise espectrofotométrica é capaz de fornecer informações sempre em termos relativos, da auto-oxidação dos ácidos graxos e aldeídos insaturados, visto ser acompanhada da isomerização que é analisada em comprimentos de onda específicos na faixa do ultravioleta (232 nm para dienos conjugados e 270 nm para trienos conjugados: dicetonas e cetonas). Essa distinção é interessante porque permite diferenciar os estágios de evolução da peroxidação: quanto maior a absorção em 232 nm, maior a concentração de compostos primários, que é o início da oxidação. Do contrário, com a absorção em 268 nm, mais alta, maior é a concentração de produtos secundários no final da oxidação (OETTERER; REGITANO D`ARCE; SPOTO, 2006).

Estas absorções podem ser expressas levando-se em consideração as extinções molares específicas de cada produto, ou seja, absorbância de uma solução a 1% do produto no solvente apropriado, numa espessura de 1 cm, convencionalmente indicadas por $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ (IAL, 2002).

Esse método apresenta vantagens como exigir amostras menores e ser mais preciso e mais simples que o procedimento analítico para o índice de peróxido (OETTERER; REGITANO D`ARCE; SPOTO, 2006). Neste método, 1,0 g de cada uma das amostras foi diluída (1:20) em hexano e a extinção da solução (absorbância) foi determinada nos comprimentos de onda especificados (232 nm e 270 nm), usando como referência o solvente puro. A análise da absorbância foi realizada no laboratório de bioquímica da UFU no aparelho UV-VIS Spectrophotometer Shimadzu modelo UV mini 1240 em cubeta de 1 cm e os comprimentos de onda ajustados com hexano (branco).

A modificação na metodologia descrita pelo Instituto Adolf Lutz (2008) referiu-se ao que foi descrito por Oetterer, Regitano d'Arce e Spoto (2006), sobre a medição da absorbância da amostra em comprimentos de onda específicos. Dessa forma não foram utilizadas a alumina e o padrão da mesma, bem como as equações que constam no método do Instituto Adolf Lutz (2002), mas apenas a verificação das substâncias primárias e secundárias geradas na peroxidação em termos de absorvividade específica, como realizado por Carvalho (2007).

Tal procedimento foi realizado em triplicata para se determinar a absorvividade específica em cada tratamento no instante em que eram elaborados os tratamentos, pelo mesmo procedimento de adição dos agentes descolorantes.

3.2.4 Compostos Clorofilados - Metodologia utilizada por Engel e Poggiani (1991).

Este método foi utilizado por Engel e Poggiani em 1991, para determinar a concentração de clorofila contida em alfaces e verificar as alterações espectrais da clorofila modificando as condições de plantio da cultivar. Desde então vem sendo utilizada na quantificação de compostos clorofilados de produtos agrícolas.

A quantificação dos componentes clorofilados da lecitina de soja foi realizada no laboratório de físico-química do IFTM. Efetuou-se a dissolução de aproximadamente 2 g de amostra para cada tratamento em 10 mL de acetona 80% (v/v). Cada alíquota diluída foi submetida à leitura da absorbância em espectrofotômetro HACH LANGE 55, modelo DR 2800 em cubeta de 2 cm e leituras nos comprimentos de onda 645, 652 e 663 nm. As absorbâncias obtidas foram ajustadas através de cálculo simples para um caminho óptico de 1 cm como determina a metodologia.

Os teores de clorofila a, clorofila b e clorofila total (mg/g) foram determinados utilizando-se as Equações 2, 3 e 4 respectivamente, descritas anteriormente no capítulo 2 subtópico 2.6.1 deste trabalho e estudadas por Engel e Poggiani em 1991. Nas equações, o parâmetro A é a absorbância específica em cada comprimento de onda para cada tratamento e m é a massa de cada tratamento.

Tal procedimento foi realizado em triplicata para se determinar o teor de compostos clorofilados em cada tratamento no momento em que eram elaborados os tratamentos, pelo mesmo procedimento de adição dos agentes descolorantes.

3.2.5 Teor de Substâncias Marrons e Carotenóides - Método desenvolvido por Leverovich (1985)

Atualmente, determinam-se e especificam-se com exatidão cromatográfica os pigmentos constituintes da lecitina de soja. Entretanto, o último método oficial realizado de forma mais simples foi o de Lezerovich (1985) que estudou espectrofotometricamente os pigmentos da lecitina de soja e determinou os comprimentos de onda específicos para cada pigmento. Distinguiu os pigmentos coloríferos em: substâncias marrons, clorofilados (esverdeados) e carotenóides (avermelhados), pois a mistura desses fornece a coloração típica da lecitina, âmbar escuro.

Para a determinação de carotenóides realizou-se a diluição (1:20) de 1 g de cada amostra do tratamento (Y1, Y2, Y3, Y4, Y1', Y2', Y3', Y4' e Y0) em 19 mL de hexano, solvente devidamente selecionado, seguida da análise espectrofotométrica no laboratório de bioquímica da UFU em espectrofotômetro UV-VIS Spectrophotometer Shimadzu modelo UV mini 1240 em cubeta de 1 cm e os comprimentos de onda ajustados com hexano (branco).

No mesmo laboratório e equipamentos, procedeu-se a análise de substâncias marrons na diluição de 1:20 com hexano e com leitura ajustada a 365 nm e 456 nm. A concentração dessas substâncias marrons (mg/g) e carotenóides (ppm) foram obtidas respectivamente pelas Equações 09 e 10.

$$Subst.M. = \{(6,5 \times A_{365} - A_{456}) / 6,36 \times C_i\} / 1000 \quad (09)$$

$$A_{448} = -(103800 \times C_f + 34) / C_i \quad (10)$$

A quantificação de carotenóides (concentração em ppm) foi calculada pela Equação 16, na qual C_f é a concentração mássica final, C_i é a concentração mássica inicial da amostra de cada tratamento e A é a absorbância determinada espectrofotometricamente com o comprimento de onda fixo a 448 nm. As análises foram realizadas no mesmo laboratório e equipamentos utilizados para determinação de substâncias marrons. Assim como na Equação 16, na Equação 15, C_i corresponde à concentração de soluto inicial em amostra de cada tratamento.

Tal procedimento foi realizado em triplicata para se determinar os teores de substâncias marrons e carotenóides em cada tratamento no momento em que eram elaborados os tratamentos, pelo mesmo procedimento de adição dos agentes descolorantes.

3.2.6 Coloração – Método Empírico de Comparaçāo Qualitativa Visual

Visualmente, por simples comparação dos tratamentos foi possível verificar se houve a clarificação ou purificação da lecitina de soja através de adição dos agentes descolorantes sob determinadas concentrações e observar as diferenças nas intensidades de coloração entre os tratamentos.

De acordo com Bender (s.d.), o termo clarificação refere-se ao processo de clareamento de um líquido com partículas suspensas, podendo ser realizado através de processos físicos e/ou adição de enzimas e agentes floculantes. Já o termo purificação, refere-se à remoção de impurezas do produto por processo químico.

IV – RESULTADOS E DISCUSSÕES

A pesquisa sobre a despigmentação da lecitina de soja no que diz respeito à redução de coloração deteve-se até então, no levantamento teórico do processo de obtenção do produto lecitina de soja comercial tipo *standard*, através do processo de degomagem, das funções químicas e físicas sobre o aspecto de sua utilização como emulsificante e principalmente sobre as espécies químicas que compõem a lecitina comercial utilizada na pesquisa.

Assim, neste capítulo procurou-se relatar os resultados de análises físico-químicas realizadas para cada tratamento, em triplicata, com relação às concentrações de agentes descolorantes adicionados e ao tipo de agente, bem como a execução de análise estatística adequada. Adicionalmente, tem-se a discussão dos resultados obtidos e comparados com os dados existentes na literatura sobre a lecitina ou quando não encontrados, relacionados com afirmações investigadas em assuntos correlatos.

Após o tratamento da lecitina de soja com os agentes descolorantes foram realizadas análises físico-químicas para a qualificação ou quantificações das alterações ocorridas em cada tratamento. Metodologicamente considerou-se a adição dos agentes descolorantes à determinadas concentrações e à busca por metodologias que avaliassem as estruturas químicas que compõem a lecitina com relação às modificações avaliadas de forma quantitativa e também de forma qualitativa. As análises físico-químicas realizadas, umidade, saponificação e estabilidade oxidativa, que tiveram como objetivo verificar a reação de peroxidação em si (quantificação da ação dos agentes descolorantes) e relacionadas à qualidade final do produto. As análises de compostos clorofilados, carotenóides e substâncias marrons foram realizadas para a verificação da qualidade da despigmentação e quantificação da peroxidação desses componentes.

4.1 Teste Preliminar

A estrutura molecular do solvente determina a sua característica polar, apolar ou hidrogeniônica, podendo-se definir a característica de solubilidade do soluto uma vez que conhecidos os parâmetros sobre a molecularidade do solvente.

De acordo com Brum, Arruda e Regitano-d'Arce (2009), existem lipídios neutros que são ligados covalentemente e podem ser extraídos dos tecidos, vegetais ou animais, por solventes apolares, enquanto que há lipídios polares, os quais são ligados por forças eletrostáticas e pontes de hidrogênio que requerem solventes polares capazes de quebrar tais ligações e liberá-los. Salientam também, que o solvente *n*-hexano é estritamente apolar e não tem a mesma eficiência para extrair os lipídios ligados (polares) como outros solventes de maior polaridade.

As características moleculares dos solventes universalmente utilizados foram estudadas e a esses foram atribuídos parâmetros de solubilidade como pode ser verificado na Tabela 2.14. Alguns solventes, inclusive seus respectivos valores relacionados às forças químicas moleculares foram elucidadas por Hansen (ARCHER, 1996).

Para se proceder aos ensaios experimentais de despigmentação da lecitina de soja, principalmente para execução das análises de substâncias marrons, carotenóides e de estruturas primárias e secundárias formadas na peroxidação, primeiramente foi necessário o conhecimento e pesquisa do solvente que melhor solubilizaria a lecitina de soja. Para tanto, levantou-se entre vários solventes os que apresentaram valores numéricos de Hansen elevados para a característica apolar independente dos demais parâmetros. Para verificar qual dos solventes listados na Tabela 2.14 seria o mais indicado para solubilizar a lecitina de soja, realizou-se um estudo realizando-se a metodologia modificada descrita pelo Instituto Adolf Lutz (2002) sobre a análise do teor de umidade a 105°C que se restringiu à simples filtração e diferença de massas dos filtros de papel antes e após a filtração da lecitina diluída de uma parte do produto para duas partes do solvente (p/p).

Sobre as massas retidas, entendeu-se referir aos constituintes polares da lecitina de soja que não foram solubilizados pelos solventes, adequadamente denominadas de insolúveis. Na Tabela 4.1 têm-se os resultados médios das massas de insolúveis retidas nos filtros de papel posteriormente à filtração da lecitina de soja diluída 1+2 por cada solvente, bem como os respectivos desvios padrões. Tem-se também os valores percentuais correspondentes a cada retenção mássica nos filtros.

TABELA 4.1: Massas médias (polares) obtidas e os desvios padrões médios após filtragem da lecitina de soja diluída nos respectivos solventes.

Solvente	Massa de Insolúveis (g)	Percentual de Insolúveis (%)
Acetona ($\text{CH}_3)_2\text{CO}$	4,4124±1,44	74,56
Benzeno (C_6H_6)	2,2927±0,75	60,63
Ciclohexano (C_6H_{12})	1,6553±0,64	51,80
Clorofórmio (CHCl_3)	1,3280±0,59	47,32
Hexano (C_6H_{14})	1,0229±0,69	40,71
Metanol (CH_3OH)	4,2558±1,53	73,43
Octanol (C_8H_{18})	1,4357±0,60	49,21
Pentanol ($\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$	3,1779±1,01	68,26
Propanol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$)	4,9012±1,62	76,46
Tolueno (C_7H_8)	0,9610±0,62	38,62

Verifica-se na Tabela 4.1 que o tolueno apresentou-se como o melhor diluente para a lecitina de soja da marca SOLAE tipo padrão (*standard*) denominada comercialmente por SOLEC™ SG, pois apresentou a menor média de massa retida nos filtros de papel. O segundo melhor solvente para a lecitina diluída foi o hexano. Tal resultado pode ser melhor visualizado na Figura 4.1.

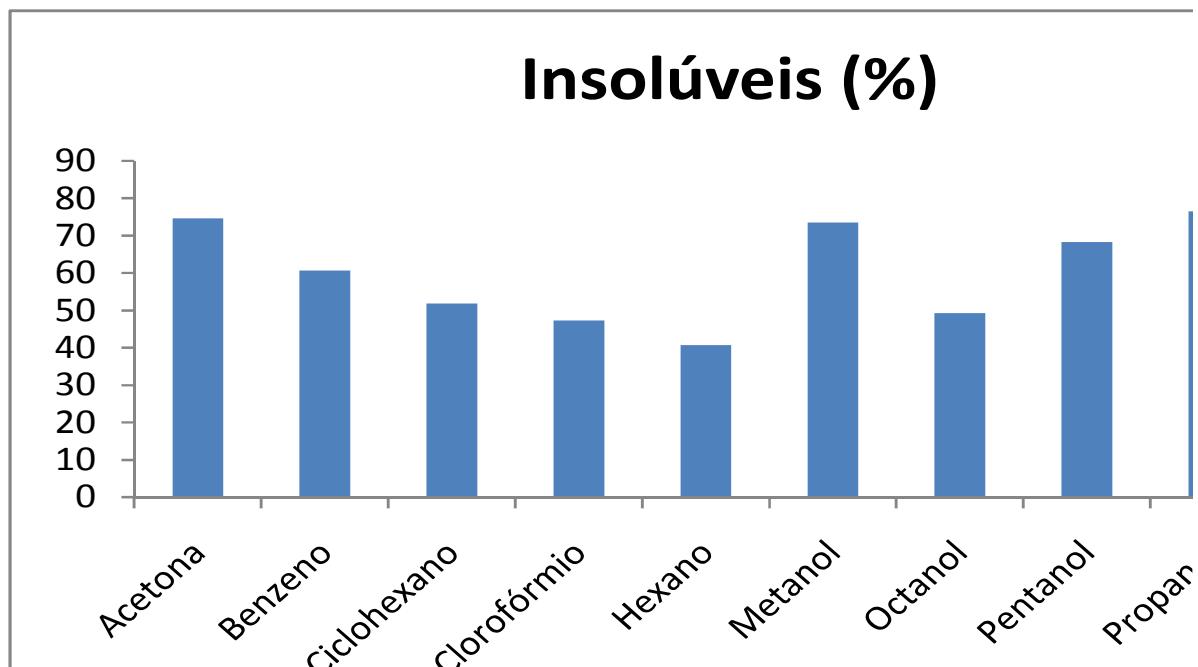


FIGURA 4.1 – Gráfico de resultados percentuais de massa de lecitina de soja retida por cada solvente.

Não era esperado que o tolueno tivesse menor teor de insolúveis, pois de acordo com os parâmetros de solubilidade o hexano era o único 100% apolar, assim esperava-se que esse tivesse o melhor resultado, visto o caráter predominantemente apolar da lecitina de soja. Observa-se também na Tabela 4.1 que para valores de massas elevadas retidas nos filtros, obteve-se elevados valores de desvios padrão.

Deste resultado, infere-se que na composição da lecitina de soja comercial utilizada há componentes polares que foram solubilizados pela força química molecular (δ_p) do tolueno. Tais componentes são provenientes do processo de degomagem durante a extração dos fosfolipídeos com a água e supõem-se que haja a hidratação de outras substâncias hidrossolúveis tais como açúcares e proteínas. Verifica-se no rótulo do produto utilizado (Figura 3.1 e Tabela 3.1) que há aproximadamente 35 g de carboidratos por quilo de lecitina compondo-o e não constando qualquer conteúdo de proteínas, portanto esse percentual de carboidratos no produto pode ter influenciado no resultado obtido, pois os carboidratos são essencialmente hidrossolúveis.

Apesar do tolueno se apresentar como o melhor solvente para solubilizar a lecitina de soja utilizada no experimento, optou-se em utilizar o hexano, que forneceu o segundo melhor resultado, segunda menor massa retida no filtro, ou seja, segundo menor índice de insolúveis, pois industrialmente sua utilização seria facilitada, uma vez que é utilizado para extrair o óleo bruto da massa celular dos grãos oleaginosos, sendo na fábrica recuperado após o uso. Então, não haveria a necessidade de aquisição de outro solvente e montagem de outra estrutura de segurança para armazenamento.

Outro fato que contribui para a escolha do hexano como solvente apropriado para a lecitina de soja em relação ao tolueno, foi publicado por Hackbart (2007), trabalho no qual consta os custos aproximados e os pontos de ebulação de cada solvente, como mostra a Tabela 4.2.

Como pode ser verificado na Tabela 4.2, o custo aproximado do hexano é bem inferior ao do tolueno, assim como seu ponto de ebulação, demandando menor energia necessária para ser recuperado na plataforma de recuperação do solvente, após ser utilizado na etapa de extração dos solúveis.

Trabalhos sobre a solubilização e extração da lecitina de soja são extremamente escassos, mas sobre o rendimento de óleos ou lipídeos totais são inúmeras.

TABELA 4.2: Custo e Ponto de Ebulação dos Solventes

Solvente	Custo Aproximado (R\$)	Ponto de Ebulação (°C)*
Acetano de n-amila	1000,00 (importado)	147,55
Tolueno	13,00	110,65
Éter di-isso-propílico	150,00	68,25
Ciclohexano	17,00	80,75
n-hexano	10,00	68,75
Metil iso butil cetona	18,00	115,85

* the merck índex (1983).

Fonte: HACKBART, 2007.

Sousa (2002) verificou experimentalmente o rendimento percentual sobre o poder de extração do óleo de soja no que se refere aos solventes hexano, metil-etil-cetona e éter de petróleo e, conclui que a combinação metil-etil-cetona teve maior poder extrator, ficando o hexano como segundo solvente mais adequado para extrair o óleo de soja bruto. Entretanto, Manzke et al (2008) realizou um estudo comparativo sobre o rendimento de extração de óleo de diferentes fontes tratados com éter de petróleo e hexano, e não verificou diferença significativa entre os solventes.

Em estudo realizado por Brum, Arruda e Regitano-d'Arce (2009) para listar a eficiência das metodologias do Instituto Adolf Lutz (2002) sobre a extração de lipídeos, verificaram a dependência do método com relação à matriz do alimento ao testarem as extrações nos produtos, aveia em flocos (matéria-prima de origem vegetal, rica em ácidos graxos insaturados) e peito de frango (matéria-prima de origem animal, rica em ácidos graxos saturados). Verificaram que o hexano, solvente apolar, extrai com menor eficiência os lipídios da aveia em flocos, já o solvente clorofórmio e metanol são mais polares que *n*-hexano e isopropanol e, dessa forma, há uma extração eficiente de lipídios provenientes da aveia em flocos.

Mas, outro fator que coloca o hexano como o solvente selecionado nesse trabalho, é ser utilizado como diluente para análise físico-química de insolúveis em hexano, análise esta regulamentada pela AOCS (AOCS-Ca-3-46) como parâmetro de qualidade físico-química que define o tipo de lecitina de soja como *Standard* (padrão) ou *Premium*, além do fator de viscosidade e outros. Este valor de insolúveis em hexano expresso, ora em miliequivalentes, ora em percentual determina a quantidade aproximada de hidrossolúveis (componentes polares) presente na lecitina de soja, uma vez que todos os fosfatídeos da lecitina são apolares. Outra análise oficial da AOCS que determina a quantidade de fosfatídeos na lecitina é a de insolúveis em acetona (AOCS-Ja-4-46), ou seja, pela característica desse solvente, dissolve-se a parte polar e insolubiliza-se a parte apolar do produto que são os fosfolipídeos. Tais afirmações podem ser

visualizadas na Tabela 2.6, que se refere aos parâmetros e padrões físico-químicos estabelecidos pelos órgãos competentes para utilização da lecitina na alimentação.

Vale ressaltar que a intenção de selecionar o melhor solvente para a lecitina de soja foi estritamente para a realização das análises físico-químicas de substâncias marrons, carotenóides e determinação do índice de peróxidos através de análises espectrofotométricas. Todos os solventes testados possuíam característica predominantemente apolar, entretanto o hexano como solvente 100% apolar garante com maior segurança a solubilidade de todas as substâncias apolares componentes da lecitina de soja (carotenóides, clorofilas, fosfatídeos e ácidos graxos livres).

4.2 Análises físico-químicas dos experimentos e tratamentos

Para verificar a eficiência dos tratamentos de despigmentação da lecitina de soja foram analisados os teores de umidade, índice de saponificação, estruturas primárias e secundárias da reação de peroxidação, compostos clorofilados totais, clorofila “a”, clorofila ”b”, substâncias marrons e carotenóides. Estas análises também foram utilizadas para descrever os comportamentos de cada agente descolorante em termos de reação de peroxidação. Todos os parâmetros obtidos nas análises referem-se à média dos resultados.

4.2.1 Teor de Umidade

O teor de umidade, em cada tratamento, foi realizado em triplicata e segundo a metodologia descrita pelo Instituto Adolf Lutz (2002) em estufa a 105°C, subtópico 3.2.1.

A análise experimental de teor de umidade realizada no tratamento Y0 referiu-se à umidade da lecitina pura, não adicionada de agentes descolorantes. O teor de umidade médio no tratamento Y0 foi igual a 0,1833%, ou seja, $1,833 \times 10^{-3}$ g/g e o desvio padrão foi de $\pm 0,06$.

Experimentalmente foram determinadas as umidades de cada amostra em cada tratamento e experimento de acordo com a metodologia de aquecimento em estufa a 105°C até obtenção de massa constante e os resultados podem ser observados na Tabela 4.3.

Verificou-se na Tabela 4.3 variações nos desvios padrões obtidos em cada tratamento, isto decorre de que os tratamentos do experimento com peróxido de benzoíla terem sido realizados em dias diferentes do experimento com peróxido de hidrogênio.

TABELA 4.3: Teores de umidade médios determinados experimentalmente em estufa a 105°C.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Umidade (%)	Tratamentos	Umidade (%)
Y1	0,4000±0,14	Y1'	0,2800±0,01
Y2	0,6200±0,10	Y2'	0,3100±0,01
Y3	0,9600±0,15	Y3'	0,4600±0,03
Y4	1,2200±0,08	Y4'	0,5700±0,02

Subtraindo dos valores experimentais da Tabela 4.3, quanto ao teor de umidade encontrado em cada tratamento de cada experimento, do valor de Y0, têm-se os valores mostrados na Tabela 4.4.

TABELA 4.4: Teores de umidade médios em cada tratamento sem a umidade do tratamento Y0.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Umidade (%)	Tratamentos	Umidade (%)
Y1	0,2167±0,14	Y1'	0,0967±0,01
Y2	0,4367±0,10	Y2'	0,1267±0,01
Y3	0,7767±0,15	Y3'	0,2767±0,03
Y4	1,0367±0,08	Y4'	0,3867±0,02

Observou-se na Tabela 4.4 que os teores de umidade determinados para o peróxido de hidrogênio são superiores aos valores encontrados nos tratamentos com peróxido de benzoíla. O ocorrido se relaciona com a umidade adicionada por cada reagente, peróxido de hidrogênio a 35%, ou seja, possuía 75% de solução aquosa e o peróxido de benzoíla 65% anidro, possuía 35% de umidade. Dessa forma, dos valores encontrados na Tabela 4.4 teve-se que realizar a uma dedução do teor de umidade adicionada por cada reagente, respectivamente 75% e 35%.

Assim, tem-se a Tabela 4.5 na qual constam os teores de umidade gerados na adição dos agentes descolorantes, peróxido de hidrogênio a 35% e peróxido de benzoíla 65% anidro, isentos dos teores de umidade que cada reagente carreava.

Assim, observa-se na Tabela 4.5 que os teores de umidade médios gerados aumentaram à medida que foram aumentadas as concentrações de peróxido de hidrogênio e peróxido de benzoíla. Verificou-se também que os teores de umidade gerada na peroxidação pelo agente peróxido de benzoíla foram bem inferiores que o peróxido de hidrogênio. Isso se deve ao estado físico do agente, um na forma sólida (peróxido de benzoíla) e outro na forma líquida (peróxido de hidrogênio), o qual proporciona melhor dispersão e aumento do contato entre as estruturas

químicas para reação e geração de água livre. Deve-se também às estruturas moleculares de ambos agentes descolorantes, o peróxido de hidrogênio se degradado em presença de calor e luz forma água e oxigênio atmosférico, já o peróxido de benzoíla nas mesmas condições forma gás carbônico.

TABELA 4.5: Teores de umidade médios em cada tratamento sem a umidade do tratamento Y0.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Umidade (%)	Tratamentos	Umidade (%)
Y1	0,0758±0,14	Y1'	0,0628±0,01
Y2	0,1528±0,10	Y2'	0,0823±0,01
Y3	0,2718±0,15	Y3'	0,1798±0,03
Y4	0,3628±0,08	Y4'	0,1353±0,02

Em 2009, Castro, realizou trabalho muito semelhante ao verificar o teor de umidade da lecitina de soja tratada com peróxido de hidrogênio a 35%, nas concentrações de 1,0%, 2,0% e 3,0% e observou que os teores de umidade foram crescentes com o aumento na concentração de reagente. O mesmo autor, não realizou estudos e ensaios com o peróxido de benzoíla.

De acordo com Mendonça (2009), nas reações de peroxidação seja lipídica ou de outro substrato, em alimentos com baixa atividade de água (A.a. menor que 0,10) oxidam-se rapidamente. Aumentos de atividade de água para 0,30 retardam a oxidação. E, em atividade de água entre 0,55 e 0,85, ocorre um novo aumento na taxa das reações pela mobilidade dos catalisadores presentes. Portanto, na lecitina de soja pura (tratamento Y0) cuja atividade de água inicial foi de 0,1833%, a probabilidade de oxidação é elevada devido à baixa atividade de água, o mesmo ocorre com os tratamentos de Y1' a Y4' e nos tratamentos Y1 a Y3. No tratamento Y4 verificou-se uma baixa probabilidade à oxidação.

Sabe-se que o aumento na probabilidade ou disponibilidade à oxidação, eleva-se o grau de deterioração e em outras palavras diminui a estabilidade oxidativa de óleos e gorduras.

Anos antes, Prado Filho (1994) havia verificado a oxidação lipídica dos óleos contidos nas farinhas de soja, macadâmia e castanha do Pará com relação às diferentes umidades relativas. Observou que na oxidação de lipídeos, o teor de umidade tem efeitos diferentes dependendo do agente catalizador da reação, oxigênio ou enzima e que normalmente uma diminuição da água disponível conduz a uma diminuição nas reações deterioradoras, especialmente as enzimáticas do alimento, devido à limitação da mobilidade dos reagentes. Paralelamente, a água disponível pode formar pontes de hidrogênio com hidroperóxidos, diminuindo sua taxa de decomposição e,

também, interferir com a reatividade de radicais livres propagadores das reações que levam ao ranço uma vez que fornece proteção do substrato (lipídeo) contra o contato com oxigênio, agente da autoxidação.

De acordo com Bellaver (2009), os fatores que influenciam a oxidação lipídica são: a temperatura, o teor de umidade, oxigênio, enzimas, presença de bactérias e fungos, pressão, luz e íons metálicos (Fe, Co, Cu, Mn), esses fatores, durante o armazenamento por longos períodos influenciam na formação de radicais livres. Portanto, pode-se inferir valores de atividade de água muito baixo e muito elevados de água livre ou atividade de água no alimento gorduroso, maiores serão os índices de radicais livres, de ácidos graxos livres, radicais, estruturas que deterioram as matérias graxas principalmente formando sabor de ranço.

4.2.2 Índice de Saponificação

A determinação do índice de saponificação teve como objetivo identificar a quantidade de matéria graxa dispersa no experimento do tratamento Y0 e nos demais tratamentos. O índice de saponificação de acordo com Ribeiro e Seravalli (2007) determina o grau de deterioração e a estabilidade do óleo à oxidação, além disso, estima a massa média dos ácidos graxos que compõem a gordura ou a matéria lipídica.

Sobre a lecitina de soja utilizada, foi verificado, através de leitura do rótulo do produto (Figura 3.1 e Tabela 3.1), a existência de constituintes graxos (gordurosos) diferentes dos fosfatídeos, portanto pode-se esperar que na análise de índice de saponificação, o tratamento Y0 apresenta significativa quantidade de matéria graxa.

A adição dessas matérias graxas como descrito na revisão é bastante comum para as lecitinas de sojas denominadas como *standard* (padrão), visto que a inserção de óleo nas lecitinas comerciais diminui sua viscosidade adequando-as à classificação comercial. Entretanto, o maior conteúdo de ácidos graxos inseridos na lecitina, além dos que a constituem (os fosfolipídeos) são fontes de deterioração, uma vez que possuem sítios ativos de oxi-redução, as duplas ligações nas cadeias de ácidos graxos dos triglicerídeos.

A determinação do índice de saponificação foi realizada de acordo com metodologia titulométrica descrita pelo Instituto Adolf Lutz (2002) e cujos valores obtidos podem ser verificados na Tabela 4.6.

TABELA 4.6: Índice de saponificação médio (mg de KOH/g) experimental em cada tratamento.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Índice de Saponificação	Tratamentos	Índice de Saponificação
Y1	156,47±1,11	Y1'	173,73±1,66
Y2	160,26±3,50	Y2'	182,47±1,53
Y3	162,02±1,82	Y3'	186,56±1,05
Y4	168,51±4,42	Y4'	196,51±2,41

A média do índice de saponificação obtida no tratamento Y0 foi igual a 154,80±0,57 mg de KOH/g utilizando solução padronizada para os tratamentos com peróxido de hidrogênio e 156,60±0,81 mg de KOH/g para também o tratamento Y0 utilizando solução padronizada para os tratamentos com peróxido de benzoíla.

De acordo com Kobori e Jorge (2004), os óleos comestíveis como o óleo de palma e o óleo de milho possuem respectivamente os índice de saponificação, 196 a 205 mg de KOH/g e 187 a 196 mg de KOH/g.

Castro, em 2009, verificou o índice de saponificação da lecitina de soja tratada com peróxido de hidrogênio a 35% em diferentes diluições e obteve o valor de 154,80 mg de KOH/g para a lecitina pura utilizada em seu experimento. Para o seu tratamento com 1% obteve 158,08 mg de KOH/g, para o tratamento com 2%, 221,53 mg de KOH/g e para o tratamento com 3% de peróxido obteve-se 231,49 mg de KOH/g.

Os valores obtidos no presente trabalho, Tabela 4.27, são inferiores dos apresentados por Castro (2009), sendo que o índice de saponificação da lecitina de soja comercial pura exatamente igual ao obtido no estudo de purificação. Essa igualdade nos valores refere-se à utilização da mesma lecitina de soja comercial. Os demais valores de Castro (2009) foram superiores.

Na Tabela 4.7, têm-se os valores finais dos índices de saponificação em cada tratamento, os quais foram obtidos pela subtração dos respectivos índices de saponificação determinados em cada tratamento pelo valor determinado no tratamento Y0 para cada agente descolorante. Estes valores referem-se aos ácidos graxos gerados após a adição dos agentes peroxidantes.

Observa-se na Tabela 4.7 que com o aumento na concentração de agentes descolorantes, aumentaram-se os índices de saponificação em cada tratamento. Os índices de saponificação para o agente peróxido de benzoíla foram superiores aos obtidos para o peróxido de hidrogênio, ou seja, uma quantidade maior de ácidos graxos livres foi detectada nas titulações desse agente. Nos

tratamentos, os elevados valores de ácidos graxos livres decorreram da hidrólise da matéria graxa presente (ácidos graxos esterificados) e pela quebra ou dissociação dos ácidos graxos que compõem os fosfatídeos em presença de agentes oxidantes.

TABELA 4.7: Índices de saponificação médios finais (mg de KOH/g) em cada tratamento.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Índice de Saponificação	Tratamentos	Índice de Saponificação
Y1	1,6700±1,04	Y1'	17,1300±1,66
Y2	5,4600±3,50	Y2'	25,8700±1,53
Y3	7,2200±1,82	Y3'	29,9600±1,06
Y4	13,7100±4,42	Y4'	39,9100±2,41

É importante ressaltar que a matéria graxa adicionada (triglicerídeos) na lecitina pura foi subtraída dos valores obtidos experimentalmente após as adições de diferentes agentes descolorantes, permitindo associar o aumento da concentração de agentes descolorantes, proporcional ao aumento de ácidos graxos livres obtidos. Este fato está relacionado à peroxidação das moléculas de fosfolipídeos.

Segundo Araújo (1999), valores pequenos de índice de saponificação indicam a presença de ácidos graxos de massa molecular elevada, já valores de índice de saponificação elevados denotam a presença de ácidos graxos de massa molecular pequeno.

Mais precisamente, quanto maior o comprimento da cadeia de ácido graxo presente em uma amostra, menos sódio ou potássio é absorvido na reação de determinação, logo o ácido graxo possui maior massa molecular (OETTERER; REGITANO d'ARCE; SPOTO, 2006).

Novamente, na Tabela 4.7 verificou-se que a obtenção de índices de saponificação elevados nos tratamentos com peróxido de benzoíla se comparados com os tratamentos com peróxido de hidrogênio indicam que os ácidos graxos livres nos tratamentos Y1', Y2', Y3' e Y4' são de cadeia curta, ou seja, pode-se dizer que os ácidos graxos gerados na oxidação com peróxido de benzoíla possuem massas moleculares menores.

Outra observação pode ser realizada, ao relacionar o teor de umidade determinado anterior à análise de índice de saponificação. Verifica-se na Tabela 4.5 (teor de umidade médio final) e na Tabela 4.7 (índice de saponificação médio final) que os valores em cada tratamento aumentam com o aumento na concentração de agente descolorante. E, de acordo com Kucek (2004), a presença de água favorece, inevitavelmente, a saponificação dos triglicerídeos paralelamente à sua conversão em ésteres, ou seja, a elevação na quantidade de ácidos graxos livres. Os menores valores de umidade foram obtidos para os tratamentos com peróxido de

benzoíla que apresentaram maiores valores de ácidos graxos livres, devido à menor liberação de moléculas de água durante a hidrólise.

Segundo Osawa (2005) a determinação da quantidade de ácidos graxos livres e de sua qualidade, sejam de cadeias curtas ou longas, está relacionada ao estado de deterioração dos lipídeos. Se, os ácidos graxos fossem de cadeia curta, baixa massa molecular, eles seriam mais facilmente degradados em situações de estresse oxidativo, fornecendo odores e sabores desagradáveis ao produto.

Conclui-se, portanto, que os ácidos graxos livres determinados nos tratamentos com o peróxido de benzoíla são mais passíveis de deterioração oxidativa do que os tratamentos com peróxido de hidrogênio, mesmo esse último apresentando valores de umidade superiores.

4.2.3 Estabilidade Oxidativa - Extinção Específica por absorção no UV

A determinação da quantidade de compostos intermediários formados na reação de peroxidação, como estruturas primárias da peroxidação como dienos e trienos conjugados e as secundárias como cetonas e dicetonas teve como objetivo relacionar os resultados obtidos com o estado oxidativo da lecitina pura em relação aos demais tratamentos dos experimentos.

De acordo com Oetterer, Regitano D`Arce e Spoto (2006) a determinação da estabilidade oxidativa diz respeito ao estudo da deterioração de óleos e gorduras (formação de ranço) com o acompanhamento da ação do oxigênio sobre a matéria lipídica.

Para comparar a peroxidação dos fosfolipídeos pelos agentes peroxidantes, analisou-se a quantidade de estruturas primárias e secundárias através de técnica espectrofotométrica, em comprimentos de ondas específicos. O resultado final da quantidade e qualidade da estabilidade oxidativa da lecitina tratada ou não, ou melhor, de substâncias absorvedoras de oxigênio e propagadoras de radicais livres em cadeia formados foram avaliados em relação à absorvividade mássica específica em leituras a 232 nm e 270 nm.

O solvente utilizado para solubilizar a lecitina foi o hexano, determinado através do Teste Preliminar. Os percentuais de ambos agentes descolorantes, adicionados em cada tratamento, correspondem às respectivas concentrações $7,380 \times 10^{-3}$ g/g (Y1), $1,476 \times 10^{-2}$ g/g (Y2), $2,214 \times 10^{-2}$ g/g (Y3) e $2,952 \times 10^{-2}$ g/g (Y4), considerando-se a densidade do peróxido igual a 1,476 g/mL, para o peróxido de hidrogênio. Para o peróxido de benzoíla anidro 65% as concentrações em cada tratamento foram $5,000 \times 10^{-3}$ g/g (Y1'), $1,000 \times 10^{-2}$ g/g (Y2'), $1,500 \times 10^{-2}$ g/g (Y3') e $2,000 \times 10^{-2}$ g/g (Y4').

Na Tabela 4.8 têm-se os valores iniciais médios de absorbâncias determinados em comprimentos de onda a 232 nm, correlacionando a quantidade de dienos e trienos conjugados formados, ou seja, ácidos graxos oxidados que possuem o radical peróxido ($-O-O^-$) em suas estruturas, que constituem os compostos primários gerados na reação de peroxidação.

TABELA 4.8: Absorbâncias iniciais médias determinadas a 232 nm e cubeta de 1 cm em cada tratamento.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Absorbâncias	Tratamentos	Absorbâncias
Y1	$0,1488 \pm 0,03$	Y1'	$0,1570 \pm 0,01$
Y2	$0,1689 \pm 0,04$	Y2'	$0,1470 \pm 0,01$
Y3	$0,1735 \pm 0,06$	Y3'	$0,1323 \pm 0,02$
Y4	$0,2094 \pm 0,05$	Y4'	$0,1290 \pm 0,01$

Dos valores mostrados na Tabela 4.8 foi necessário realizar a subtração da absorbância inicial média determinada no tratamento Y0 a qual foi $0,0574 \pm 0,002$ e cuja concentração correspondeu a 0,0526 g/mL de lecitina de soja diluída em hexano. Assim, tem-se a Tabela 4.9 com os valores médios de absorbância em cada tratamento.

TABELA 4.9: Absorbâncias finais médias determinadas a 232 nm e cubeta de 1 cm em cada tratamento.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Absorbâncias	Tratamentos	Absorbâncias
Y1	$0,0914 \pm 0,03$	Y1'	$0,0996 \pm 0,01$
Y2	$0,1115 \pm 0,04$	Y2'	$0,0896 \pm 0,01$
Y3	$0,1161 \pm 0,06$	Y3'	$0,0749 \pm 0,02$
Y4	$0,1520 \pm 0,05$	Y4'	$0,0716 \pm 0,01$

Observa-se pelos valores das absorbâncias na Tabela 4.9 que ocorreu um comportamento atípico, pois os valores determinados para o agente peróxido de hidrogênio foram crescentes (da menor absorbância para a maior) e para o peróxido de benzoíla foram decrescentes (da maior absorbância para a menor). O aumento nas concentrações de peróxido de hidrogênio elevou a absorbância e o aumento na concentração de peróxido de benzoíla diminuiu os valores da absorbância para determinação de estruturas primárias de oxidação como dienos e trienos conjugados.

De acordo com Oetterer, Regitano D`arce e Spoto (2006) essa determinação é interessante porque permite diferenciar os estágios de evolução da peroxidação: quanto maior a absorção em 232 nm, maior a concentração de compostos primários, que é o início da oxidação. Do contrário, com a absorção em aproximadamente 268 nm, maior é a concentração de produtos secundários, final da oxidação. Normalmente, os produtos primários são estruturas que possuem radicais peróxidos e os secundários possuem os hidroperóxidos.

Portanto, na Tabela 4.9 verificou-se que ao se aumentar a concentração de peróxido de hidrogênio ocorreu um aumento na formação de estruturas primárias da reação de peroxidação. Já o aumento de concentração de agente peróxido de benzoíla diminuiu a formação dessas mesmas estruturas. Tal fato pode ser justificado pelas diferenças moleculares que ambos agentes descolorantes apresentam em suas estruturas e devido à disponibilidade dessas estruturas no meio reacional.

Segundo, Villa, Silva e Nogueira (2007), o peróxido de hidrogênio em excesso no meio reacional se auto decompõe formando água e radical com menor poder de reação. No experimento, o aumento na concentração de água oxigenada a 35% gerou maior teor de água, menor teor de ácidos graxos livres e maiores conteúdos de estruturas primárias na reação de peroxidação. Já as reações de oxidação do peróxido de benzoíla são pouco conhecidas sabendo-se apenas que gera, ao ser oxidado, gás carbônico, maiores teores de ácidos graxos livres e menores absorções de estruturas primárias oxidativas.

Na Tabela 4.10 têm-se os valores médios de absorbância determinadas a 270 nm. Esta leitura refere-se à formação de estruturas secundárias da reação de peroxidação, tais como cetonas e dicetonas, estruturas que possuem radicais como os hidroperóxidos.

TABELA 4.10: Absorbâncias iniciais médias determinadas a 270 nm e cubeta de 1 cm em cada tratamento.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Absorbâncias	Tratamentos	Absorbâncias
Y1	0,1524±0,04	Y1'	0,1570±0,03
Y2	0,1733±0,01	Y2'	0,1470±0,02
Y3	0,1770±0,02	Y3'	0,1323±0,02
Y4	0,2101±0,02	Y4'	0,1290±0,01

Nova análise, em triplicata, do tratamento Y0 foi realizada para determinação da absorbância cujo valor aferido foi de 0,0618±0,01 e a concentração correspondente foi de 0,0526

g/mL de lecitina de soja diluída em hexano. Na Tabela 4.11 têm-se os valores da Tabela 4.10 subtraídos da absorbância obtida no tratamento Y0.

TABELA 4.11: Absorbâncias finais médias determinadas a 270 nm e cubeta de 1 cm em cada tratamento.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoila	
Tratamentos	Absorbâncias	Tratamentos	Absorbâncias
Y1	0,0906±0,04	Y1'	0,0952±0,03
Y2	0,1115±0,01	Y2'	0,0852±0,02
Y3	0,1152±0,02	Y3'	0,0705±0,02
Y4	0,1483±0,02	Y4'	0,0672±0,01

Observa-se na Tabela 4.11 que o comportamento “atípico” persiste mesmo para a determinação a 270 nm mostrando uma diminuição na quantidade de compostos secundários da reação de peroxidação, com o aumento na concentração de peróxido de benzoila e o contrário para o peróxido de hidrogênio. Tal fato foi esperado uma vez que as estruturas contendo radicais hidroperóxidos são produtos formados posteriormente à formação das estruturas com radicais de peróxidos, ou seja, para os tratamentos que apresentaram elevada absorbância a 232 nm, esses continuaram a apresentar elevada absorbância a 270 nm.

Segundo, Bellaver (2009) a reação de peroxidação é uma reação em cadeia que se inicia e propaga com a presença de radicais livres. As moléculas de triglicerídeos ou fosfolipídeos, os quais contem ácidos graxos insaturados esterificados são muito reativas e em contato com oxigênio formam peróxidos, que por sua vez, reagem com outra molécula oxidável, induzindo a formação de hidroperóxidos e mais radicais livres. Os hidroperóxidos originam mais radicais livres, capazes de atacarem outras moléculas e formarem mais radicais livres, aumentando os peróxidos. A reação de peroxidação somente será finalizada quando houver o rompimento de moléculas contendo o radical livre para formarem produtos de massa molecular mais baixa (aldeídos, cetonas, álcoois e ésteres), os quais são voláteis e associados aos odores de rancificação.

Sobre a informação acima, pôde-se realizar a associação entre a diminuição na formação dessas estruturas nos tratamentos com peróxido de benzoila com a formação de estruturas estáveis e não radicais no meio, possivelmente seguidas da formação de estruturas odoríferas. Por fim, os valores médios finais obtidos nas leituras de 232 nm (peróxidos) e na leitura a 270 nm (hidroperóxidos) foram bastante proporcionais, sendo que no tratamento Y2 teve-se o mesmo resultado.

Segundo Ferrari e Souza (2008), a estabilidade oxidativa de óleos e produtos oleaginosos podem ser analisados por extinção específica (espectrofotometria) em relação à absorvidade molar ($L/mol.cm$) ou mássica ($L/g.cm$) em cada um dos tratamentos dos experimentos.

De acordo com Perkampus (1992), a fórmula de Bouguer-Lambert-Beer, matemática para se calcular a absorbância em gases e soluções na região do ultravisível (UV) e visível (VS) ou qualquer outro parâmetro pode ser dada pela Equação 11.

$$A = \epsilon \times C \times b \quad (11)$$

Na qual, A é a absorbância da amostra, ϵ é a absorvidade específica molar ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$), C é a concentração molar (mol/L) e b é o caminho óptico em cm que a luz polarizada incide sobre a amostra. Para o caso de não utilizar a concentração em mol/L, Silverstein, Webster e Kiemle (1991) equacionou a Equação 12:

$$A = a \times b \times C \quad (12)$$

Há uma relação linear entre a absorbância e a concentração ao se manter o caminho óptico da luz constante, podendo ser determinada a concentração da espécie em solução. E, o parâmetro A refere-se à absorbância, a é a absorvidade mássica específica ($L/g.cm$), b é o caminho óptico percorrido (1 cm) e C é a concentração da espécie (g/L).

Aplicando na Equação 24, as concentrações das massas iniciais (g/g) para cada tratamento, especificadas no inicio desse subtópico, mantendo-se o caminho óptico constante e utilizando das absorbâncias anteriormente determinadas, pôde-se encontrar as absorvidades mássicas específicas dadas em ($g/g.cm$) em cada tratamento e comprimento de onda como mostram a Tabela 4.12 e a Tabela 4.13.

TABELA 4.12: Absorvidades mássicas específicas médias ($g/g.cm$) em cada tratamento e em cada experimento a 232 nm.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoila	
Tratamentos	Absorvidade	Tratamentos	Absorvidade
Y1	12,3848±0,12	Y1'	19,9200±0,05
Y2	7,5542±0,08	Y2'	8,9600±0,02
Y3	5,2439±0,08	Y3'	4,9933±0,02
Y4	5,1490±0,04	Y4'	3,5800±0,01

Sobre os valores da Tabela 4.12, que se referem aos valores médios das absorvividades mássicas específicas a 232 nm pôde-se afirmar que as quantidades de estruturas primárias formadas diminuíram com o aumento na concentração de peróxido de hidrogênio e de peróxido de benzoíla.

TABELA 4.13: Absorvividades mássicas específicas médias (g/g.cm) em cada tratamento e em cada experimento a 270 nm.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Absorvividade	Tratamentos	Absorvividade
Y1	12,2764±0,15	Y1'	19,0400±0,12
Y2	7,5542±0,01	Y2'	8,5200±0,03
Y3	5,2032±0,02	Y3'	4,7000±0,03
Y4	5,0237±0,02	Y4'	3,3600±0,01

Verifica-se na Tabela 4.13 o mesmo comportamento observado na Tabela 4.11, ou seja, os aumentos nas concentrações de agentes peroxidantes diminuíram a quantidade de estruturas com radícias hidroperóxidos formados. Comparando os dados das Tabelas 4.11 e 4.13, tem-se que as absorvividades mássicas específicas das estruturas primárias e secundárias formadas são proporcionais, quase que semelhantes.

Levando em consideração a importância não só dos radicais peróxidos como precursores dos radicais livres da reação de peroxidação lipídica, mas também os hidroperóxidos, de acordo com Pereda (2005), é possível ocorrer um balanço proporcional sobre a quantidade de peróxidos formados na etapa de propagação de radicais livres e a formação de hidroperóxidos na etapa de terminação.

Como explicitado no decorrer do trabalho e estudado por Oetterer, Regitano D`arce e Spoto (2006), cetonas e dicetonas são estruturas secundárias, formadas após as reações em cadeia de radicais livres e sinalizam o final da reação de peroxidação lipídica. Os valores ora encontrados são importantes no sentido de mostrar o estado e estabilidade oxidativa do óleo ou composto oleaginoso, visto que, segundo Pereda (2005), ao término das reações em cadeia de peroxidação lipídica esses serão responsáveis pelo surgimento de estruturas menos voláteis que conferem odor característico de ranço.

Perante os resultados encontrados pode-se considerar que a lecitina de soja adicionada de agentes descolorantes como o peróxido de hidrogênio e peróxido de benzoíla sofre peroxidação intensa visto que no tratamento Y0 a absorvividade mássica específica foi de 1,0912 a 232 nm e de 1,1749 a 270 nm. Ou seja, na lecitina pura comercial foi determinada uma maior

quantidade de estruturas de dienos e trineos conjugados do que cetonas e dicetonas. Tal constatação se relaciona à determinação inicial do teor de umidade verificada na lecitina pura, confirmando o inicio de um estado oxidativo do produto.

Foi possível afirmar também que a adição de pelo menos 0,5% de qualquer um dos agentes eleva consideravelmente a quantidade de estruturas radicalares primárias e secundárias. Entretanto, a adição de qualquer outra quantidade superior a 0,5% de peróxido de hidrogênio e peróxido de benzoíla ocasiona a redução na formação dessas mesmas estruturas em cadeia, demonstrando uma terminação com relação às etapas da teoria dos radicais livres.

Há alguns dados sobre a absorvividade de óleos ou de biodiesel. No trabalho de Telles (2006) as absorvividades específicas determinadas em óleos de girassol de diferentes cultivares foram a 232 nm de 1,7 e 1,8, já a 270 nm iguais a 0,2 e 0,3, sem variação com o tempo. Como dito, resultado inverso foi obtido para a lecitina de soja pura comercial, ou seja, os valores de estabilidade oxidativa dos óleos de girassol foram bastante inferiores aos obtidos para o mesmo fim nos experimentos com a lecitina. Tal fato, pode ser decorrente da grande quantidade de matérias gordurosas adicionadas na lecitina comercial (37%), além das estruturas de ácidos graxos esterificados à molécula de fosfatídeo que possui.

De acordo com Carvalho (2007) a absorvividade específica de identidade e qualidade do óleo de soja a 232 nm determinada foi igual a $6,4 \pm 0,3$ e a 270 nm igual a $2,7 \pm 0,2$, portanto superiores às absorvividades apresentadas para óleo de girassol, ou seja, a estabilidade oxidativa do óleo de soja é inferior, estando o óleo de soja mais propenso à deterioração que o óleo de girassol. Tal estado oxidativo está associado à quantidade de ácidos graxos insaturados, principalmente a quantidade de linolênico, presentes em maiores quantidades no óleo de soja que no óleo de girassol.

Os elevados valores de estruturas primárias e secundárias oxidativas determinadas na lecitina de soja em comparação ao óleo de soja eram de se esperar, uma vez que a lecitina de soja é o subproduto de óleo refinado de soja. Ela é isenta durante suas etapas de refino, principalmente na degomagem, de qualquer estrutura química lipídica que proporcione instabilidade à oxidação do óleo.

As análises apresentadas até então, com relação ao teor de umidade, índice de saponificação (ácidos graxos livres) e índice de peróxido, dizem respeito diretamente à reação de peroxidação que ocorrem com a inserção dos agentes descolorantes, peróxido de hidrogênio e peróxido de benzoíla, a fim de se promover a despigmentação da lecitina. Estas análises têm por finalidade determinar a qualidade final da lecitina de soja purificada a ser utilizada como emulsificante em alimentos.

As análises realizadas subsequentemente referem-se estritamente à pigmentação ou ao resultado da despigmentação da lecitina de soja após a adição dos agentes descolorantes em estudo sobre as espécies químicas que compõem a lecitina de soja e que possivelmente estejam relacionadas com sua coloração.

4.2.4 Teores de Compostos Clorofilados

A determinação da quantidade de clorofila total, segundo Engel e Poggiani (1991) requer determinações espectrofotométricas na região do visível a 652 nm, mas existem dois grupos de clorofila extremamente relevantes a serem determinados individualmente, a clorofila “a” e a clorofila “b” cujas determinações foram realizadas a 663 nm e a 645 nm. A quantificação final média desses compostos clorofilados foi determinada através das equações matemáticas 2, 3 e 4 do Capítulo II deste trabalho.

A determinação de compostos clorofilados foi realizada segundo metodologia descrita por Engel e Poggiani em 1991 no Capítulo III, na qual utilizou-se de espectrofotômetro da região do visível e cuja cubeta utilizada na experimentação e execução da metodologia foi de 2 cm.

Como a determinação foi realizada em espectrofotômetro cuja cubeta possuía 2 cm e todas as metodologias espectrofotométricas para análise de alimentos determinam a utilização de cubeta com caminho óptico de 1 cm foi necessário realizar a adequação segundo a Equação 24 descrita por Perkampus (1992) e que muitos pesquisadores defendem ter influência direta e significativa sobre a absorbância e consequentemente na concentração. Assim, mantendo-se caminho óptico constante e a concentração mássica (g/L), a absorbância determinada para Y0 foi $1,9750 \pm 0,32$ em cubeta de 1 cm. Na Tabela 4.14 tem-se os valores das absorbâncias determinadas a 663 nm para o caminho óptico de 1 cm.

TABELA 4.14: Absorbâncias médias determinadas em cubeta de 1 cm e comprimentos de onda 663 nm.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Absorbâncias	Tratamentos	Absorbâncias
Y1	$0,6067 \pm 0,00$	Y1'	$1,4110 \pm 0,02$
Y2	$0,1595 \pm 0,04$	Y2'	$1,3170 \pm 0,09$
Y3	$0,0838 \pm 0,00$	Y3'	$1,2725 \pm 0,03$
Y4	$0,0412 \pm 0,01$	Y4'	$1,0865 \pm 0,05$

Na Tabela 4.14, tanto para peróxido de hidrogênio quanto para o peróxido de benzoíla, os valores de absorbância medidos a 663 nm, diminuem com o aumento na concentração de agentes descolorantes. Verifica-se também que as absorbâncias médias determinadas para os tratamentos com peróxido de hidrogênio são bastante inferiores às determinadas para o peróxido de benzoíla e a absorbância determinada para o tratamento Y0 é superior a quaisquer absorbâncias lidas a 663 nm.

A determinação a 663 nm isoladamente nada diz respeito à quantidade de substâncias clorofiladas, conforme Engel e Poggiani (1991), sendo necessária a determinação à 645 nm para a aplicação das Equações 2 e 3 do Capítulo II, referentes à quantificação de clorofilas “a” e “b”. A Tabela 4.15 diz respeito às absorbâncias determinadas a 645 nm.

A média da absorbância determinada para o tratamento Y0 a 645 nm e caminho óptico de 1 cm, obteve-se o valor da absorbância para Y0 de $1,8626 \pm 0,06$ e para os demais tratamentos, os valores foram listados na Tabela 4.15.

TABELA 4.15: Absorbâncias médias determinadas em cubeta de 1 cm e comprimentos de onda 645 nm.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Absorbâncias	Tratamentos	Absorbâncias
Y1	$0,6053 \pm 0,00$	Y1'	$1,3490 \pm 0,27$
Y2	$0,1886 \pm 0,03$	Y2'	$1,2255 \pm 0,11$
Y3	$0,0795 \pm 0,00$	Y3'	$1,0850 \pm 0,19$
Y4	$0,0486 \pm 0,02$	Y4'	$1,0415 \pm 0,04$

O resultado da Tabela 4.15 foi semelhante às absorbâncias determinadas a 663 nm ocorrendo uma diminuição das absorbâncias em função do aumento na concentração de agentes descolorantes. E, novamente, observa-se que as absorbâncias determinadas nos tratamentos com peróxidos de hidrogênio foram inferiores às com peróxido de benzoíla. Como os valores das absorbâncias lidas a 645 nm isoladamente nada referem-se aos compostos clorofilados, tem-se em seguida a aplicação dos valores encontrados nas Tabelas 4.15 e 4.16 nas Equações 2 e 3 do Capítulo II para determinar o percentual de clorofilas “a” e “b” em cada tratamento.

A determinação das quantidades de clorofila “a” segundo a metodologia de Engel e Poggiani (1991) depende do desenvolvimento do cálculo da Equação 2. A quantidade determinada de clorofila “a” no tratamento Y0 foi de $0,1004 \pm 0,01$ mg/g e os valores de clorofila “a” nos demais tratamentos podem ser visualizados na Tabela 4.16.

TABELA 4.16: Teores médios de clorofila “a” (mg/g) em cada tratamento.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Clorofila “a”	Tratamentos	Clorofila “a”
Y1	0,0304±0,00	Y1'	0,0714±0,00
Y2	0,0076±0,00	Y2'	0,0672±0,00
Y3	0,0042±0,00	Y3'	0,0662±0,00
Y4	0,0019±0,00	Y4'	0,0550±0,00

Verifica-se que ocorreu um decréscimo na quantidade de clorofila “a” com o aumento na quantidade de agentes descolorantes inseridos em cada tratamento e que a quantidade de clorofila “a” determinada em cada tratamento com peróxido de benzoíla foi superior às quantidades correspondentes em cada tratamento com peróxido de hidrogênio. Decorre de tal fato, uma maior degradação de compostos clorofilados “a” com o reagente peróxido de hidrogênio quando comparado ao reagente peróxido de benzoíla, podendo-se concluir que este último é menos reativo aos compostos clorofilados “a”.

De forma semelhante foi realizado o cálculo específico para a determinação de compostos clorofilados “b” através da Equação 3 do Capítulo II e dos valores obtidos nas leituras de 645 nm e 663 nm, conforme pode ser visualizado na Tabela 4.17. A quantidade de clorofila “b” determinada para o tratamento Y0 foi 0,1670±0,01 mg/g, ou seja, valor esse maior que o determinado no mesmo tratamento para o teor de clorofila “a”.

TABELA 4.17: Teores médios de clorofila “b” (mg/g) em cada tratamento.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Clorofila “b”	Tratamentos	Clorofila “b”
Y1	0,0551±0,00	Y1'	0,1214±0,03
Y2	0,0179±0,00	Y2'	0,1092±0,01
Y3	0,0071±0,00	Y3'	0,0944±0,02
Y4	0,0046±0,00	Y4'	0,0938±0,00

Novamente, observa-se que com o aumento nas concentrações de agentes descolorantes ocorreu uma diminuição nas quantidades de agentes clorofilados “b” e que a extinção desses componentes foi superior para a utilização do agente peróxido de hidrogênio. A baixa reatividade do peróxido de benzoíla se deve à sua estrutura molecular, mais estável que a do peróxido de hidrogênio, possuindo dois anéis benzênicos. Segundo Nova (2003), sob aquecimento, o peróxido de benzoíla quebra-se homoliticamente formando gás carbônico e dois

radicais arilas, catalisadores das reações em cadeia de radicais livres, que, entretanto, como verificado no subtópico 4.2.3 e 4.2.2, a peroxidação com peróxido de benzoíla gera uma descrecente quantidade de radicais e uma crescente quantidade de ácidos graxos livres. Já o peróxido de hidrogênio com o calor forma gás oxigênio e água.

Comparando os valores obtidos entre as Tabelas 4.16 e 4.17 para cada um dos tratamentos, verifica-se que os valores para a clorofila “b” foram maiores do que a determinação de clorofila ”a”. Tal observação foi também verificada no trabalho de Costa (2009) ao determinar os teores de clorofilas “a” e “b” nas folhas de plantas cultivas em presença e ausência de luminosidade. A mesma observação foi feita por Engel e Poggiani (1991), os quais afirmaram que a velocidade de degradação da clorofila “b” é mais lenta que a clorofila “a”, pois essa última é extremamente fotossensível.

Relacionando os dados até então obtidos sobre a peroxidação da lecitina de soja com os agentes, peróxido de hidrogênio e peróxido de benzoíla, tem-se que, com o aumento nas concentrações de agentes, aumentou-se os teores de umidade e de índice de saponificação, diminuindo o percentual de clorofilas “a” e “b” em cada tratamento de Y1 a Y4 e de Y1’ a Y4’.

Lajolo et al (1971) apud Malheiros (2007) relacionaram a degradação da clorofila com o teor de água livre no produto e concluíram que em atividades de água acima de 0,30 a clorofila se degrada a feofitina cuja coloração é verde oliva (amarelado) e para atividade de água inferiores ocorreu baixa produção de feofitinas, ou seja, baixa velocidade de feofitinização. Tendo em vista os resultados obtidos nesse trabalho sobre o teor de umidade gerada nos tratamentos (subtópico 4.2.1) pode-se inferir que não há produção de feofitinas nos tratamentos Y1’ a Y4’ já que apresentam teores de umidade inferiores a 0,30. Nos tratamentos com peróxidos de hidrogênio, os únicos tratamentos que podem ocorrer a produção de feofitinas foi o tratamento, Y4 por apresentar teores de umidade acima de 0,30.

Do exposto, segundo Moretti (2007), até então, os dois mecanismos de degradação dos compostos clorofilados são, ou a produção de feofitinas, ou a produção de feoforbídeos. Assim, com exceção do tratamento Y4 pode-se dizer, mas não afirmar, que nos demais tratamentos houve a degradação da clorofila em feoforbídeos (coloração amarelo/verde-acastanhado) que por sua vez podem ser reduzidos a produtos incolores. Tal suposição é verossímil, pois de acordo com Bobbio e Bobbio (1992), tanto na formação de feofitinas quanto na formação de feoforbídeos, há a perda da espécie química Mg^{+2} na molécula de clorofila por duas espécies de H^+ , mas que se no meio houver oxigênio disponível, os feoforbídeos presentes são degradados a produtos incolores, além de fazer com que haja na reação de degradação da clorofila a tendência

à formação expressiva de feoborbídeos. Afirmaram também que a produção e utilização de atmosferas ricas em CO₂ ocorre um retardamento na degradação das clorofilas.

A afirmativa acima torna a necessidade de se ressaltar os resultados obtidos para os tratamentos com peróxido de hidrogênio e peróxido de benzoíla. Se comparados, remete às estruturas de ambos e aos produtos gerados pelos mesmos na reação de peroxidação; o peróxido de hidrogênio gera gás oxigênio que potencializa a formação de feoforbídeos e a reação em si, já o peróxido de benzoíla gera gás carbônico que retarda a degradação das clorofilas, mas que, entretanto, devido aos baixos teores de umidade, impede-se a formação de feofitinas.

Na análise de compostos clorofilados segundo Engel e Poggiani (1991) há a determinação de compostos clorofilados totais que se referem a quaisquer substâncias semelhantes, mas diferentes das clorofilas “a” e “b”, mas de outras estruturas associadas às clorofilas, denominados de pigmentos acessórios, que são estruturas heterocíclicas possuindo espectro de absorção na região do visível.

De acordo com Lanfer-Marquez (2003) a clorofila “a”, a mais abundante e a mais importante da família das porfirinas, corresponde a aproximadamente 75% dos pigmentos verdes encontrados nos vegetais. Já a clorofila “b” difere da clorofila “a” por uma pequena variação na substituição no anel da porfirina e as clorofilas “c” e “d” são encontradas apenas em algas.

A determinação de clorofilas totais foi realizada espectrofotometricamente em comprimento de onda de 652 nm e os resultados médios das absorbâncias obtidas em cada tratamento foram aplicados na Equação 4 do Capítulo II expressa em percentuais, de acordo com metodologia de Engel e Poggiani (1991).

Realizadas as adequações quanto ao caminho óptico de luz para 1 cm de espessura, teve-se para o tratamento Y0 a absorbância de 1,4945±0,09 e para os demais tratamentos as absorbâncias mostradas na Tabela 4.18. A quantidade de compostos clorofilados totais no tratamento Y0 foi igual a 0,2166±0,01 mg/g.

TABELA 4.18: Absorbâncias médias determinadas em cubeta de 1 cm e comprimentos de onda 652 nm.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Absorbâncias	Tratamentos	Absorbâncias
Y1	0,6045±0,00	Y1'	1,3600±0,15
Y2	0,1663±0,02	Y2'	1,1750±0,01
Y3	0,0798±0,00	Y3'	1,0640±0,06
Y4	0,0383±0,01	Y4'	0,9955±0,27

Observa-se na Tabela 4.18 que a absorbância para ambos os agentes descolorantes diminuem com o aumento da concentração de peróxidos, sendo que os valores das absorbâncias determinadas nos tratamentos de Y1 a Y4 foram inferiores aos dos tratamentos Y1' a Y4'. A determinação da quantidade total de compostos clorofilados foi realizada através da aplicação da Equação 4 do Capítulo II e os resultados podem ser visualizados para cada um dos tratamentos na Tabela 4.19.

TABELA 4.19: Teores médios de compostos clorofilados totais (mg/g) em cada tratamento.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Clorofila Total	Tratamentos	Clorofila Total
Y1	0,0876±0,00	Y1'	0,1971±0,02
Y2	0,0241±0,00	Y2'	0,1703±0,00
Y3	0,0116±0,00	Y3'	0,1542±0,01
Y4	0,0055±0,00	Y4'	0,1443±0,04

A quantidade de compostos clorofilados totais diminuiu com o aumento na concentração de agentes descolorantes tanto para o peróxido de hidrogênio quanto para o peróxido de benzoíla. Entretanto, observa-se que a quantidade de compostos clorofilados totais determinados nos tratamentos com peróxido de benzoíla foram superiores do que os tratamentos Y1 a Y4.

Essa tendência observada na Tabela 4.19 e que ocorreu também nas determinações de clorofilas “a” e “b”, demonstrou que o agente peróxido de hidrogênio por vezes foi mais reativo que o peróxido de benzoíla.

No processo de obtenção da lecitina comercial, há a etapa de secagem que ocorre em temperaturas de aproximadamente 80°C por determinado período de tempo (retenção). Como a enzima responsável pela degradação da clorofila denominada de clorofilase, se presente, de acordo com Von Elbe e Schtartz (2000) diminui sua atividade em torno de 80°C e, é inativada a 100°C, há uma probabilidade grande da enzima clorofilase não ter interferência na degradação da clorofila da lecitina comercial.

Lanfer-Marquez (2003), estudou que as feofitinas possuem coloração próxima ao verde oliva e estão sujeitas a hidrólise química, que resulta na liberação da molécula do fitol, produzindo um feoforbídeo hidrossolúvel, ou seja, gerando substâncias incolores de maneira não enzimática. Além disso, verificou que os radicais livres provenientes da oxidação lipídica, os

hidroperóxidos foram potencialmente danosos para a clorofila, justamente pela provável ruptura do anel da porfirina e do grupamento fitol.

A formação de feoforbídeos de forma não enzimática é possível de ocorrer na lecitina peroxidada uma vez que ocorreu aumento na geração de água livre com consequente produção dos gases oxigênio e carbônico, com o aumento na concentração de agentes descolorantes, que ora preservam ou ora degradam ainda mais as clorofilas. Entre os dois agentes, verificou-se que o peróxido de hidrogênio foi o mais reativo com a clorofila.

4.2.5 Teor de Substâncias Marrons e Carotenóides

Os resultados até então obtidos nas análises de compostos clorofilados confirmam ocorrência da degradação e quebra das estruturas através da adição dos peróxidos pela reação de peroxidação das espécies químicas que compõem a coloração da lecitina. Mas, não obstante, outras estruturas têm significativa relevância sobre a coloração da lecitina de soja comercial tais como as substâncias marrons e carotenóides que foram analisados conforme metodologia proposta por Lezerovich (1985).

Procedeu-se então, à determinação de carotenóides de acordo com a metodologia de Lezerovich (1985). A determinação foi espectrofotométrica no comprimento de onda de 448 nm e utilizada cubeta de 1 cm. Foi utilizado hexano, solvente pré-definido em Teste Preliminar do presente trabalho, para solubilizar a lecitina utilizada na proporção de 1:20. Nessas condições as concentrações de peróxidos adicionados na lecitina de soja foram respectivamente, As concentrações de peróxidos adicionados na lecitina de soja foram respectivamente, $7,380 \times 10^{-3}$ g/g (Y1), $1,476 \times 10^{-2}$ g/g (Y2), $2,214 \times 10^{-2}$ g/g (Y3) e $2,952 \times 10^{-2}$ g/g (Y4) e $5,000 \times 10^{-3}$ g/g (Y1'), $1,000 \times 10^{-2}$ g/g (Y2'), $1,500 \times 10^{-2}$ g/g (Y3') e $2,000 \times 10^{-2}$ g/g (Y4'). para o cálculo da concentração de carotenóides e substâncias marrons.

No tratamento Y0, a absorbância obtida a 448 nm foi de $1,2361 \pm 0,11$ em termos da quantidade de carotenóides, cuja concentração inicial era 0,0526 g/mL de lecitina diluída em hexano. Com esses dados, foi possível determinar a concentração de carotenóides em ppm no tratamento Y0, através a aplicação da Equação 22 do Capítulo III, bem como para os demais tratamentos. Na Tabela 4.20 têm-se os valores obtidos na leitura a 448 nm para a análise de carotenóides nos demais tratamentos.

TABELA 4.20: Absorbâncias obtidas em cada tratamento a 448 nm e cubeta de 1 cm.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Absorbâncias	Tratamentos	Absorbâncias
Y1	1,1947±0,11	Y1'	0,6339±0,07
Y2	1,0420±0,02	Y2'	0,5955±0,08
Y3	0,9734±0,15	Y3'	0,5366±0,06
Y4	0,8738±0,14	Y4'	0,5415±0,06

Verificam-se na Tabela 4.20 que os valores das absorbâncias decrescem com o aumento das concentrações de agentes descolorantes e que os valores obtidos para o peróxido de hidrogênio foram superiores aos dos obtidos para o peróxido de benzoíla.

A concentração de carotenóides na lecitina pura (Y0) média determinada foi $3,2693 \times 10^{-4} \pm 0,11$ ppm e as demais concentrações de carotenóides podem ser visualizadas na Tabela 4.21.

TABELA 4.21: Concentrações finais médias de carotenóides em ppm.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Concentrações	Tratamentos	Concentrações
Y1	$3,2747 \times 10^{-4} \pm 0,11$	Y1'	$3,2752 \times 10^{-4} \pm 0,07$
Y2	$3,2740 \times 10^{-4} \pm 0,02$	Y2'	$3,2749 \times 10^{-4} \pm 0,08$
Y3	$3,2734 \times 10^{-4} \pm 0,15$	Y3'	$3,2747 \times 10^{-4} \pm 0,06$
Y4	$3,2730 \times 10^{-4} \pm 0,14$	Y4'	$3,2745 \times 10^{-4} \pm 0,06$

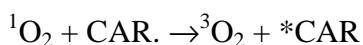
Como podem ser verificados, os valores obtidos e apresentados na Tabela 4.21, mostram que o aumento na concentração de agentes descolorantes manteve quase que inalteradas as concentrações de carotenóides presentes nos tratamentos. Pôde-se observar que não houve grandes variações nos valores determinados nos tratamentos. As concentrações de carotenóides para o peróxido de benzoíla foram maiores, sendo, portanto, mais reativo que o peróxido de hidrogênio. Coincidemente, a concentração de carotenóides nos tratamentos Y1 e Y3' foram iguais, denotando que o percentual de 0,5% de peróxido de hidrogênio tem a mesma ação que a concentração de 1,5% de peróxido de benzoíla.

Através dos dados experimentais obtidos verificou-se que as concentrações de carotenóides presentes na lecitina pura aumentaram com a adição de agentes descolorantes e que o aumento na concentração desses na lecitina diminui a quantidade de carotenóides.

De acordo com Mendonça (2009), os carotenóides e os tocoferoais atuam como supressores da reação de oxidação, como antioxidantes, ao transformarem o oxigênio *singlete* (mais reativo) em *triplete* (menos reativo) e por reagirem com os radicais livres peroxil ou alquil.

Entretanto, segundo estudo realizado por Oliveira (2006), os tocoferóis são as substâncias mais ativas na inibição da reação de peroxidação lipídica, especificamente o alfa tocoferol seguido da bixina (carotenóide). Também verificou-se que devido às duplas ligações e à susceptibilidade dos carotenóides, eles estão predispostos a sofrerem ciclização, hidrogenação, epoxidação, oxidação, desnaturação e isomerização formando estruturas menores com ligantes diversos a depender do meio, mas não deixando de ser carotenos.

Shami e Moreira (2004) afirmam em seu artigo que os carotenóides são estruturas lipossolúveis complexadas com ácidos graxos, advindos de fontes naturais de alimentos que notadamente reagem com os radicais peróxidos e oxigênio molecular. Para ilustrar esta afirmação, tem-se o equacionamento da ação antioxidant dos carotenóides em presença de oxigênio *singlete*, descrita por Uenojo, Maróstica Júnior e Pastore (2007):



Reação 16

Nessa reação os carotenóides doam elétrons ao oxigênio *singlete* formando oxigênio *triplete* e a molécula de carotenóide em estado excitado (*CAR), retorna ao estado fundamental dissipando energia na forma de calor. Em presença de radicais livres, os carotenóides podem agir como pró-oxidantes, já que tendo doados elétrons ao radical livre, em estado excitado, pode reagir com a molécula de gás oxigênio presente no meio e gerar peróxidos, degradando-se a outros carotenos simples ou em produtos inativos ou mesmo retornando ao seu estado fundamental (UENOJO; MAROSTICA JÚNIOR; PASTORE, 2007).

Portanto, esperava-se que com o aumento nas concentrações de agentes peroxidantes houvesse formação e liberação de oxigênio na forma de gases, houvessem reações de degradações das duplas ligações de carotenóides, diminuindo a intensidade de coloração amarelo/laranja de forma expressiva. Pelos dados constantes na literatura, pôde-se inferir através dos dados experimentais e constantes na Tabela 4.21, que houve pouca degradação dos carotenóides e que há pouca quantidade de carotenóides na lecitina (tratamento Y0).

Pode-se também observar que a pequena variação entre os tratamentos na quantidade de carotenóides foi devido à transformação desses em outras substâncias inertes, carotenos derivados. Associando o resultado ao subtópico 4.2.4, têm-se que os compostos clorofilados são mais reativos que os carotenóides e não possuem a propriedade química de retornar ao estado fundamental.

Outra associação que pode ser realizada é quanto ao teor de umidade (subtópico 4.2.1), pois segundo Oliveira (2006), a bixina (caroteno mais simples derivado do β -caroteno) possui estabilidade oxidativa em condições de média a elevada atividade de água. Portanto, pode-se dizer que a estabilidade dos dados obtidos na Tabela 4.21 para cada tratamento isoladamente, decorre do aumento na disponibilização de água livre (gerada) na reação de peroxidação, mesmo que na maioria dos tratamentos tenha sido menor que 0,30 de atividade de água.

Não só ao subtópico 4.2.1 o teor de carotenóides pode ser associado, mas novamente aos resultados obtidos no subtópico 4.2.4 que se refere à análise de compostos clorofilados. De acordo com Malheiros (2007), os carotenóides estão intimamente associados às clorofilas pela longa cadeia lateral de fitol na molécula de clorofila e que as protegem da foto-oxidação. Mas, no presente trabalho, verificando os resultados da Tabela 4.21, nota-se que, pelo pouco decréscimo nas contrações de carotenóides em vista aos teores decrescentes dos compostos clorofilados, os carotenóides não impediram a peroxidação das clorofilas contidas nos tratamentos.

A coloração do amarelo tendendo ao vermelho dos carotenóides, em conjunto à coloração esverdeada das clorofilas dão à lecitina de soja coloração tendendo ao marrom como é característico do produto, entretanto pode-se dizer que em relação às colorações, apenas a cor esverdeada das clorofilas foram alteradas expressivamente e que a coloração vermelho/alaranjado dos carotenóides tendeu à coloração amarela.

Posteriormente à determinação dos carotenóides, realizou-se a análise de substâncias marrons seguindo também a metodologia descrita por Lezerovich (1985). Na análise foi utilizado hexano, solvente apropriadamente determinado no Teste Preliminar para solubilização da lecitina em estudo, na proporção de 1:20, a fim de se determinar as absorbâncias de substâncias marrons a 365 nm e a 456 nm, utilizando cubetas de 1 cm. Utilizou-se para a determinação final (cálculo) das concentrações de substâncias marrons, as mesmas concentrações do soluto utilizadas na determinação dos teores de carotenóides.

Foi realizada a determinação das absorbâncias médias a 365 nm e a 456 nm do tratamento Y0 as quais foram respectivamente $1,9402 \pm 0,25$ e $0,8849 \pm 0,29$, cuja concentração inicial foi de 0,0526 g/mL de lecitina de soja diluída em hexano. Os valores obtidos das absorbâncias médias nos demais tratamentos podem ser visualizados na Tabela 4.22.

Observa-se na Tabela 4.22 que os valores das absorbâncias a 365 nm diminuem à medida que as concentrações dos agentes descolorantes aumentam e os valores das absorbâncias obtidas para o agente peróxido de hidrogênio foram menores que para o peróxido de benzoíla.

TABELA 4.22: Absorbâncias médias obtidas em cada tratamento a 365 nm e cubeta de 1 cm.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Absorbâncias	Tratamentos	Absorbâncias
Y1	$2,1729 \pm 0,07$	Y1'	$2,1379 \pm 0,05$
Y2	$2,0345 \pm 0,25$	Y2'	$2,1216 \pm 0,09$
Y3	$1,8370 \pm 0,06$	Y3'	$2,1057 \pm 0,09$
Y4	$1,6185 \pm 0,07$	Y4'	$1,9731 \pm 0,06$

Para demais inferências sobre as quantidades de substâncias marrons em cada tratamento segundo a metodologia, deve-se proceder à determinação a 456 nm. Os resultados das absorbâncias médias obtidas a 456 nm encontram-se na Tabela 4.23.

TABELA 4.23: Absorbâncias médias obtidas em cada tratamento a 456 nm e cubeta de 1 cm.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Absorbâncias	Tratamentos	Absorbâncias
Y1	$1,1671 \pm 0,04$	Y1'	$0,5886 \pm 0,02$
Y2	$1,0039 \pm 0,08$	Y2'	$0,5348 \pm 0,06$
Y3	$0,9384 \pm 0,03$	Y3'	$0,5084 \pm 0,03$
Y4	$0,8235 \pm 0,06$	Y4'	$0,4927 \pm 0,09$

Verifica-se na Tabela 4.23 que os valores das absorbâncias diminuem com o aumento nas concentrações de agentes descolorantes e os valores absorvidos para o agente peróxido de benzoíla foram bastante inferiores aos obtidos para o peróxido de hidrogênio.

No tratamento Y0 foi determinado um valor total para substâncias marrons aplicando-se a Equação 21 do capítulo III e os valores encontrados nas leituras de 365 nm e 456 nm. O resultado da concentração total de substâncias marrons no tratamento Y0 foi de $0,0350 \pm 0,00$ mg/g.

Prosseguindo ao resultado de quantificação de substâncias marrons sobre a quantidade absorvida foi aplicada a mesma Equação 21 com os dados obtidos em cada tratamento e nas leituras realizadas a 365 nm e 456 nm. Os resultados que podem ser verificados na Tabela 4.24 referem-se às concentrações (mg/g) de substâncias marrons obtidas em cada tratamento subtraídas da concentração inicial da lecitina pura (tratamento Y0), pois essa foi determinada anteriormente à adição dos agentes.

TABELA 4.24: Substâncias Marrons (mg/g) obtidas em cada tratamento.

Peróxido de Hidrogênio		Peróxido de Benzoíla	
Tratamentos	Subst. Marrons	Tratamentos	Subst. Marrons
Y1	0,2760±0,07	Y1'	0,4184±0,05
Y2	0,1302±0,32	Y2'	0,2084±0,13
Y3	0,0781±0,13	Y3'	0,1381±0,19
Y4	0,0516±0,29	Y4'	0,0969±0,25

Observa-se na Tabela 4.24 que as concentrações obtidas para o agente peróxido de benzoíla são superiores às do peróxido de hidrogênio, o que implica dizer que a quantidade (concentração) de substâncias marrons dos tratamentos Y1' ao Y4' são maiores e consequentemente a coloração aparente da lecitina peroxidada com esse foi superior. Os valores obtidos foram superiores ao determinado no tratamento Y0, demonstrando que houve um aumento na concentração de substâncias marrons formadas pela adição de descolorantes, embora o aumento na concentração de peróxidos adicionados fez com que estas estruturas diminuíssem.

É importante destacar que as substâncias marrons ora investigadas são todas as estruturas de carboidratos caramelizados, caramelos, que irreversivelmente possuem coloração acastanhada e as fosfatidiletanolaminas complexadas com sais de cálcio e magnésio ou o ácido fosfatídico complexado por estes mesmos sais, que também possuem coloração marrom.

Os caramelos, segundo Ribeiro e Seravalli (2007), são açúcares pirolisados irreversivelmente, polímeros insaturados complexados com ácidos pirúicos e aldeídos, entretanto os mecanismos e as composições químicas exatas dos caramelos são desconhecidas. Bobbio e Bobbio (1992) destacaram que os caramelos, colóides contendo anel furânico, podem possuir desde colorações mais intensas como amenas a depender de sua temperatura de preparo, mas que independente da coloração são corantes naturais importantes, além de saborizantes/flavorizantes nos alimentos.

A determinação de substâncias marrons na lecitina de soja pelo método utilizado não prevê a separação dos caramelos e quantificação dos mesmos, mas em se tratando do odor característico que exalam ao serem formados, podem ser identificados de forma qualitativa. Porém, esta investigação não foi realizada, podendo no futuro ser analisada por análise sensorial com quadro de julgadores treinados.

Sobre a fosfatidiletanolamina e o ácido fosfatídico, outros componentes que exprimem coloração marrom à lecitina de soja, de acordo com Souza (2004) são fosfatídeos não hidratáveis, que se complexam com sais de cálcio e magnésio do meio na lecitina. A fosfatidiletanolamina compõem a lecitina de soja e está presente na proporção de 16% e em

1,5% na forma de ácido fosfatídico dispersos no óleo bruto (SOARES, 2004). Como descrito, na quantidade em que se apresenta no óleo bruto deve ser fator de preocupação para a sua total remoção durante a etapa de degomagem. Ainda mais que, segundo Júnior (2009) a fosfatidiletanolamina complexada com os sais de cálcio e magnésio dificilmente retorna à sua forma original, decantando-se no óleo bruto e possuindo coloração enegrecida.

No trabalho, a lecitina comercial utilizada apresenta segundo sua rotulagem nutricional cerca de 47% de fosfatidilcolina (Tabela 3.1) e como é do tipo *standard* (padrão) deve possuir aproximadamente 62% de fosfatídeos, assim pode-se dizer que 15% do produto em estudo constitui-se de fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol. Verificando os dados da Tabela 4.24 e relacionando-se com os dados obtidos no subtópico 4.2.4 sobre os componentes clorofilados e como se dá a degradação das clorofilas, pode-se inferir que os átomos de magnésio foram dissociados das moléculas de clorofilas e uma vez dispersos no meio, ligaram-se às fosfatidiletanolaminas formando as chamadas substâncias marrons.

O fato sobre a redução da concentração de substância marrons com o aumento na concentração de peróxido de hidrogênio ou peróxido de benzoíla se deve segundo BEI (2005), à reversibilidade do sal de ácido fosfatídico ou da fosfatidiletanolamina à forma original em presença de íons hidrogênio em excesso no meio.

Os tratamentos com peróxido de benzoíla apresentaram maiores concentrações, demonstrando que esse foi menos reativo, peroxidante, a estas estruturas quando comparado ao peróxido de hidrogênio.

4.2.6 Coloração – Comparação Visual

A última análise realizada no experimento foi a de comparação visual de forma qualitativa que se refere à coloração e à determinação do termo a ser utilizado para especificar a despigmentação da lecitina de soja. Sobre a terminologia, pode-se afirmar que ao adicionar os reagentes à lecitina de soja pura e realizar a homogeneização em agitador elétrico (Figura 4.2), não houve a formação imediata de precipitado ou de um sobrenadante, mas houve a redução na pigmentação natural da lecitina de soja, como pode ser visualizado nas Figuras 4.5 e 4.6.



FIGURA 4.2: Fotografia à esquerda corresponde à lecitina de soja pura (Tratamento Y0) e a fotografia à direita refere-se ao experimento Y0 com agitação.

A despigmentação da lecitina de soja pode ser denominada de purificação, pois como verificado nas análises físico-químicas realizadas houve diversos fenômenos químicos envolvidos que refletiram sobre a variável concentração e tipo de agente descolorante utilizado. Entretanto, o termo purificação, quimicamente, refere-se à separação de impurezas e na lecitina de soja através das análises físico-químicas nenhum material foi separado e tampouco foi considerado impureza os componentes químicos estudados. Assim, o termo mais adequado para denominar a despigmentação da lecitina de soja através da adição de peróxido de hidrogênio e peróxido de benzoila é a clarificação, mesmo que aparentemente não tenha ocorrido um processo físico em consequência da adição dos agentes.

As colorações obtidas após os tratamentos podem ser visualizados nas Figuras 4.3 e 4.4.



FIGURA 4.3: Potes de polietileno de 300 mL contendo 100 g de lecitina purificada com peróxido de hidrogênio nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%, da esquerda para a direita.



FIGURA 4.4: Potes de polietileno de 300 mL contendo 100 g de lecitina purificada com peróxido de benzoíla nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%, da esquerda para a direita.

Tal coloração como verificado nas Figuras 4.3 e 4.4 decorre da pequena alteração obtida na concentração de carotenóides e mais propriamente à formação (concentração) de substâncias marrons.

Em pequenas alíquotas, cerca de 2 g, é possível verificar melhor a coloração, como mostram as Figuras 4.3 e 4.4. Verifica-se que a coloração da lecitina de soja nos tratamentos com peróxido de hidrogênio ou com peróxido de benzoíla apresentou-se predominante amarelo, confirmando a degradação dos compostos clorofilados verificados nas análises físico-químicas, bem como a interferência da pequena degradação dos carotenóides.

FIGURA 4.5: Vista superior das amostras dos tratamentos com peróxido de hidrogênio. Da esquerda para a direita, de cima para baixo, têm-se respectivamente os tratamentos Y1, Y2, Y3 e Y4.

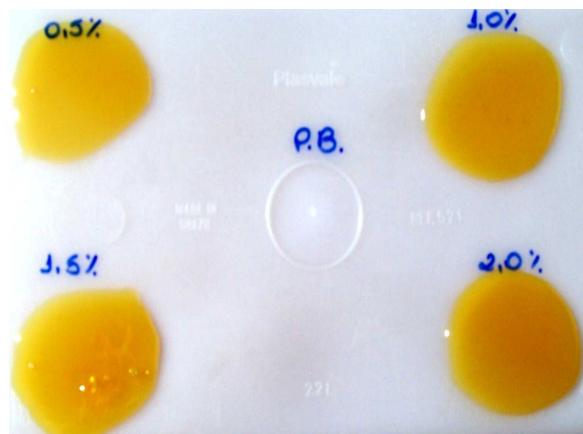


FIGURA 4.6: Vista superior das amostras dos tratamentos com peróxido de benzoíla. Da esquerda para a direita, de cima para baixo, têm-se respectivamente os tratamentos Y1', Y2', Y3' e Y4'.

Observa-se nas Figuras 4.5 e 4.6 que a coloração das lecitinas tratadas com peróxido de benzoíla são mais intensas que com peróxido de hidrogênio. Tal fato, pôde ser observado com destaque nos tratamentos Y4 e Y4'.

Trabalhos e dados científicos sobre a lecitina de soja são muito escassos no que tangem à despigmentação do produto, entretanto foi possível correlacionar dados diversos existentes que se referem ao comportamento, de modo geral, dos constituintes coloríferos que compõem o emulsificante estudado.

V - CONCLUSÕES

A execução do Teste Preliminar proposto atendeu ao objetivo em se determinar um solvente adequado para solubilizar a lecitina de soja. Foi escolhido o hexano devido ao seu vasto uso na extração de óleos e melhor custo/benefício, apesar do solvente tolueno ter apresentado melhor resultado.

A lecitina de soja comercial utilizada no estudo como padrão (tratamento Y0) apresentou pequeno valor de umidade, 0,1833%, elevado índice de saponificação (aproximadamente 155,70 mg de KOH/g), baixo valor de absorvividade mássica quanto à estabilidade oxidativa (a 232 nm foi igual a 1,0912 g/g.cm e a 270 nm igual a 1,1749 g/g.cm), elevados teores de compostos clorofilados (clorofila “a” igual a 0,1004 mg/g, clorofila “b” de 0,1670 mg/g e clorofilas totais foi 0,2166 mg/g), baixos teores de carotenóides ($3,2693 \times 10^{-4}$ ppm) e baixo conteúdo de substâncias marrons (0,0350 mg/g).

O uso de peróxido de hidrogênio e o aumento na concentração desse na lecitina gerou: grande teor de umidade, baixos conteúdos de ácidos graxos livres, decréscimo nos teores de estruturas primárias e secundárias da reação de peroxidação, degradação de compostos clorofilados, diminuição do teor de carotenóides e de substâncias marrons e ao ser decomposto gerou água (gotículas visíveis) e gás oxigênio (bolhas visíveis no interior do produto).

Sobre os tratamentos com peróxido de benzoíla conclui-se que o aumento na concentração desse gerou: aumento no teor de umidade, maiores conteúdos de ácidos graxos livres (índice de saponificação elevado), aumento da estabilidade oxidativa da lecitina, degradação mais amena de compostos clorofilados, diminuição no teor de carotenóides, além de reduzir a quantidade de substâncias marrons. Modificações visíveis como geração de água livre e bolhas de ar não foram constatadas, sendo observada apenas, mudança na coloração.

A Tabela 5.1 pôde ser elabora tendo-se os resultados descritos.

TABELA 5.1: Tabela demonstrativa e comparativa dos resultados obtidos nos experimentos de despigmentação de lecitina de soja.

	Peróxido de Hidrogênio	Peróxido de Benzoíla
Umidade	↑ H ₂ O inserida	↓ H ₂ O inserida
Saponificação	↓ Índice – ↑ M. M.	↑ Índice – ↓ M. M.
Estabilidade Oxidativa	↓ Qde de estruturas	↑ Qde de estruturas
Clorofila	↓ Qde de clorofilas	↑ Qde de clorofilas
Carotenóides	↑ Qde de Carotenóides	↓ Qde de Carotenóide
Subst. Marroms	↓ Qde de Sub. Marroms	↑ Qde de Sub. Marroms
	↓ Estabilidade Oxidativa ↑ Estabilidade Oxidativa ↑ Estabilidade Oxidativa ↓ Coloração ↑ Coloração ↓ Coloração	↓ Estabilidade Oxidativa ↓ Estabilidade Oxidativa ↓ Estabilidade Oxidativa ↑ Coloração ↓ Coloração ↑ Coloração

Observa-se na Tabela 5.1, em vermelho os resultados das análises físico-químicas realizadas nos experimentos, que referem-se à estabilidade oxidativa da lecitina despigmentada, levando-se em conta os fatores de teor de umidade, índice de saponificação e assortividade específica. Em azul os resultados dos experimentos quanto à coloração após levantamento de teor de compostos clorofilados, carotenóides e substâncias marrons. As setas colocadas à esquerda que acompanham os círculos e os retângulos demonstram a intensidade ou tendência dos resultados.

Da Tabela 5.1, pode-se concluir que os tratamentos adicionados de peróxido de hidrogênio tiveram maior estabilidade oxidativa e menor coloração. Já os tratamentos adicionados de peróxido de benzoíla possuíram menor estabilidade oxidativa e coloração mais intensa. Portanto, a despigmentação realizada com peróxido de hidrogênio foi mais eficaz do que com o agente peróxido de benzoíla.

Ao final do experimento, foram verificadas as colorações, visualmente, de cada produto oriundo de cada tratamento em cada experimento e em ambos prevaleceram a coloração amarelo palha na lecitina de soja após a adição de agentes descolorantes e foi notória a mudança de coloração entre os tratamentos e a lecitina pura. Assim, a adição de 0,5% a 2,0% do peróxido de hidrogênio ou do peróxido de benzoíla reduzem a intensidade da coloração do emulsificante. Podendo-se fazer uso desses agentes descolorantes quando se deseja que a coloração não interfira nas qualidades do produto final. Porém, na escolha do descolorante, peróxido de

hidrogênio ou peróxido de benzoíla, a ser aplicado deve-se atentar às quantidades de componentes químicos gerados e degradados.

Observou-se também que após a adição dos peróxidos ocorreu a efetiva despigmentação da lecitina de soja, não havendo a formação de um sobrenadante ou um corpo de fundo (comportamentos previstos no processo de clarificação), mas sobretudo não houve a separação de impurezas nos tratamentos. Podendo-se afirmar que o processo de despigmentação de lecitina de soja pode ser apropriadamente denominado de clarificação.

VI – SUGESTÕES

Para próximos trabalhos a serem realizados com a lecitina de soja purificada com peróxido de hidrogênio ou peróxido de benzoíla para uso como emulsificante em alimentos, sugere-se:

- Realizar estudo cinético da reação de peroxidação nas concentrações relevantes, visando a quantificação de peróxidos e hidroperóxidos formados em relação ao tempo.
- Estudar e analisar os compostos gerados ao final da reação de peroxidação, determinando-os.
- Verificar a ausência ou presença de enzimas na lecitina de soja comercial, tais como a fosforilase A.
- Determinar analiticamente a quantidade de peróxido de hidrogênio e de peróxido de benzoíla, ou mesmo a presença de compostos aromáticos nas lecitinas tratadas.
- Determinar analiticamente a quantidade de oxigênio atmosférico (gás) gerado durante a reação de peroxidação, a cinética de formação desse.
- Verificar a existência de carboidratos e proteínas na lecitina pura, e se, presentes, realizar estudo da peroxidação dessas estruturas.
- Verificar a existência de caramelos na lecitina de soja comercial pura e a permanência desses se presentes após a purificação.
- Inserir a lecitina de soja purificada de melhor resultado como agente emulsificante, apresentados nesse trabalho, em produto que possa ser avaliada a coloração.
- A depender do produto em que a lecitina de soja purificada for adicionada, realizar estudo de estabilidade da emulsão e capacidade emulsificante.
- Sobre a característica emulsificante, analisar quimicamente se ocorre a separação do fósforo das moléculas de fosfatídeos.

VII – REFERÊNCIAS

ABIOVE. Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais. Apresenta informações relevantes sobre a soja e produtos derivados da mesma. Disponível em: <<http://www.abiove.com.br/2010>>. Acesso em: 25/02/2010.

ABOISSA. Óleos Vegetais. Apresenta informações relevantes sobre a soja e produtos derivados da mesma. Disponível em: <http://www.aboissa.com.br/lecitina/2008>. Acesso em: 25/11/2008.

ACTIVIDADE LABORATORIAL (AL 1.5). Ensino Prático: 7. aula prática. Disciplina de Bioquímica do Ciclo Básico de Medicina, Universidade de Açores. Disponível em: http://www2.dq.ua.pt/qne/doc/AL1.5_Colormetria.pdf. Acesso em: 10/08/2007.

ALENCAR, E. R. de. Efeitos das Condições de Armazenagem sobre a qualidade da soja ((*Glycine max* (L.) MERRILL) e do óleo bruto. 2006. 102 f. Dissertação (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

ALLEN, R.R. et al. **Bailey`s Industrial Oil and Fat Products**. 4. ed. 1 v. New York: Ed John Wiley & Sons, 1953a. 758 p.

_____. **Bailey`s Industrial Oil and Fat Products**. 4. ed.. 2 v. New York: Ed John Wiley & Sons, 1953b. 398 p.

AMARAL, L. do.; JAIGOBIND, S. J.; JAIGOBIND, A. G. A. Óleo de soja. ITPR – Instituto de Tecnologia do Paraná: Dossiê Técnico – TECPAR, 2006. 32p.

ANDRADE JÚNIOR, D. R. de; SOUZA, R. B. de; SANTOS, S. A. dos; Revisão: Oxygen free radicals and pulmonary disease. São Paulo: Jornal Brasileiro de Pneumologia, jan/fev, 2005. p. 60-68.

ANDRADE, E. C. B. de. **Análise de alimentos: uma visão química da nutrição**. São Paulo: Livraria Varela, 2006. 22 p.

ARCHER, W. L. **Industrial Solvents Handbook**. New York: Marcel Dekker Inc. 1996. 331 p.

AOCS. American Oil Chemists' Society - Official methods of analysis of AOCS. Apresenta os seguintes métodos de análises físico-químicas específicas para a lecitina de soja: AOCS-Cc-13b-45 (Cor Lovibond), AOCS-Ca-5a-40 (Índice de Acidez), AOCS-Ca-3-46 (Insolúveis em Hexano), AOCS-Ja-4-46, (Insolúveis em Acetona), AOCS-Ja-8-87 (Índice de Peróxido), AOCS-Ja-2B-87 (Índice de Umidade), AOCS-Ja-11-87 (Índice de Viscosidade). Disponível em: <<http://www.accs.org/>> Acesso em: 28/10/2005.

ARAUJO, J. M. A. **Química de alimentos: Teoria e Prática**. 2. ed. Viçosa: Ed.UFV, 1999. 416p.

BAREAL, J. L.; REINEHR, C. O. Decaimento da concentração de clorofila na alface armazenada sob refrigeração e em presença de luz. In.: XXI Congresso de Iniciação Científica e Tecnológica em Engenharia e VI Feira de Protótipos. (CRICTE) Passo Fundo: UNIJUÍ. 2006. 3p.

BATISTUZZO, José Antônio de Oliveira. Formulário Médico Farmacêutico. 3ºed. São Paulo: Pharmabooks, 2006.

BEI, N. Otimização do processo de degomagem de óleo de soja por membrana cerâmica. Dissertação. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Mestrado em Tecnologia de Alimentos. Campinas, 2005. 102p.

BELÉN-CAMACHO, D. R.; ROMÁN, J. C.; PANTALEÓN, D. G.; MORENO-ÁLVAREZ, M. J.; MARTÍNEZ, C. M.; ESCALONA, C. E. O. Efecto del secado solar en los contenidos de humedad, carbohidratos, carotenoides totales e índice de peróxidos del mesocarpo de la palma coroba (*Attalea* spp.). Revista Interciencia, 2007. v. 32, n. 4. p.257-261.

BELITZ, H.D.; GROSCH, W. **Químicas de los alimentos**, 2. ed. Zaragoza: Ed.Acribia S.A, 1999. 1087 p.

BELLAVER, C. Peroxidação de lipídeos e índice de peróxidos. Qualy Foco Consultoria Ltda e ProEmbrapa. Concórdia, 2009. 2 p.

BRAGATO, M.; TENÓRIO, J. A. S. Comparação entre permanganato de potássio e peróxido de hidrogênio na descontaminação in-situ de benzeno em solo. **Revista PDT – Tratamento e Disposição final de Resíduos**. Agosto, 2007. p. 15-20.

BRASILEIRO, L. B.; COLODETTE, J. L.; Piló-Veloso, D. A utilização de perácidos na deslignificação e no branqueamento de polpas celulósicas. **Revista Quim. Nova**, Vol. 24, No. 6, 819-829, 2001.

BRUM, A. A. S.; ARRUDA, L. F. de; REGITANO d'ARCE, M. A. B. Métodos de Extração e Qualidade da Fração Lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. *Revista Química Nova*, v. 32, n. 4, 2009. p. 849-854.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Ed. Varela, 1992.

BUCZENKO,G.M.; OLIVEIRA,S.S.de; VON MEIEN, O.F.. Caracterização físico-química do subproduto obtido durante a desodorização do óleo de soja. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Curitiba: CEPPA, v. 20, n.1, p. 55-64, 2002.

CARAMURU ALIMENTOS LTDA. Apresenta informações relevantes sobre processo de obtenção e classificação da lecitina de soja comercial. Disponível em: <<http://www.caramurualimentos.com.br/2007>> Acesso em: 13/06/2007.

CARGILL S.A. Apresenta informações relevantes sobre processo de obtenção e classificação da lecitina de soja comercial. Disponível em: <<http://www.cargill.com.br/2007>> Acesso em: 20/07/2007.

CARVALHO, S. M. de. Efeito da adição de tocoferóis sobre a qualidade de óleo de soja embalado em pet. Dissertação. Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina: FURB. Florianópolis, 2007. 73p.

CARVALHO, C. R. L.. **Análises Químicas de Alimentos**, Campinas: FUNCAMP, 1990. 118 p.

CASTEJON, L. V. Avaliação da lecitina de soja através de análises físico-químicas e microbiológicas. Especialização *Lato Senso* em Controle de Qualidade na Indústria de Alimentos. FAZU – Faculdades Associadas de Uberaba. 2007, 84p.

CASTRO, G. M. de. Clarificação de lecitina de soja utilizando o peróxido de hidrogênio como agente clarificante. Trabalho de Conclusão de Curso. Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal do Triângulo Mineiro. 2009. 40 p.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2. ed. Campinas: Ed. UNICAMP, 2003. p.15-34

COSTA, R. C. da. Teores de clorofila, produção e qualidade de frutos de morangueiro sob telas de sombreamento em ambiente protegido. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF. Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal. Passo Fundo, 2009. 128 p.

DENNEY, R. C.; SINCLAIR, R. **Visible and ultraviolet spectroscopy**. Chichester: John Wiley & Sons, 1987.

DORSA, R. **Tecnologia de processamento de óleos e gorduras vegetais e derivados**. São Paulo: GEA/WESTFALIA, 1998. 227 p.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 3, n. 1, 1991, p. 39-45.

FELTRE, R. **Química Inorgânica**. Volume 1. Editora Moderna, São Paulo, 2008.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia S.A., 2000. 1201 p.

FERNANDES JÚNIOR, C. C. Integração energética da etapa de extração de óleo de soja, utilizando a análise pinch. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Mestrado em Engenharia Química, área de Desenvolvimento de Processos. Toledo, 2009. 76 p.

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

FIN, C.A. (PhD). As membranas celulares. Disciplina de Bioquímica Fundamental. FCMPA – Faculdade de Ciências Médicas. Disponível em: <http://www.bioquimica.ffcampa.tche.br/estruturalipídios/membranas%20celulares.ppt>. Acesso em: 14/08/2007.

FONTANA, J. D.; MENDES, S. V.; PERSIKE, D. S.; PERACETTA, L. F. Carotenóides: cores atraentes e ação biológica. *Revista de Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, 2000. p. 40-45p.

FONSECA, M. R. M. de. **Completamente Química: Físico-química**. São Paulo: FTD, 2001. p. 18-24.

GALLINA, D. A. Influência do tratamento UHT na qualidade do queijo cremoso tradicional e light. Dissertação (mestrado) Ciência e Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Doutorado em Tecnologia de Alimentos Campinas – SP 2005 221f.

GARBELOTTO, P. **Solventes Industriais: seleção, formulação e aplicação**. São Paulo: Blucher/Rhodia, 2007.

GRANATO, D. Emulsão de soja e goiaba: caracterização físico-química, cromática, sensorial e de estabilidade Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná. Mestrado em Tecnologia de Alimentos. Curitiba, 2009. 183p.

GÓMEZ, M. E. B.; MENDONÇA JÚNIOR, C. X. de; MANCINI FILHO, J. Estabilidad oxidativa de huevos enriquecidos com ácidos grasos poliinsaturados Omega 3, frente a antioxidantes naturales. São Paulo: Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas (*Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*), vol. 39, n. 4, out./dez., 2003 p.425-432.

HACKBART, L. M. Equilíbrio líquido-líquido de sistemas contendo fenol-água solvente: obtenção e modelagem termodinâmica. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Engenharia, Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná. Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Térmicos. Curitiba. 2007. 120 p.

HASENHUETTL, G. L.; HARTEL, R. W. **Food Emulsifiers and their applications.** New York: Springer, 2008. 426 p.

IAL. INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz.** 2. ed. São Paulo, 2002.

IQBC – Produtos químicos Ltda. PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO, 2005. p. 1-12

KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. *Revista Ciência Agrotécnica*, v. 29, n. 5, 2005. p. 1008-1014.

KOZAN, J. V. B.; SILVA, R. P. da; LIMA, A. W. O.; SERRANO, S. H. P.; ANGNES, L. Quantificação de Peróxido de Benzoila Utilizado Enzimas Peroxidase Naturalmente Imobilizadas em Fibra de coco (Cocos nucifera, L.). Sociedade Brasileira de Química (SBQ) 30a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo: Departamento de Química Fundamental / IQUSP, [2010] 2p.

KUCEK, K. T. Otimização da transesterificação etílica do óleo de soja em meio alcalino. Dissertação. Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná. Mestrado em Química Orgânica. Curitiba, 2004. 123 p.

KUNITA, M. H. Enxertia de metacrilato de glicidila em filmes poliméricos por processo com fluidos supercríticos. Tese (doutorado) – Departamento de Química. Universidade estadual de Maringá, 2005. 139 p.

LANFER-MARQUEZ, U. M. O papel da clorofila na alimentação humana: uma revisão. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas (*Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*), v. 39, n. 3, 2003. P. 227-242.

LEZEROVICH, A. Determination of colored substances in soybean lecithin. Chemistry and Materials Science. *Journal of the American Oil Chemistry's Society*. 1985. 5 p.

LOPES, K. da S. Avaliação da etapa de clarificação do óleo de soja através de planejamento composto central e investigação do potencial de melhoria energética no processamento da soja. Dissertação. Pós-Graduação em Engenharias (PIPE), da Universidade Federal do Paraná. Mestrado em Engenharia de Processos Térmicos e Químicos. Curitiba. 2008 156 p.

MACLEOD, A.J. **Instrumental methods of food analysis.** New York: John Wiley and Sons, 1973.

MAEDA S/A. Indústria processadora de óleos. Disponível em: <http://www.maeda.com.br/>. Acesso em: 16/01/2010.

MALHEIROS, G. C. Estudo da alteração da cor e degradação da Clorofila durante armazenagem de erva-mate Tipo Chimarrão. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria. Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Santa Maria, 2007. 104 p.

MANZKE, N. E.; PEREIRA, L. de M.; BECKER, S.; SILVA, A. E. F. da.; XAVIER, E. G. Substituição do éter de petróleo por hexano na extração de gordura em grãos e pastagens. XVI Encontro de Química da Região Sul: FURB, 2008. 2 p.

MARCONCIN, S. A. Respostas fisiológicas em cães suplementados com lecitina de soja e lecipalm®: estudo sobre os parâmetros metabólicos, bioquímicos e hematológicos. Dissertação. Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008. 121 p.

MARKBRAN. Apresentam informações sobre diversos produtos, fornecimento e utilização em secagens. Disponível em: <<http://www.markbran.com.br/leticina/2005>>. Acesso em: 17/10/2005.

MARTINES, E. Borra de soja. Paraná: Instituto de Tecnologia do Paraná – TECPAR, 2006. 3p.

MATTOS, I. L. de; SHIRAI SHI, K. A., BRAZ, A. D. FERNANDES, J. R. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. **Revista Química Nova**, Vol. 26, No. 3, 2003. p. 373-380.

MELO, E. Química Geral: soluções e misturas de líquidos, compostos iônicos e moleculares.
IST- Tagus: Guia de Labortórios. 2006. 30p.

MENDONÇA, A. C. Atividade antioxidante de poliaminas e comparação com produtos naturais e sintéticos. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. Mestrado em Ciência de Alimentos. Belo Horizonte, 2009. 87 p.

MERTINS, O.; SEBBEN, M.; SCHNEIDER, P. H.; POHLMANN, A. R.; SILVEIRA, N. P. da. Caracterização da pureza de fosfatidilcolina de soja através de RMN de ^1H e de ^{31}P . **Revista Química Nova**. 2008. V. 31, n. 7.p. 1856-1859.

MIYASAKA,S.; MEDINA, J.C. **A soja no Brasil**. 1. ed. Campinas: Ed. ITAL, 1981. p. 909-1001

MORETTI, C. L. **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças** / Celso Luiz Moretti — Brasília: Embrapa Hortaliças, 2007. 531 p.

MORETTO, E; FETT. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela, 1998. 140p.

MORITA, T.; ASSUPÇÃO, R. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes: Padronização, Preparação e Purificação**. 2. ed. São Paulo: Ed. Edgard Blücher Ltda, 1967. 627p.

MORITZI, B.; TRAMONTE, V. L. C. Biodisponibilidade do licopeno. Campinas: **Revista de Nutrição**. Mar/Abr, Vol 19, n 2, 2006. p. 265-273.

NUNES, N. S. I.. O efeito de diferentes fontes de licopeno sobre o estresse oxidativo. Dissertação de Mestrado do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná, Florianópolis, 2003. 92p.

NEUMUNZ, G.M. **Refinería de aceite vegetal: Fábricas de alimentos – procesos, equipamientos y costos**. Zaragoza: Ed. Acribia S.A., 1991. 241 p.

NORMAN N. P. **Food Science**. 3. ed. Westport: AVI Publishing Company Inc., 1980. p. 52-53

NOVA, S. P. V. Novos Macro ciclos de Lantanídeos: Marcadores Fotônicos Projetados para Aplicações Biotecnológicas. Tese (Doutorado). Departamento de Química Fundamental. Doutorado em Ciências, 2003. 203 p.

OETTERRER, M.; REGITANO d'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e Tecnologia de Alimentos.** Barueri: Manole, 2006. p 196-351.

OLIVEIRA, C. G. de. Proposta de modelagem transiente para clarificação de óleos vegetais. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001. 161p.

OLIVEIRA, F. M. N. de. SECAGEM E ARMAZENAMENTO DA POLPA DE PITANGA. Dissertação (mestrado) em Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas. Campina Grande, Paraíba ABRIL, 2006. 197p.

OSAWA, C. C. Testes rápidos (*kits*) para avaliação da qualidade de óleos, gorduras e produtos que os contenham e sua correlação com os métodos oficiais da AOCS. Dissertação. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Mestrado em Tecnologia de Alimentos. Campinas, 2005. 404 p.

PARK, K. J.; ANTONIO, G. C.: Análises de materiais biológicos. Universidade estadual de campinas faculdade de engenharia agrícola, 2006. 21 p.

PAVANELLI, A. P. Aditivos para panificação: conceitos e funcionalidade. Oxiteno S/A Indústria e Comércio: Artigo Técnico. A.P.ABIAM - Associação Brasileira da Indústria de Aditivos e Melhoradores para Alimentos e Bebidas. 2000. 1-6 p.

PECSOK, L. P.; SHIELDS, L. D. **Modern methods of chemical analysis.** New York: John Wiley & Sons, 1968.

PEREDA, J. A. O. **Tecnologia de alimentos.** Porto Alegre: Artmed, 2005. 294p.

PERKAMPUS, H.H. **UV_VIS Spectroscopy and Its Applications.** Germany: Springer Laboratory, 1992, p. 3.

PIMENTEL, C. **Metabolismo de carbono na agricultura tropical.**- Seropédica: Edur, 1998. 150 p.

PRADO-FILHO, L. G. do. Umidade Relativa de Equilíbrio e Oxidação de Lipídeos em Farinhas de Castanha do Pará, de Macadâmia e de Soja. **Science of Agriculture.** Piracicaba, 1994. p. 357-362.

POLEDNA, S. R. C.. Processo de fabricação do peróxido de hidrogênio. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. SBRT/SENAI-RS/003502 de 26 de Out. 2005. Rio Grande do Sul: SBRT, 2005. Disponível em: <http://sbrt.ibict.br/upload/sbrt1629.pdf>. Acesso em 21 de Jun. 2006.

POMERANZ, Y.; MELOAN, C. E. **Food analysis: theory and practice.** Westport: AVI Publishing Company Inc., 1982.

RAGNINI, C. A. R.; DI IGLIA, R. A.; BERTAZZOLI, R. Considerações sobre a eletrogeração de peróxido de hidrogênio. **Revista Química Nova**, Vol. 24, No. 2, 2001. p. 252-256.

REDA, S. Y., CARNEIRO, P. I. B. Óleos e Gorduras: aplicações e implicações. **Revista Analytica**. 2007. N. 27, Fevereiro/Março. p. 60-67.

REGITANO-d`ARCE, M. A.B. O grão como fator de qualidade do óleo. **Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras**. 2002, 10 p.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos.** São Paulo: Blucher, 2007. 184 p.

SANT`ANNA, L. C. Avaliação da composição química da semente de abóbora (*Cucurbita pepo*) e do efeito do seu consumo sobre o dano oxidativo hepático de ratos (*Rattus norvegicus*). Dissertação. Pós-Graduação em Nutrição, na área de Metabolismo e Dietética da Universidade Federal de Santa Catarina. Mestrado em Nutrição. Florianópolis, 2005. 61p.

SANTOS, K. L.; ZANETTI, E. L. S. **A soja no Brasil: Obtenção, Purificação e Usos da lecitina da soja.** 1. ed. Campinas: ITAL, 1981. p. 963-971.

SCHOEFS B. Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. **Trends in Food Science & Technology**, v.13, p.361-371, 2002.

SCHOLFIELD, C. R.; DUTTON, H. J.; DIMLER, R. J. Carbohydrate Constituents of Soybean Lecithin. **Jornal of AOCS**, Illinois, 1952. p. 293-298.

SCHUCK, M. Degomagem de óleo de soja por ultrafiltração. Dissertação. Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina. Mestrado em Engenharia de Alimentos. Florianópolis, 2004. 78p.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**. V. 17, n. 2, Campinas, 2004. p. 227-236.

SILVA, R. do N. et al. Comparação de métodos para determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, Campinas, 2003, p. 337-341.

SILVA, P. R. C. da. Classificação de água oxigenada (em volumes). RETEC/BA – Rede de Tecnologia da Bahia. 2006.

SOARES, M. da S. Processamento de óleo de soja utilizando ultrafiltração em miscela na etapa de degomagem e na obtenção de lecitina. Tese (doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Doutorado em Tecnologia de Alimentos. Campinas, 2004. 181 p.

SOLER, M. P.; VITALI, A. A; QUEIROZ, M. B.; SCAMPARINI, A.R.P. Aplicação de hidrocoloides na estabilização de emulsões simuladas do Leite de Coco. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 4, p. 57-66, 2001.

SOUZA, C. D. D. de. Regeneração térmica de argilas comerciais para reutilização na clarificação de óleo de soja. Dissertação. Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina. Mestrado em Engenharia Química, 2002. 99 p.

SOUZA, S. P. L. de.; SILVA, J. F. M. da.; MATTOS, M. C. S. de. N-halossacarinas: reagentes úteis (e alternativos) em síntese orgânica *Revista Química Nova*. Vol. 29, No. 5, 2006. p. 1061-1064.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W. DO; HECKTHEUER, L. H. H. As Clorofilas: Revisão. Santa Maria: *Revista Ciência Rural*, v.35, n.3, mai-jun, 2005. p.748-755.

REIS, F.R. Efeito dos processos de branqueamento e acidificação sobre a cor e a absorção de gorduras de batatas-palha. Dissertação (Mestrado) - Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007. 47 p.

RIBEIRO, A. P. B. Recuperação de solvente em miscelas óleo de soja/hexano utilizando tecnologia de membranas. Dissertação. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Mestrado em Tecnologia de Alimentos, Campinas, 2005. 185 p.

TELLES, M. M. Caracterização dos grãos, torta e óleo de três variedades de girassol (*Helianthus annuus* L.) e estabilidade do óleo bruto. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina. Mestrado em Ciência dos Alimentos. Florianópolis, 2006. 79 p.

TRANCOSO, P. S. da SILVEIRA. Avaliação da efetividade do clareamento de blocos dentais bovinos com peróxido de hidrogênio a 35%. Dissertação. Mestrado Profissionalizante em Reabilitação Oral da Universidade Veiga de Almeida. Rio de Janeiro, 2006.

UENOJO, M. MARÓSTICA JÚNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. *Revista Química Nova*, v. 30, n. 3, 2007. p. 616-622.

VAN NIEUWENHUYZEN, W.; TOMÁS, M. C. Update on vegetable lecithin and phospholipid technologies. Wiley: VCH Verlag GmbH & Co. KGaA Weinheim Lecithin Technologies. *Lipid Science Technology*, 2008. P. 472-486

VANNUCCHI, H.; MOREIRA, E. A. M.; CUNHA, D. F. da.; FRANCO, M. V. M. J.; BERNARDES, M. M.; JORDÃO JÚNIOR, A. A. Papel dos Nutrientes na Peroxidação Lipídica e no sistema de defesa antioxidante. Ribeirão Preto: Medicina. Simpósio de Nutrição Clínica., Cap. III, v. 31, 1998. p. 31-44.

VILLA, R. D.; SILVA, M. R. A. da.; NOGUEIRA, R. F. P. Potencial de aplicação do processo foto-fenton/solar como pré-tratamento de efluente da indústria de laticínios. *Revista Química Nova*, Vol. 30, No. 8, 2007. p. 1799-1803.

VISSOTTO, F. Z.; MONTENEGRO, F. M.; SANTOS, J. M. dos.; OLIVEIRA, S. J. R. de. Avaliação da Influência dos Processos de Lecitinação de Aglomeração nas propriedades físicas de achocolatado em pó. Campinas: *Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2006. jul-set. p. 666-671.

VOGEL, *Análise Química Quantitativa*, 5. ed. Inglaterra: JC Editora, cap. 17, p. 521-588, agosto, 1988.

VON ELBE, J. H.; SCHWARTZ, S. J. In: FENNEMA, O. W. *Química de los alimentos*. 2.ed. Zaragoza : Wisconsin - Madison, 2000. Cap.10, p.773-782.

ZANATTA, C. F. Determinação da composição de carotenóides e antocianinas de camu-camu (*myrciaria dubia*). Dissertação. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Mestrado em Ciência de Alimentos, 2004. 120 p.