

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

PRISCILA DIATCHUK BORDINASSI

**DETERMINAÇÃO DE FOSFOLÍPIDIOS POR MÉTODO DE TURBIDEZ:  
PRECISÃO E INFLUÊNCIA DE FATORES FÍSICO-QUÍMICOS DO ÓLEO  
DE SOJA**

LONDRINA  
2022

PRISCILA DIATCHUK BORDINASSI

**DETERMINAÇÃO DE FOSFOLÍPIDIOS POR MÉTODO DE TURBIDEZ:  
PRECISÃO E INFLUÊNCIA DE FATORES FÍSICO-QUÍMICOS DO ÓLEO  
DE SOJA**

**DETERMINATION OF PHOSPHOLIPIDS BY TURBIDITY METHOD: PRECISION AND  
INFLUENCE OF CHEMICAL PHYSICAL FACTORS OF SOYBEAN OIL.**

Dissertação de Mestrado Profissional apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos na Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dra. Mayka Reghiany Pedrão

Co Orientador: Prof. Dr. Fábio Augusto Garcia Coró

LONDRINA  
2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos.

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação**  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
**Campus Londrina**



PRISCILA DIATCHUK BORDINASSI

**DETERMINAÇÃO DE FOSFOLÍPIDIOS POR MÉTODO DE TURBIDEZ: PRECISÃO E INFLUÊNCIA DE FATORES FÍSICO-QUÍMICOS DO ÓLEO DE SOJA**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Tecnologia De Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia De Alimentos.

Data de aprovação: 16 de Dezembro de 2022

Dra. Mayka Reghiany Pedrao, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Neusa Fatima Seibel, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Pedro Henrique Freitas Cardines, Doutorado - Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 16/12/2022.

*“Dedico primeiramente essa dissertação a Deus, que me fez perseverar mesmo nas maiores atribulações desses dois anos.*

*Ao meu amado Avô Pedro Bordinassi, que sempre me incentivou a buscar cada vez mais os meus sonhos nessa vida, uma formação e conhecimento, o perdi durante o processo do mestrado, e sei o quanto ele ficaria feliz com esta fase da minha vida.*

*Também aos meus pais Marco e Rose, meu esposo Leandro, irmã Maria R. e minha madrinha Valéria que me deram força e várias formas de apoio para continuar mesmo nos dias mais difíceis. Amo muito vocês”*

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar a Deus, que na sua infinita, bondade sempre me abençoou e me deu forças para nunca desistir, mesmo nos momentos mais difíceis dessa etapa da minha vida. Sem a sua presença nada disso seria possível, e certamente eu não estaria aqui concluindo essa etapa.

Devo toda essa alegria a minha família que me apoiaram e torceram por mim em toda essa caminhada do mestrado, nunca me deixando desanimar, seja qual fosse a dificuldade.

Gostaria de agradecer também aos meus orientadores, Professora Dra. Mayka Reghiany Pedrão e Prof. Dr. Fábio Augusto Garcia Coró, responsáveis pela realização deste trabalho, que não desistiram de mim durante esses dois anos e tiveram muita paciência com os meus erros, foram excepcionais obrigada pelo apoio, ensinamentos, compreensão, amizade e valorização desta pesquisa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, pelos ensinamentos. Agradeço, também, ao CNPq e UTFPR pelo apoio financeiro para a realização desse projeto. Agradeço aos membros da banca examinadora, por terem aceitado o convite, pela disponibilidade e contribuições para este trabalho.

**OBRIGADA À TODOS!**

BORDINASSI, Priscila Diatchuk. **DETERMINAÇÃO DE FOSFOLIPÍDIOS POR MÉTODO DE TURBIDEZ: PRECISÃO E INFLUÊNCIA DE FATORES FÍSICO QUÍMICOS DO ÓLEO DE SOJA**. 43 f. Projeto de Pesquisa (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2022.

## RESUMO

A qualidade do óleo de soja produzido depende de muitos fatores desde o plantio até o processamento. Os fosfolipídios têm alto valor comercial quando são extraídos do óleo bruto, pois quando hidratados tornam-se a lecitina de soja, um emulsificante natural. Além disso, a extração dos fosfolipídios facilita os próximos processos como a neutralização, a clarificação e a desodorização do óleo. As indústrias processadoras de soja realizam em seus laboratórios análises para o controle do teor de fosfolipídios no óleo de soja, com o intuito de controlar o processo para a etapa posterior de refino, evitando assim um alto gasto com insumos para a remoção dos fosfolipídios, bem como atender a legislação vigente que estabelece um máximo de 1 ppm ou seja 1 grama/ 1000Kg de fosfolipídios no óleo refinado. Geralmente os fosfolipídios são determinados por análise de colorimetria com o auxílio de espectrofotômetro UV-VIS onde é realizada a leitura do composto obtido de azul de molibdênio, cuja intensidade da cor é proporcional à concentração de íons fósforo presentes na amostra, essa análise demora em torno de 4 horas para ser finalizada. Uma das metodologias alternativas é o método de turbidez. Este aparelho (Turbidímetro) tem o propósito de reduzir o tempo de análise em 95%, entretanto, há dúvidas quanto à precisão, pois se acredita que fatores físico-químicos deste óleo podem causar interferência na leitura do turbidímetro. Esta proposta procurou então comparar as duas metodologias de determinação de fosfolipídios em óleo degomado (colorimetria e turbidímetro), de amostras internas da indústria parceira que apresentam variações nas propriedades físico-químicas, de clorofila, acidez e sabões. Para esta finalidade ferramentas estatísticas como análise de correlação de Person, análise do valor-p, e modelos de regressão foram utilizados para avaliar a influência dos parâmetros físico-químicos obtidos nos resultados das 42 amostras. Contudo foi concluído através da correlação de Person que existem diferenças significativas entre os dois métodos para análise de fosfolipídios perdendo alguns conceitos de validação: como robustez e exatidão. Foi realizada a montagem de equações sobre os dois métodos de análise utilizando o modelo de regressão, onde foi constatado uma grande influência dos fatores físicos químicos Clorofila e Sabões nas leituras, principalmente pelo método de Turbidez segundo os valores apontados nas equações. Conclui-se que as análises por espectrofotômetro traz mais confiança de resultado aos laboratórios que trabalham com fosfolipídios mesmo com um tempo maior para esta, podendo a análise de Turbidez passar por pesquisas mais aprofundadas e melhora no método, levando em consideração as particularidades de cada indústria para isto.

**Palavras-chave:** Controle de qualidade. Óleo Degomado. Turbidímetro

BORDINASSI, Priscila Diatchuk. **DETERMINATION OF PHOSPHOLIPIDS BY TURBIDITY METHOD: PRECISION AND INFLUENCE OF CHEMICAL PHYSICAL FACTORS OF SOYBEAN OIL**. 43 f. Research Project (Professional Master in Food Technology) - Federal Technological University of Paraná, Londrina, 2022.

### **ABSTRACT**

The quality of soybean oil produced depends on many factors from planting to processing. Phospholipids have high commercial value when extracted from crude oil, because when hydrated they become soy lecithin, a natural emulsifier. In addition, phospholipid extraction facilitates upcoming processes such as oil neutralization, clarification and deodorization. The soybean processing industries carry out in their laboratories analyses to control the phospholipid content in soybean oil, in order to control the process for the subsequent stage of refining, thus avoiding a high expenditure with insum for the removal of phospholipids, as well as to meet the current legislation that establishes a maximum of 1 ppm i.e. 1 gram/ 1000Kg phospholipids in refined oil. Phospholipids are usually determined by colorimetry analysis with the aid of uv-vis spectrophotometer where the compost obtained from molybdenum blue is performed, whose color intensity is proportional to the concentration of phosphorus ions present in the sample, this analysis takes about 4 hours to complete. One of the alternative methodologies is the turbidity method. This device (Turbidimeter) has the purpose of reducing the analysis time by 95%, however, there are doubts as to the accuracy, because it is believed that physical-chemical factors of this oil can cause interference in the reading of the turbidimeter. This proposal then sought to compare the two methodologies determination of phospholipids in degummed oil (colorimetry and turbidimeter), from internal samples of the partner industry that present variations in the physical-chemical, chlorophyll, acidity and soap properties. For this purpose, statistical tools such as Person correlation analysis, p-value analysis, and regression models were used to evaluate the influence of the physical-chemical parameters obtained in the results of the 42 samples. However, it was concluded through the Person correlation that there are significant differences between the two methods for phospholipid analysis, losing some validation concepts: such as robustness and accuracy. Equations were assembled on the two methods of analysis using the regression model, where a great influence of the chemical physical factors Chlorophyll and Soaps was observed in the readings, mainly by the Turbidity method according to the values indicated in the equations. It is concluded that spectrophotometer analyses bring more confidence of results to laboratories that work with phospholipids even with a longer time for this, and turbidity analysis can undergo further research and improvement in the method, taking into account the particularities of each industry for this.

**Keywords:**. Quality control. Degummed oil. Turbidimeter.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Fluxograma geral do processamento industrial da soja.....	9
<b>Figura 2</b> – Fluxograma geral do processamento de óleo degomado.....	12
<b>Figura 3</b> – Cálculo para Sabões em óleo.....	21
<b>Figura 4:</b> Faixa de correlação de Pearson.....	26
<b>Figura 5:</b> Correlação de Pearson entre as variáveis.....	29



## LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

<b>Gráfico 1</b> – Exemplo de curva linear de padronização .....	17
<b>Tabela 1</b> – Equações disponibilizadas pela AOCS.....	20
<b>Tabela 2</b> - Amostragem realizada para desenvolvimento do experimento.....	18
<b>Gráfico 2</b> – Curva padrão do óleo de soja degomado pelos dois métodos de análise.	23
<b>Tabela 3</b> – Correlação de Pearson para os parâmetros Colorimétrico, Turbidez, acidez, clorofila e sabões em óleo de soja degomado.....	27

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>5</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>8</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	8
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	8
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>9</b>
3.1 PROCESSO DE OBTENÇÃO DO ÓLEO DE SOJA.....	9
3.1.1 Fosfolipídios.....	10
3.1.2 Processo de degomagem em óleo de soja.....	11
3.2 SABÕES EM ÓLEO DEGOMADO.....	13
3.3 MÉTODOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE FOSFOLIPÍDIOS.....	13
3.4 CONTROLE DE QUALIDADE E PARÂMETROS ANALÍTICOS DE VALIDAÇÃO	14
3.4.1 Seletividade/especificidade.....	16
3.4.2 Linearidade.....	16
3.4.3 Precisão e Exatidão.....	17
3.4.4 Robustez.....	17
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>19</b>
4.1 MATERIAL.....	19
4.2 MÉTODOS.....	19
4.2.1 Quantificação de fosfolipídios em método colorimétrico.....	19
4.2.2 Quantificação de fosfolipídios pelo método de turbidímetro .....	20
4.2.3 Determinações físico químicas em óleo degomado.....	20
4.2.3.1 <i>Determinação de sabões em óleo degomado</i> .....	20
4.2.3.2 <i>Determinação de clorofila em óleo degomado</i> .....	21
4.4 TRATAMENTO DOS DADOS.....	21
<b>5 RESULTADO E DISCUSSÃO</b> .....	<b>23</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>32</b>
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A soja é uma das culturas agrícolas de maior importância econômica na atualidade, atingindo a produção no Brasil de 123 milhões de toneladas em 2022. As principais regiões produtoras de soja no Brasil são Mato Grosso com 39 milhões de toneladas, Paraná com 12 milhões (EMBRAPA, 2022). Os principais produtos obtidos do grão são: o farelo de soja, casca, óleo vegetal de soja e lecitinas, utilizadas como emulsificantes naturais na indústria.

A lecitina é uma mistura de compostos orgânicos (fosfolipídios) constituídos por um ou mais ácidos graxos, ligados a um radical de glicerina, que por sua vez pode estar associado a um radical fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina ou fosfatidilinositol (CASTEJON, 2015), os quais são em sua maioria fosfolipídios solúveis extraídos na degomagem por hidratação do óleo bruto.

As moléculas de fosfolipídios possuem uma parte polar hidrofílica e outra apolar lipofílica, responsável pela capacidade de redução da tensão interfacial entre uma mistura óleo/água, por exemplo. Esse poder emulsificante permite a obtenção de emulsões do tipo óleo/água ou água/óleo (CASTEJON, 2015).

Tais fosfolipídios possuem grande importância para a produção de lecitinas, mas são pouco desejáveis no óleo refinado. Esses fosfolipídios podem interferir no processo de refino do óleo de soja trazendo mais custo à empresa no momento da neutralização química e clarificação do óleo. Além disso, depois de finalizado o processo de refino um teor alto de fosfolipídios, acima de 1ppm que é o limite da legislação pode contribuir com o aumento de degradações do óleo já refinado, principalmente em aspectos sensoriais, inaceitáveis nos padrões estipulados na legislação vigente deste produto.

A quantidade presente dos fosfolipídios sofre variação conforme parâmetros de qualidade da soja processada. Uma soja considerada de boa qualidade pode apresentar, em seu óleo bruto, de 1% a 3,2% de fosfolipídios totais, sendo estes aproximadamente 90%, solúveis e o restante, insolúveis (SEIBEL, 2018). Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) Portaria nº 795, de 1993, óleos vegetais degomados poderão conter no máximo 0,030 % de fosfolipídios insolúveis (BRASIL, 1993).

Por esta razão, as indústrias processadoras de derivados de soja controlam o teor dos fosfolipídios, principalmente no óleo refinado com o monitoramento através de análises constantes. Na indústria de extração e refino de óleo de soja, um dos métodos mais utilizados nesse controle, é o da American OilChemists' Society (AOCS) Ca 12 55 – 1989, onde a determinação de fósforo é feita por colorimetria via espectrofotômetro UV-VIS. Nesta metodologia, o fosfato reage com o molibdato, em meio fortemente ácido, para formar o complexo fosfomolibdato, que é reduzido a azul de molibdênio, cuja intensidade da cor é proporcional à concentração de íons fósforo presentes na amostra (LEAL, 2008).

Este método é considerado confiável pela indústria por várias razões como ser reconhecido pela AOCS o que demonstra que um grande estudo de validação foi realizado, também por várias indústrias terem vivência com este método e identificar que ele se aproxima muito com concentrações reais presentes no processo, porém por ser um método que usa muitas etapas com reações químicas é demorado e com gasto considerável de reagentes. Com o avanço da tecnologia e com alta demanda para o controle de qualidade, os laboratórios começaram a investir em equipamentos para reduzir o tempo de análise. No método colorimétrico (convencional) por espectrofotometria, a análise demora aproximadamente 4 horas, mas há metodologias mais rápidas onde se consegue obter um resultado em 10 minutos aproximadamente (AOCS, 2017).

Um desses métodos é o que determina o teor de fósforo com turbidímetro. Trata-se de uma análise que apresenta como principal vantagem a rápida obtenção do resultado. Todavia há de se ressaltar que as indústrias de soja têm observado algumas incoerências. Para obter uma leitura confiável, há necessidade de mais estudos aprofundados para o equipamento. No método de Fosfolipídios por Turbidez (nefelométrico) recomendado pela AOCS Ca 19-86 de 2017 cita nas observações que níveis altos de sabões podem levar a resultados errôneos (AOCS,2017). Demonstrando assim que sabões a partir de certa concentração influenciam na leitura, a grande dúvida é dos outros fatores físico químicos, que podem ou não também alterar a leitura deste equipamento.

Sendo assim, existe a necessidade de saber se existe essa influencia dos demais fatores e se é crítica para a análise, e partir de quais valores os aspectos físico-químicos podem comprometer a confiabilidade da análise, a partir disto

analisar se é viável desenvolver ou aprimorar um método que realmente possa ser eficiente e minimize erros.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar as metodologias de determinação de fosfolipídios em óleo de soja degomado por colorimetria e por turbidez em relação à precisão dos resultados e menor tempo de análise.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar o teor de fosfolipídios em óleo degomado utilizando o método colorimétrico (espectrofotométrico) e o método turbidez.
- Comparar as condições das análises e os resultados obtidos pelos dois métodos utilizados.
- Quantificar teores de acidez, clorofila e sabões das amostras do óleo degomado utilizado nas análises.
- Avaliar se os teores de Acidez, sabões e clorofila influenciam nos resultados obtidos de fosfolipídios no método de Turbidez.

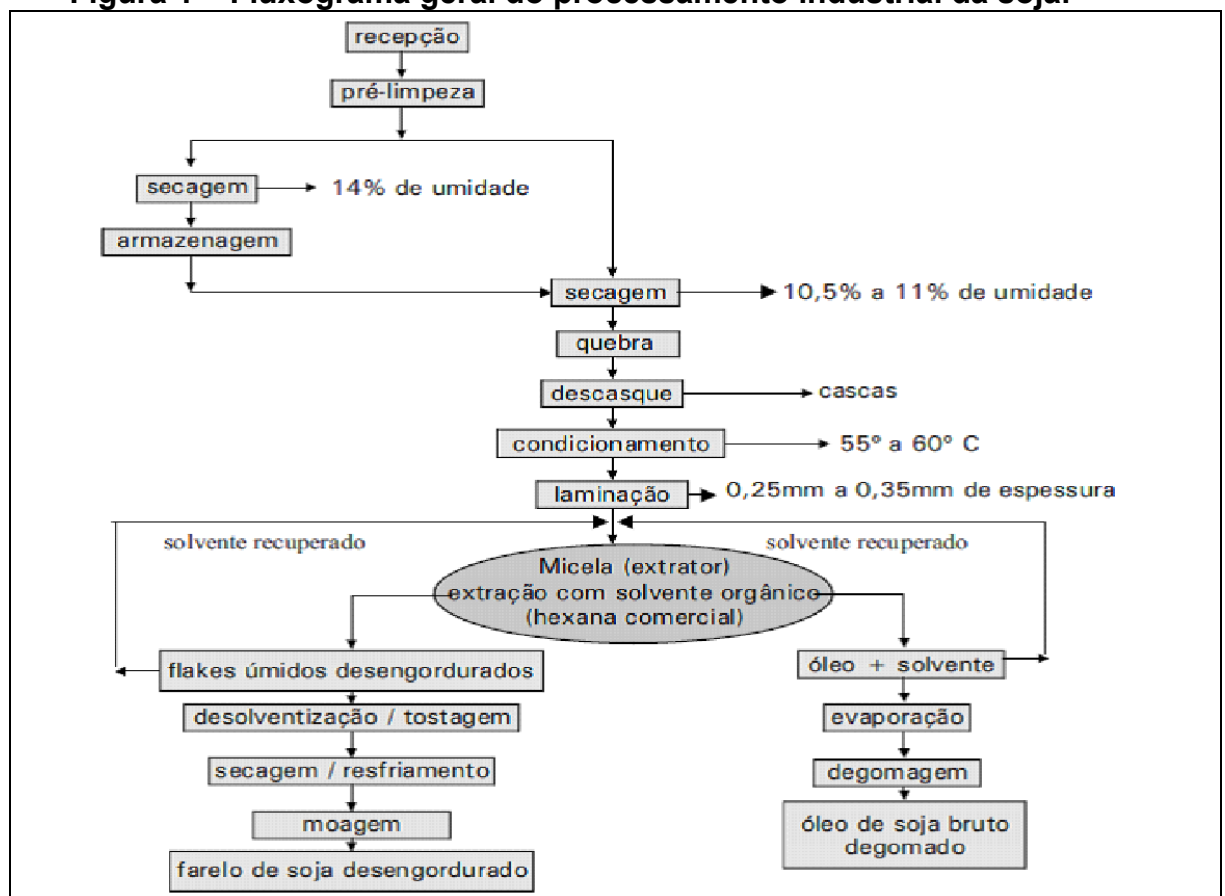
### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 PROCESSO DE OBTENÇÃO DO ÓLEO DE SOJA

No processo de obtenção do óleo refinado de soja, há várias etapas como é demonstrado na Figura 1. Quando é feita a extração de óleo de um material, se o conteúdo de óleo é superior a 20% realiza-se uma prensagem do material. Se o teor de óleo é inferior a 20%, utiliza-se a extração por solvente, diretamente (BRUM et al. 2009).

Sabemos no geral que a soja alcança grande parte das vezes facilmente este teor de 20%. A extração de óleo com solventes é um processo físico, pois não ocorre reação química. A escolha do método de extração influencia de maneira significativa no resultado final (Maandarino; Roessing, 2001).

**Figura 1 – Fluxograma geral do processamento industrial da soja.**



Fonte: Maandarino; Roessing (2001).

No momento após o descascamento e trituração dos grãos acontece o cozimento, a expansão da massa de grãos obtida e a extração do óleo bruto com o auxílio de um solvente orgânico que geralmente é o hexano. A extração sólido-líquido ou separação de solutos presentes no sólido por meio de solvente líquido é também denominada lixiviação. Nas indústrias de alimentos, esse processo é bastante comum: produção de óleos vegetais, extração com água de açúcar de beterraba, obtenção de produtos farmacêuticos, remoção de taninos, obtenção de minerais puros são alguns exemplos (GEANKOPOLIS, 2003).

A massa expandida já com pouca concentração de óleo segue para a desolventização, tostagem para a quebra de urease de todo o farelo utilizados na alimentação animal, secagem, resfriamento para obtenção do farelo de soja este então é armazenado e utilizado em grande parte para a alimentação animal como aves, suínos e gado (MAANDARINO;ROESSING,2001).

No caso do óleo extraído, o solvente utilizado na lavagem da massa expandida com um teor de óleo bruto de soja, segue para a evaporação e recuperação deste solvente reutilizado posteriormente no processo, após é iniciado os tratamentos para o óleo bruto extraído o qual possui certas substâncias ainda indesejáveis para a indústria como, por exemplo, fosfolipídios hidratáveis e não hidratáveis, que podem no total chegar a valores de 1000 ppm, cor elevada e acidez, propriedades que limitam o seu emprego e estabilidade. Para adequar o óleo, este passa pelas etapas de degomagem, neutralização química, clarificação e desodorização assim obtendo o óleo refinado para a venda como é conhecido (RIBEIRO, 2016).

### **3.1.1 Fosfolipídios**

Os fosfolipídios são substâncias de composição química semelhante aos lipídeos, mas contendo nitrogênio e fósforo. Estes compostos são encontrados em várias sementes oleaginosas, mas estão presentes na soja em maiores concentrações, são solúveis em álcool e insolúveis em acetona (SMITH, 1972).

As moléculas de fosfolipídios possuem uma parte polar hidrofílica e outra apolar lipofílica, responsável pela capacidade de redução da tensão interfacial entre uma mistura óleo/água. Na membrana celular as frações polares ficam voltadas para



o exterior e as frações apolares para o interior. Essa capacidade permite a obtenção de emulsões do tipo óleo/água ou água/óleo (CASTEJON, 2015).

Os fosfolipídios são definidos estruturalmente pela presença de um radical de glicerol, esterificado com ácidos graxos e com ácido fosfórico. O ácido fosfórico apresenta-se também esterificado com um álcool aminado (colina e etanolamina) ou um aminoácido (serina) ou mesmo um poliálcool cíclico chamado de inositol (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Os ácidos graxos das moléculas de fosfolipídios variam quanto ao número de insaturações e comprimento da cadeia. Normalmente, os ácidos graxos esterificados no centro da molécula do fosfolipídio são insaturados, já os ácidos graxos localizados na extremidade da molécula, no lado oposto ao sítio hidrofílico, ácido fosfórico, são ácidos graxos saturados (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

O óleo de soja extraído com boa qualidade, num processo de extração com solvente pode conter entre 1,1% a 3,2 % de fosfolipídios totais, onde 90% deste são hidratáveis e 10% não hidratáveis (SANTOS,2015).

### **3.1.2 Processo de degomagem em óleo de soja**

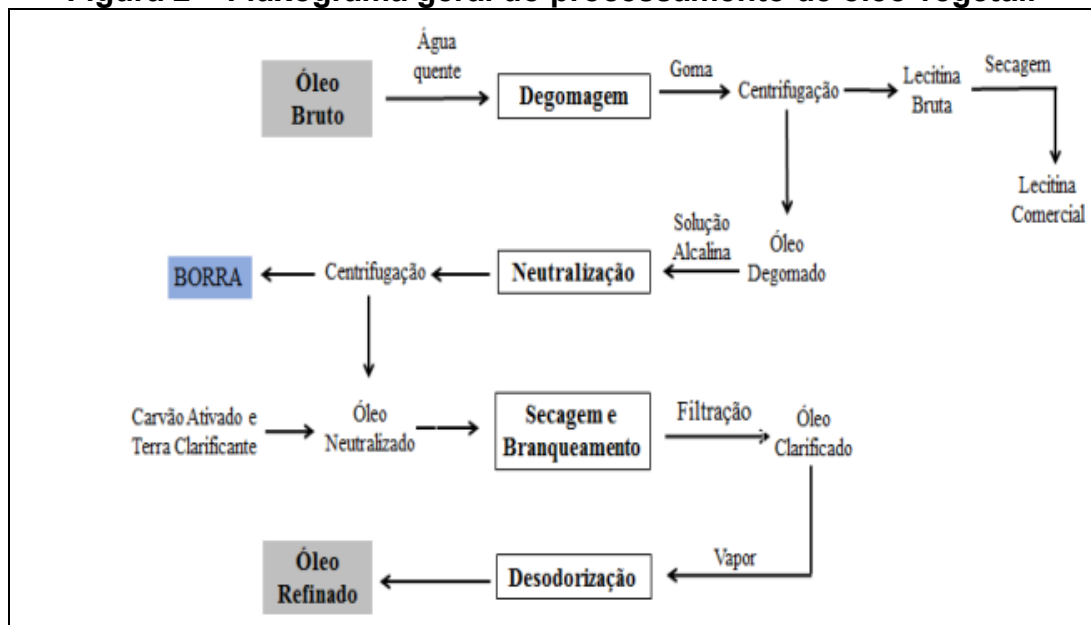
O processo de degomagem do óleo bruto (cru) da soja serve para a extração de fosfolipídios hidratáveis que são facilmente separados por um volume de água adequado, estes a indústria considera como gomas, posteriormente usada como base principal para a lecitina de soja. Os fosfolipídios hidratáveis são aqueles que constituem a lecitina comercial, enquanto os que permanecem no óleo são os fosfolipídios não hidratáveis, como inositídeos, além de lisolecitinas, acetalfosfatídeos, fitoglicolipídeos (NIELSEN, 1960).

Na etapa da degomagem (Figura 2) acontece a extração das gomas presentes por meio de hidratação, quando este óleo bruto possui um teor de fosfolipídios superior a 1%, utiliza a adição de água em média 1 a 3% ao óleo ambos a uma temperatura entre 60 a 90°C. A mistura então passa por homogeneização durante 15 a 30 minutos e após este tempo ocorrerá a formação de precipitado o qual passará por centrifugação a uma velocidade de 5.000 a 6.000 rpm (SEIBEL, 2018).

Dentre os fosfolipídios hidratáveis existem a fosfatidilcolina equivalente de 15% a 21%, a fosfatidiletanolamina de 11% a 13% e a fosfatidilinositol de 8% a 10%, os quais industrialmente são conhecidos como lecitinas (RITTNER,1990).

Segundo Hawthorne e Lekim, (1983) a composição da lecitina de soja comercial é de aproximadamente 14% de fosfatidiletanolamina, 16% de fosfatidilcolina e 10% de fosfatidilinositol. Os níveis de fosfolipídios podem oscilar entre 37 e 54% do total da lecitina. Aproximadamente 20% correspondem a outros fosfolipídios e esteróis, 5% açúcares, 35% de triacilgliceróis (óleo), 1% de umidade. Os fosfolipídios formam uma emulsão (40-50% de água e 35 a 40% de óleo) que seca sob vácuo e temperatura reduzida (50 a 75°C), origina a lecitina comercial.

**Figura 2 – Fluxograma geral do processamento de óleo vegetal.**



Fonte: BRITO,2015.

Já para a extração de Fosfolipídios Não-Hidratáveis que são em sua maioria sais de ferro, sódio magnésio, o óleo após a degomagem, passa pelo processo de neutralização química onde existe a utilização de ácidos fortes e NaOH. A extração não efetiva de fosfolipídios hidratáveis na degomagem pode trazer mais gastos no processo posterior de neutralização química, pois quanto mais teor de fosfolipídios mais produtos químicos serão utilizados nesta etapa para a remoção total dos fosfolipídios encarecendo o valor do processo. A presença de altos teores de

fosfolipídios no óleo refinado afeta principalmente aspectos sensoriais como: cor, sabor e odor do óleo (BRITO, 2015).

### **3.2 SABÕES EM ÓLEO DEGOMADO**

Em seu estudo SINRAM ,1986 afirma procurar amostras com valores baixos de umidade e sabões pois tais parâmetros podem influenciar na formação de partículas no momento da leitura, afirma então que o ideal são amostras menores que 500 ppm no parâmetro de sabões e 5% para umidade.

### **3.3 MÉTODOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE FOSFOLIPÍDIOS**

Existem muitos métodos analíticos conhecidos e encontrados na literatura para determinação de fosfolipídios em amostras os quais são: cromatografia de camada delgada (CCD), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) nos métodos por cromatografia líquida destacam-se aqueles aplicados para quantificação de fosfolipídios em lecitina de soja (MELTON,1992).

Há também com detecção por ultravioleta (UV), e por método colorimétrico com espectrofotometria de absorção molecular como método padrão na determinação de fósforo, com a análise de reação no molibdato de sódio, para a comparação de resultados. A análise de fósforo colorimétrico padrão para óleo vegetal (AOCS OfficialMethod Ca 12-55) é longa e tediosa, muitas vezes exigindo 4-5 horas para completar, tempo este muito longo em relação aos processos industriais que necessitam dos resultados (SINRAM,1986).

Algumas desvantagens são apresentadas na utilização de métodos colorimétricos, tais como tempo de preparo da amostra, que envolve o pré-tratamento da amostra, como filtragem e digestão da amostra com ácido. Esta etapa de pré-tratamento possui um aumento da possibilidade de perda do analito, afetando diretamente a precisão e exatidão do método, e embora este método apresente uma boa sensibilidade, está sujeito a interferências como: turbidez, silicato, tempo reacional e a estabilidade dos reagentes, o que pode acarretar uma baixa precisão ao método. (McKelvie et al. 1997 e Udnana et al. 2005)

Há registros também de métodos por espectroscopia de ressonância nuclear magnética (RMN), espalhamento de luz evaporativo (ELSD) e espectrometria de massas (MS) (YAO e JUNG, 2010).

As indústrias produtoras de óleo procuram desenvolver um procedimento alternativo de medição de fósforo, que usaria equipamentos baratos e metodologias simples e forneceria resultados rápidos e confiáveis para a qualidade do processamento. Sobre isso SINRAM, 1986 em sua pesquisa defende o uso do turbidímetro, para análises de fósforo mais rápidas e eficazes para a indústria, método esse que executado de forma correta demonstrará resultados confiáveis em 10 minutos no máximo. Inicialmente projetado para medir fósforo em amostras de processo de óleo de soja degomado e outrora refinado, o procedimento foi posteriormente modificado para ser eficaz para óleos de diferentes graus de refino, variando de bruto até refinado.

O método de Turbidez por nefelometria tem como princípio a emissão de um feixe de luz através de uma amostra líquida e a partir disso, as partículas sólidas que estão presentes no líquido refletem. O resultado dessas partículas será expresso em NTU (unidade de turbidez nefelométrica) pelo equipamento. Este procedimento foi aceito como uma prática recomendada pelo Comitê de Métodos Uniformes da AOCS em 25 de novembro de 1985 (SINRAM, 1986). Em leitura por nefelometria entende-se que obtém a intensidade da luz dispersada pela suspensão em ângulo reto à direção de propagação da luz (OLSEN, 1975).

### **3.4 CONTROLE DE QUALIDADE E PARÂMETROS ANALÍTICOS DE VALIDAÇÃO**

O controle de qualidade em uma indústria do ramo alimentício envolve o uso de métodos laboratoriais permitindo o acompanhamento da produção, bem como identificar e corrigir falhas do processo a tempo.

Segundo Moretto (1999), o conceito de Controle de Qualidade é definido como todas as medidas adotadas com a finalidade de garantir que os produtos estejam dentro dos padrões de qualidade exigidos, para que possam ser utilizados pelo consumidor final segundo sua proposta. É desejável então que os métodos para o controle da qualidade poupem tempo do analista, sejam reprodutíveis, robustos e passem o máximo de confiança em seu resultado, pois são processos

industriais em grandes escalas onde as falhas resultam em grandes prejuízos. Para que esses métodos sejam de total confiança e credibilidade, existem critérios de validação que o método ao ser desenvolvido ou modificado requer para que sejam adotados com credibilidade.

O desenvolvimento de um método analítico, a adaptação ou a implementação de método de análise, envolve processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina do laboratório. Esse processo costuma ser denominado de validação. Determinado método é considerado validado se suas características estiverem de acordo com os pré-requisitos estabelecidos.

Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (NBR ISO/IEC 17025) de 2005, a validação de metodologias analíticas é aceitar através de testes e de evidências objetivas que os requisitos específicos da análise para um determinado uso pretendido são alcançados. Validação de metodologias analíticas é o primeiro passo para a garantia da qualidade em um laboratório. Assim a validação garante e comprova a qualidade e eficiência da reprodução deste processo, que no caso de uma análise laboratorial, consistirá em sempre estar seguindo os parâmetros estabelecidos pelo processo de validação.

É fundamental que os laboratórios disponham de meios e critérios objetivos para demonstrar, por meio da validação, que as metodologias de ensaio que executam conduzem a resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida (RIBANI, 2004).

Cada vez mais, empresas, a comunidade científica e os órgãos reguladores do Brasil e de outros países exigem a validação de metodologias analíticas e, para isso, a maioria deles tem estabelecido documentos oficiais com diretrizes a serem adotadas no processo de validação. Um processo de validação bem definido e documentado oferece às agências reguladoras, evidências de que os métodos e medições são adequados para o uso (PEREZ, 2010).

Todos os métodos desenvolvidos, modificados, fora do escopo que foi concebido devem ser validados. Os métodos considerados oficiais ou normalizados como ISO, Farmacopéicos, AOCS, não necessitam de validação, desde que não sejam modificados (SIQUEIRA, 2014).

No processo de validação existem parâmetros analíticos os quais devem ser levados em consideração. A seletividade e especificidade, a linearidade, precisão e exatidão e robustez.

#### **3.4.1 Seletividade/especificidade**

Segundo CASSINI et al (2013), determina-se que uma substância de interesse deve ser medida isoladamente por um método mesmo quando na presença de outros compostos, como impurezas e componentes da matriz, seja ela um alimento, um medicamento ou insumo. Por exemplo, ao utilizar o método de turbidez para quantificar em óleo de soja degomado, o fosfolípido, além do composto em si, a amostra é constituída de outras substâncias, por esta razão a seletividade e especificidade do método são primordiais para garantir que não haja influência dos demais componentes.

A seletividade é o primeiro passo na validação de metodologias analíticas, devendo ser reavaliada constantemente. No caso desse parâmetro não ser mais assegurado, os demais parâmetros de validação ficam comprometidos (RIBANI et al., 2004, INMETRO, 2003)

#### **3.4.2 Linearidade**

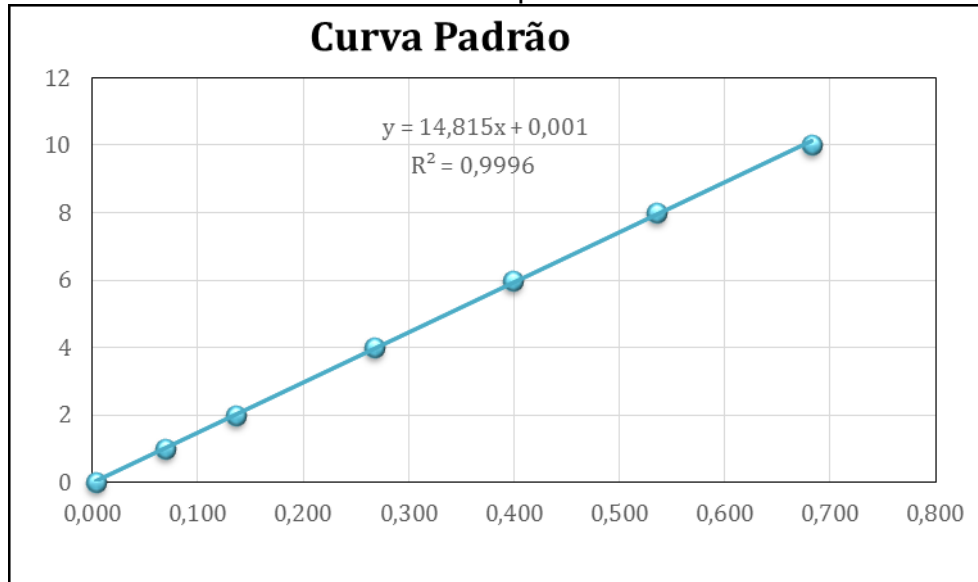
Segundo Valentini (2007), a linearidade é a habilidade que o método tem de produzir resultados que são diretamente, ou através de transformações matemáticas, proporcionais à concentração da substância procurada em análise na amostra.

A determinação da linearidade é feita através de uma análise estatística da curva analítica realizada com, no mínimo, cinco concentrações diferentes e em triplicata. Conforme uma maior concentração de analito na amostra maior será o resultado desta concentração final, expressa no gráfico da curva analítica (SIQUEIRA, 2014).

No Gráfico 1 segue um exemplo de curva analítica utilizada para a padronização de análises em espectrofotômetro. Os parâmetros analisados da curva analítica são o coeficiente de correlação, intersecção com o eixo y, coeficiente

angular (GONÇALVES, 2010). O coeficiente de correlação ( $R^2$ ) mais próximo do valor 1.00 demonstra menor dispersão nos resultados estudados, fornecendo também a estimativa da qualidade da curva no estudo.

**Gráfico 1 – Exemplo de curva analítica.**



Fonte: Acervo do autor.

### 3.4.3 Precisão e Exatidão

Estes dois parâmetros sempre estarão em conjunto, pois um dependerá do outro para suas afirmações diante os métodos. A Precisão da análise a qual o estudo está sendo dirigido é a ferramenta primordial, não deve ser feita de qualquer forma, deve ser seguido um método. A exatidão de um método analítico é a proximidade dos resultados por ele obtida comparada ao valor verdadeiro (EMANUELLI, 2000).

Estes parâmetros são primordiais então para a conclusão de uma validação, pois com este poderá ser comparado o quão preciso e exato o resultado é alcançado do real, e se existe a necessidade de alguma modificação ou não na estrutura.

### 3.4.4 Robustez

A robustez de um método mede a sensibilidade que a análise apresenta em face de pequenas variações em concentrações ou aspectos físico-químicos, quando

não é afetada por uma modificação pequena e não existe também modificação em seus parâmetros, indica sua confiança (ANVISA, 2003, SIQUEIRA, 2014).



## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAL**

Foram utilizadas 42 amostras de óleo degomado de soja, as quais foram analisadas em triplicatas, essas amostras foram disponibilizadas pela empresa parceira, entre o período de 2019 à 2021 tais amostras eram coletadas em dias aleatórios conforme havia recebimento de matéria prima, e então ocorria a produção na fábrica. A matéria prima por sua vez eram grãos de soja oriundos e misturados de várias regiões para o processamento, não sendo possível realizar a rastreabilidade adequada de qual região e nem tipo de grão foi utilizado para a produção do óleo, sendo então classificadas como amostras heterogêneas de grãos, seguiu-se a forma de trabalho da empresa. Sendo as amostras coletadas para as análises representativas da produção dentro de 24 horas. Os reagentes e outros produtos que foram utilizados são da rotina laboratorial da própria empresa, os resultados obtidos das análises são consequentes do cotidiano da mesma.

### **4.2 MÉTODOS**

#### **4.2.1 Quantificação dos fosfolipídios método colorimétrico**

Para a determinação dos fosfolipídios no óleo de soja, foi utilizado o método descrito pela American OilChemists' Society 12 55 -1989 (AOCS, 2017), após a incineração em mufla por duas horas de 1 grama do óleo degomado, as cinzas passarão digestão em HCl e o filtrado recolhido em balões volumétricos de 100 ml para a neutralização. Após esse procedimento, foi adicionado uma alíquota de 10 ml em balões de 50 ml para a reação de cor onde é adicionado 8 ml de sulfato de hidrazina como catalisador e 2 ml molibdato de sódio que consequentemente foi responsável pela formação do composto azul. A leitura foi realizada então através do espectrofotômetro UV-VIS na faixa de 650 nm, a concentração do analito na amostra determinada através de uma curva analítica – absorvância x concentração (ANTONIASSI, 1995).

#### 4.2.2 Quantificação dos fosfolípidios pelo método turbidímetro

Com a utilização do equipamento foi quantificado o nível de turbidez presente no óleo degomado. Foram utilizadas 1,67 gramas de óleo dissolvido em acetona pura em um balão volumétrico de 50 ml, à temperatura ambiente. Após a leitura foi obtido um valor em unidade Nephelometric Turbidity Unit (NTU) que é a unidade matemática utilizada na medição da turbidez (LEITE *et al.*, 2013; VON SPERLING, 1996). O resultado final pode ser obtido utilizando a equação que já é disponibilizada pelo método da AOCS 19-86. (Tabela1).

**Tabela 1 – Equações disponibilizadas pela AOCS**

<b>Tipos de Óleo de Soja</b>	<b>Equação para a curva</b>
<b>Bruto</b>	$P = (5,89 \times \text{NTU}) + 316,4$
<b>Degomado</b>	$P = (5,32 \times \text{NTU}) + 3,38$
<b>Branqueado</b>	$P = (1,27 \times \text{NTU}) - 0,225$
<b>Desodorizado</b>	$P = (1,72 \times \text{NTU}) - 0,528$

Fonte: AOCS Ca 19-86 (2017)

#### 4.2.3 DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DO ÓLEO DEGOMADO

##### 4.2.3.1 Determinação de sabões em óleo degomado

A determinação de sabão no óleo degomado, será realizada com algumas adaptações, pelo método da AOCS Cc 17-95, pois o método originalmente foi desenvolvido para determinar quantitativamente a presença de NaOH em óleo refinado, o mesmo método que utiliza azul de bromofenol como indicador poderia identificar a presença aproximada no teor de fosfolípidios em óleo degomado, conseguindo assim uma previsão para controle imediato pela indústria caso necessário (AOCS, 2017).

O método de sabões exibe as vantagens de possuir menor risco de operação comparado ao método de digestão ácida, e também menor tempo de análise para a regulação imediata na indústria caso seja necessário (BLOCH, 1983).

Neste método deve ser realizado o preparo de uma solução acetônica, com 1 litro de acetona P.A, 20 ml água destilada e 5 ml de azul de bromofenol, após o

preparo, adicionou-se 50 ml da solução em um Erlenmeyer e neutralizou essa solução com uma gota de HCl 0.01N, na qual foi obtido uma coloração amarela, é adicionado a essa solução acetônica 10 gramas da amostra de óleo degomado, e se houver mudança de coloração para esverdeado novamente a amostra será positiva para sabão (AOCS,2017). Os valores são expressos em ppm a partir da fórmula matemática:

**Figura 3 – Cálculo para Sabões em óleo**

CÁLCULOS	
1.	ppm de sabão como oleato de sódio = $\frac{(mL_s - mL_b) \times M \times 304,400}{\text{porção de teste, g}}$
	Onde –
	$mL_s$ = volume, ml de HCl obtido no Procedimento, 4
	$mL_b$ = volume, ml de HCl obtido no Procedimento, 5
	M = molaridade de HCl.

Fonte: AOCS,2017.

#### 4.2.3.2 Determinação de clorofila em óleo degomado

Na determinação de clorofila o método AOCS (Cc 13d-55) (AOCS, 2017) com uso de espectrofotômetro UV-VIS, onde com o auxílio de uma cubeta de quartzo foi realizada a leitura da amostra nas três faixas, as amostra não precisam passar por nenhuma preparação antes da análise, somente se houver muita umidade no óleo, o qual então deve ser seco em estufa a 105 C por uma hora. Pode ser levada para a leitura de absorvância 630 nm, 670 nm, e 710 nm, após anotar os resultados foi utilizada a curva analítica preparada uma equação matemática conforme o método descrito para a determinação do resultado. Todas as determinações foram feitas em triplicatas.

#### 4.4 TRATAMENTOS DOS DADOS

Foi utilizado o teste de t pareado, para avaliar de houve diferença entre os valores médios de ambas as metodologias utilizadas. A fim de realizar a análise de regressão, um dos critérios que devem ser atendidos é o pressuposto de normalidade, para avaliar este pressuposto utilizou-se do teste de Shapiro-Wilk. No caso das variáveis que não atenderam a condição de normalidade, aplicou-se a

transformação de Box-Cox cuja finalidade é a normalização dos dados, de modo que as técnicas de regressão exigem esta condição possam ser devidamente aplicadas. A avaliação do modelo multivariado foi desenvolvida no software R Core Team, por meio da análise do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e análise dos resíduos.

## 5 RESULTADO E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 são observados os resultados de médias das análises em laboratório realizadas em triplicatas:

**Tabela 2 – Caracterização Físico-Química das amostras de óleo degomado.**  
**Óleo Degomado**

Data	Colorimetria (ppm)	Turbidez (NTU)	Sabões (ppm)	Clorofila Abs	Acidez %
1° amostra	106	85	40	4,17	1,24
2° amostra	88	116	24	4,38	1,25
3° amostra	153	361	120	4,40	0,72
4° amostra	54	48	110	4,48	0,64
5° amostra	126	138	46	3,19	0,44
6° amostra	121	208	209	3,72	0,75
7° amostra	142	196	216	3,87	0,75
8° amostra	93	93	89	3,30	0,62
9° amostra	318	386	200	3,24	0,86
10° amostra	100	126	125	2,95	0,64
11° amostra	116	184	92	3,21	0,64
12° amostra	154	228	209	3,05	0,87
13° amostra	94	116	57	3,71	0,93
14° amostra	181	213	44	3,13	0,84
15° amostra	85	184	54	2,48	0,79
16° amostra	144	241	112	2,60	0,92
17° amostra	106	281	99	3,47	0,89
18° amostra	133	280	107	3,58	0,89
19° amostra	115	185	65	2,35	0,86
20° amostra	120	232	120	4,5	0,72
21° amostra	103	183	91	2,03	0,91
22° amostra	104	153	65	2,36	0,82
23° amostra	144	239	154	1,53	1,29
24° amostra	118	238	50	6,99	0,57
25° amostra	171	474	88	4,95	0,52
26° amostra	165	443	68	4,41	0,42
27° amostra	209	481	231	115	0,36
28° amostra	193	548	255	4,64	0,24
29° amostra	90	308	89	9,30	0,33
30° amostra	115	276	144	11,75	0,42
31° amostra	102	218	101	7,45	0,23
32° amostra	111	279	101	12,15	0,40
33° amostra	115	220	130	7,14	0,27
34° amostra	289	527	705	7,70	0,61

35° amostra	116	587	301	10,82	0,44
36° amostra	86	166	95	3,11	0,42
37° amostra	103	190	256	2,74	0,25
38° amostra	93	150	56	2,34	0,26
39° amostra	10	166	83	2,21	0,28
40° amostra	92	183	63	2,09	0,33
41° amostra	93	144	50	2,47	0,56
42° amostra	104	119	62	2,38	0,65

**Fonte:** Acervo do autor.

No primeiro momento da pesquisa, os resultados da comparação dos dois métodos (colorimetria por espectrofotômetro e turbidímetro) foram submetidos à análises estatísticas de comparação. Foi utilizado o teste de T pareado, pois é conveniente conhecer se as análises realizadas por espectrofotometria e via turbidímetro são compatíveis nos valores.

Para realizar o uso desta ferramenta de amostras pareadas, é preciso averiguar inicialmente se as amostras apresentam um comportamento de distribuição normal, pois se não houver esta característica os testes a partir de então obterão um falso resultado.

A distribuição normal é uma distribuição de probabilidade contínua e simétrica em ambos os lados da média, de modo que o lado direito é uma imagem espelhada do esquerdo. É a mais familiar das distribuições de probabilidade e também uma das mais importantes em estatística. A suposição de normalidade das variáveis aleatórias é exigida para a realização de muitos métodos de inferência estatística (LEOTTI,2012).

Para a verificação da normalidade dos valores obtidos foi empregado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Apesar da objetividade desta metodologia, há limitações. O teste Shapiro-Wilk não é capaz de detectar normalidade em amostras pequenas, já em amostras grandes, costuma apresentar significância para pequenos desvios da normalidade (MIOT, 2017).

Após ser considerado o comportamento de distribuição normal com as amostras pode ser empregado o teste de t pareado a fim de analisar finalmente se existe semelhança nos resultados com a aplicabilidade dos dois métodos de análise.

O teste t pareado compara as diferenças entre duas situações distintas de uma mesma amostra. Essa comparação geralmente é feita para que se possa

verificar se ocorreu, em decorrência da aplicação de um procedimento experimental, uma mudança significativa nos valores da variável estudada (FONTELLES, 2012).

Especificamente, para este estudo, buscou-se comparar os resultados da análise colorimétrica, e reconhecida pela AOCS, com um método novo e mais rápido de obtenção de resultado o de turbidez, mais até então não confiável, tendo como objetivo observar se esse método é viável na visão estatística, obtendo resultados confiáveis para o processo.

Nesta fase foi analisado a comparação dos resultados via colorimétrica e por turbidez com análises estatísticas onde:

Primeiramente é necessário entender que o  $H_0$  representa uma hipótese nula, ou seja, uma hipótese formulada com o intuito de ser testada sendo denotada como  $H_0$  (LAUREANO, 2020). Neste caso a hipótese nula do trabalho é a distribuição normal, a fim de descobrir em que ponto dos testes alcançou-se uma distribuição normal com o dados estatísticos do trabalho.

- No primeiro conjunto de análises as 42 amostras com resultados obtidos via Colorimétrico e Turbidímetro, foram submetidas ao teste de Shapiro Wilk para as variáveis, resultando em 95% de confiança, mas houve a rejeição  $H_0$ , sendo assim os dados não são similares a uma distribuição normal.

Foi necessário realizar uma forma de aproximação dos dados a uma distribuição normal chamada de transformação Box-Cox, isso ocorre com o aumento do tamanho amostral, conforme prevê o teorema do limite central (AZEVEDO, 2015), o qual afirma que a média de uma amostra de  $N$  elementos de uma população tende a uma distribuição normal cada vez que o tamanho da amostra aumenta, o teorema aplica-se independentemente da forma da distribuição amostral, podendo ser estes fortemente não normais (CANTELMO E FERREIRA, 2007).

- Após a transformação dos dados por Box-Cox foi realizado novamente o teste por Shapiro Wilk nos resultados obtidos via Colorimétrico e Turbidímetro, onde os resultados foram de 95% de confiança, não houve rejeição do  $H_0$ , o que demonstrou que os dados são similares a uma distribuição normal após a transformação com Box-Cox.

Nas etapas estatísticas houve a concretização de todas as transformações em busca da normalidade das amostras, resta então à etapa final, a aplicação do

Teste de t pareado em busca de demonstrar se as amostras têm semelhanças entre si com a aplicação dos dois métodos.

- Com a aplicação do teste de t pareado usando todo o conjunto de amostras, e comparando as análises emparelhadas Turbidez e Colorimétrica, resultou com 95% de confiança, onde houve rejeição de  $H_0$ , ou seja, os dados diferem significativamente entre si.

Com isso pode ser observado que os dois métodos aplicados no mesmo conjunto de amostra demonstraram resultados diferentes, ou seja tecnologicamente falando as mesmas amostras aplicadas em métodos diferentes para um mesmo resultados de fosfolipídios não obtém semelhança nenhuma de resultados.

A figura 4 apresenta os valores possíveis de correlação de Pearson, quanto mais próximo os valores da estatística  $\rho$  forem de zero mais fraca será a correlação entre as variáveis. Quanto mais próximo de 1 for o valor de  $\rho$  mais forte será a correlação entre as variáveis. Além disso, se os valores da estatística  $\rho$  são positivos as variáveis tem um comportamento diretamente proporcional, e quando  $\rho$  é negativo as variáveis são inversamente proporcionais, ou seja, quando uma cresce a outra decresce.

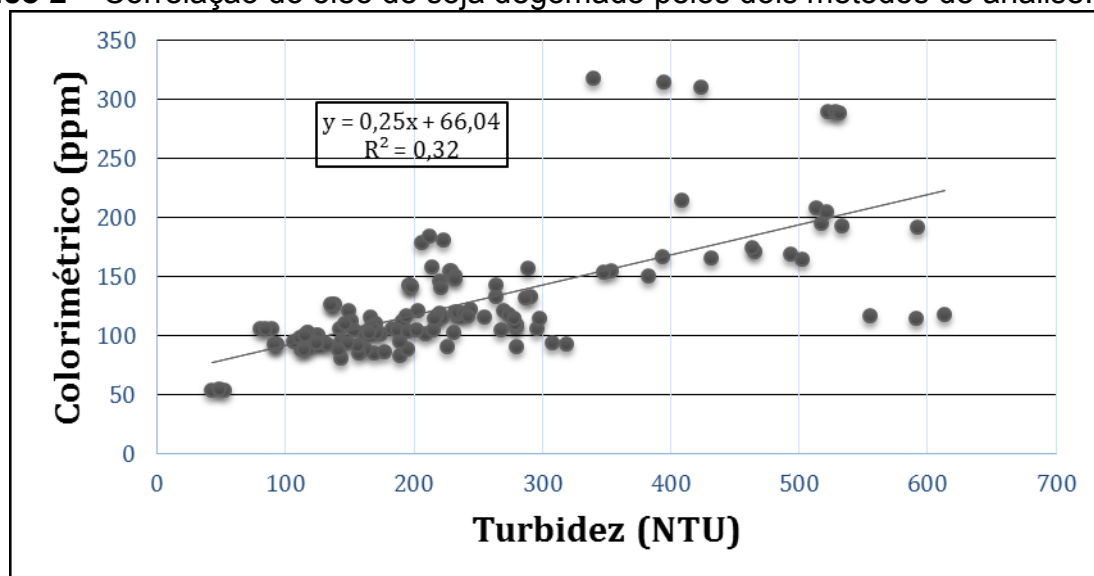
**Figura 4:** Faixa de correlação de Pearson

Valor de $\rho$ (+ ou -)	Interpretação
0.00 a 0.19	Uma correlação bem fraca
0.20 a 0.39	Uma correlação fraca
0.40 a 0.69	Uma correlação moderada
0.70 a 0.89	Uma correlação forte
0.90 a 1.00	Uma correlação muito forte

Fonte: <http://leg.ufpr.br/~silvia/CE003/node74.html>

Outro grupo de dados obtidos no experimento, a partir da mesma amostragem, pode ser visualizado no Gráfico 2, que é a representação dos dados obtidos em laboratório, onde demonstra a concentração de fósforo por método colorimétrico e turbidez.



**Gráfico 2 – Correlação do óleo de soja degomado pelos dois métodos de análise.**

Fonte: Acervo do Autor

Em relação às correlações, especificamente Correlação de Pearson, o  $R^2$  foi de 0.32 para os parâmetros Colorimétricos e Turbidez (Tabela 3), indicando que não há uma semelhança entre estas leituras, mostrando que o equipamento e os resultados tradicionais não podem ser correlatos.

Com base nos critérios apresentados na figura 4, foi observado que a correlação entre as variáveis indicadas na tabela 3 são inversamente proporcionais quando se compara a Acidez com a Turbidez (correlação fraca), Sabões com Clorofila (correlação muito fraca), e Clorofila com Acidez (correlação fraca). E as correlações diretamente proporcionais Colorimétrico com Turbidez (correlação moderado), Colorimétrico com Sabões (correlação moderado), Colorimétrico com Clorofila (correlação muito fraca), Colorimétrico com Acidez (correlação muito fraca), Turbidez com Sabões (correlação moderado), Turbidez com Clorofila (correlação moderado), Sabões com Clorofila (correlação fraca).

**Tabela 3** – Correlação de Pearson para os parâmetros Colorimétrico, Turbidez, acidez, clorofila e sabões em óleo de soja degomado.

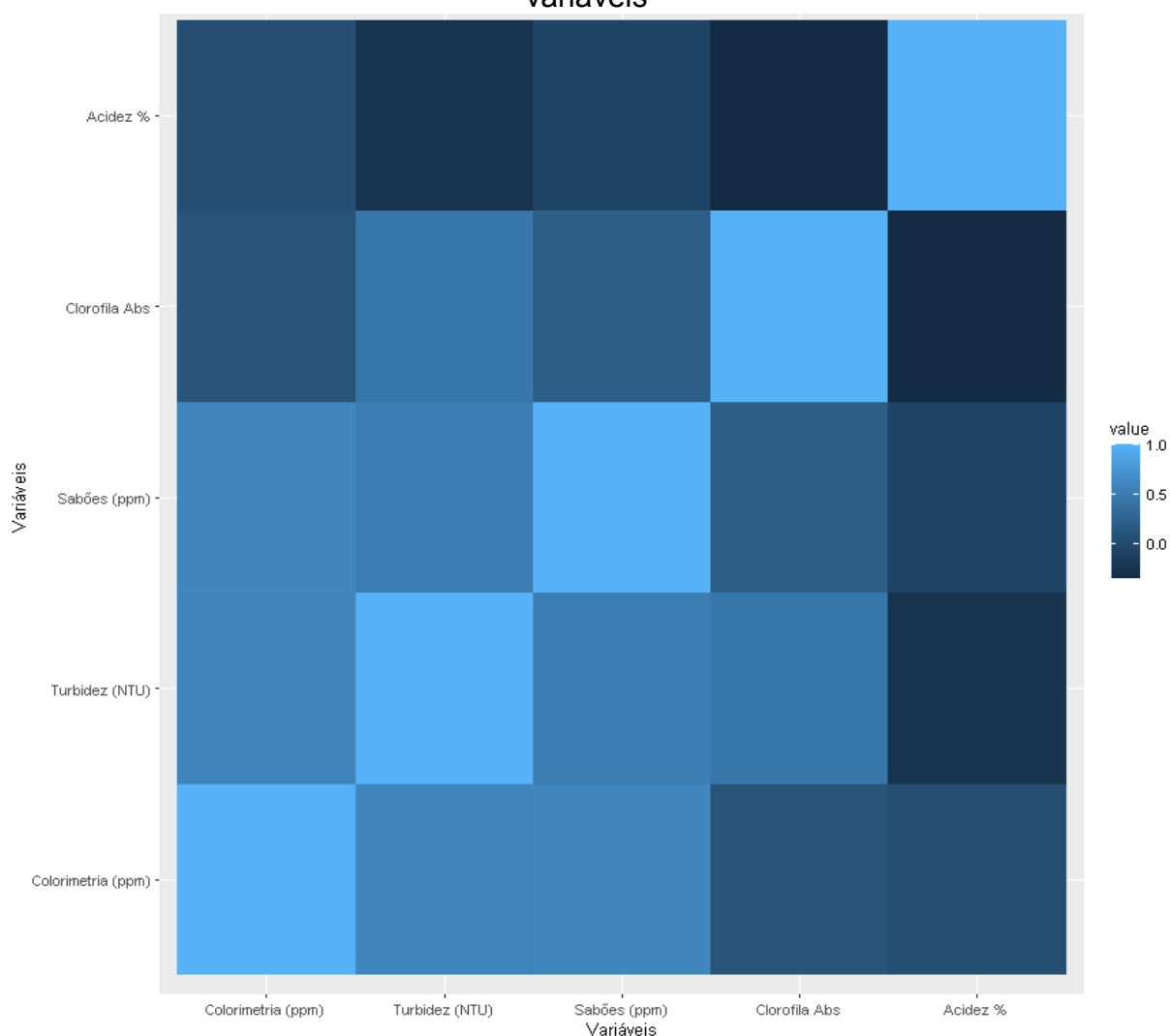
<b>Variáveis</b>	<b><math>\rho</math></b>	<b><math>R^2</math></b>	<b>Valores-p</b>
Colorimétrico x Turbidez	0.57	0.32	<0,01
Colorimétrico x Sabões	0.61	0.37	< 0,01
Colorimétrico x Clorofila	0.10	0.25	0.002
Colorimétrico x Acidez	0.10	0.70	0.007
Turbidez x Sabões	0.52	0.26	<0,01
Turbidez x Clorofila	0.46	0.20	<0,01
Turbidez x Acidez	-0.26	0.06	0.003
Sabões x Clorofila	0.20	0.03	0.023
Sabões x Acidez	-0.08	0.001	0.367
Clorofila x Acidez	-0.35	0.12	< 0,01

Fonte: Acervo do Autor

A coluna  $R^2$  da Tabela 3 representa a capacidade que uma variável explica da outra e o *valor p* considerando 0.05 indica que se o modelo de regressão linear é significativo em descrever a relação entre elas. Com exceção da variável Sabões contrastada com a Acidez, todas as retas são significativas ao nível de 99% de confiança, contudo, os valores de  $R^2$  variam de 0.03 a 0.70, isto significa que no máximo 70% da variabilidade dos dados é explicada pela relação entre cada par de duas variáveis observadas na Tabela 3.

A Figura 5 apresenta as correlações observadas na Tabela 3 expressas em variações de tonalidades de azul, nota-se que correlações positivas estão em tons de azul claro, as correlações negativas estão em tons de azul escuro, e os tons intermediáveis de azul indicam correlações muito baixas. O comportamento do gráfico reforça a análise da Tabela 3, em que se destacam as correlações entre as variáveis Colorimétrico com Turbidez, Colorimétrico com Sabões, Turbidez com Sabões e Turbidez com Clorofila.

**Figura 5:** Correlação de Pearson entre as variáveis



Fonte: Acervo do Autor

A fim de melhor compreender o comportamento dos fatores na determinação dos valores de Colorimetria e Turbidez por nefelometria buscaram-se ajustar um modelo de regressão múltiplo entre os fatores e tais variáveis respostas. Consta-se que:

1. Turbidímetro =  $1389 + 0.4983 \times \text{Sabões} + 726.9 \text{ Clorofila}$ , com  $R^2 = 0.39$  e valor-p < 0.01
2. Colorimétrico =  $9871.71507 + 0.15168 \times \text{Sabões}$ , com  $R^2 = 0,37$  e valor-p < 0.01.

Segundo BLOCH, 1983 em seu estudo demonstra que a leitura de nefelometria por turbidímetro, exige padrões de referência e a eliminação de

substâncias interferentes para uma leitura satisfatória. No turbidímetro a equação é explicada conjuntamente pela quantidade de Sabões (em ppm) e pelo teor de Clorofila (em Abs). Cada unidade de Sabões e de Clorofila adicionada à análise eleva em aproximadamente 727.40 a quantidade de Turbidez (em NTU), conforme observado na equação 2, sendo a Clorofila o fator mais influente para a elevação do valor de Turbidez.

Para uma análise de Turbidez por nefelometria ser confiável as partículas em suspensão devem apresentar tamanho uniforme, o que é dificultoso na reprodutibilidade das análises, as variações nos crescimentos das partículas de substâncias interferentes representam a causa mais frequente de erros em estudo de turbidimetria e nefelometria (OLSEN, 1975).

Constata-se na equação de colorimetria que quando os fatores são avaliados conjuntamente apenas os Sabões são capazes de impactar sobre o aumento dos dados obtidos por colorimetria, sendo que cada unidade (em ppm) de Sabões acrescida na análise eleva em aproximadamente 0,15 o valor da Colorimetria (ppm).

Com base nas equações 1 e 2, considerando a escala original dos dados, nota-se que se os valores de sabões (em ppm) forem inferiores a 48,965 ou superiores a 398,61, logo o resultado da Colorimetria não estará dentro da faixa considerada como ideal. Analogamente, os valores da Clorofila ficam dependentes da quantidade de sabões para que se obtenha a adequação ou não da quantidade de turbidez, de tal forma que se a Clorofila for inferior a  $6,304 - 0,035 \times \text{Sabões}$  ou superior a  $12.608 - 0,035 \times \text{Sabões}$  o valor da Turbidez não estará dentro da faixa ideal.

Após a análise dos resultados, é notável através do uso da estatística, primeiramente com o teste de t que as duas análises não são semelhantes entre si, mesmo possuindo a mesma finalidade de quantificação de uma mesma substância (fosfolipídios) em mesmas amostras (42 amostras).

Após a utilização do método de Person nos dois métodos comparados (Colorimetria e Turbidez), observa-se o valor de  $R^2$  de 0.32 e nota-se que a Turbidez e os resultados por Colorimetria não podem ser correlatos, no entanto após análise da figura 4 observa-se também que ambas as análises são diretamente proporcionais.

Assim sendo é notável a necessidade de padronização das condições de crescimento na formação do precipitado para o uso do método nefelométrico no turbidímetro, procurando ser reproduzível na indústria. Sendo estes dependentes de vários fatores: concentração de reagentes , maneira, ordem de execução, velocidade das mistura, tempo de crescimento, agitação e repouso (BLOCH 1983).

## 6 CONCLUSÃO

Conclui-se através dos testes estatísticos que as análises por Turbidez e Colorimétrico são diferentes, sendo que o método Colorimétrico por espectrofotômetro sofre menos influência dos fatores físico-químicos das amostras gerando uma maior aceitabilidade até então para a rotina industrial.

É notória a influência que os fatores físicos químicos exercem nas análises via espectrofotômetro e principalmente via Turbidímetro, principalmente quando nos referimos nos tamanhos das partículas das substâncias presentes no óleo as quais podem atrapalhar no momento de leitura nefelométrica do aparelho. Deve ser levado em consideração as equações de modelo de regressão múltiplo apresentadas, demonstrando o nível de influencia desses fatores físico químicos nas amostras, trazendo assim maior clareza na conclusão do estudo.

Sendo inviável até o momento qualquer validação de análise de fosfolipídios no aparelho utilizado de turbidez neste estudo, com esses resultados não traz a rotina do laboratório confiança somente neste o método de turbidez para obtenção de resultados e aplicação destes para as regulagens necessárias no meio fábri na de óleo de soja.

## 7 REFERÊNCIAS

ANTONIASSI, R.; ESTEVES, W. **Otimização de metodologia da AOCS (Official Method Ca 12 55) para determinação de conteúdo de fósforo em óleos.** In: congresso e exposição latino americano sobre processamento de óleos e gorduras, 6.1995, campinas. Anais... Campinas: UNICAMP, 1995. P. 211-215

Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR ISO/IEC 17025: Requisitos gerais sobre a competência dos laboratórios de ensaio e calibração.** Rio de Janeiro: ABNT; 2005.

SOCIEDADE AMERICANA DE QUÍMICOS DO PETRÓLEO. **Métodos oficiais e práticas recomendadas da Sociedade Americana de Químicos petrolíferos. 4ª ed.** Champaign, EUA, A.O.C.S., 2002

SOCIEDADE AMERICANA DE QUÍMICOS PETROLEROS. **Métodos oficiales y prácticas recomendadas de la American OilChemists' Society. 5ª ed.** Champaign, Estados Unidos, A.O.C.S., 2004

SOCIEDADE AMERICANA DE QUÍMICOS PETROLEROS. **Métodos oficiales y prácticas recomendadas de la American OilChemists' Society. 7ª ed.** Champaign, Estados Unidos, A.O.C.S., 2017

AZEVEDO, Alcinei Místico. **Biometria aplicada ao melhoramento genético da couve de folhas.** 2015.

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Resolução n 899 de 29 maio de 2003 que determina a publicação do Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02 fev. de 2003.

BRASIL. MAPA. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 49, DE 22 DE DEZEMBRO DE 2006. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de óleos vegetais refinados.** Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=643062246>> . Acesso em 29 set. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 795, de 15 de dezembro de 1993. **Aprovar as anexas Normas de Identidade, Qualidade, Embalagem, Marcação e Apresentação do Óleo de Soja Bruto, do Óleo de Soja Degomado e do Farelo de Soja.** Acesso em: 01 out. 2019.

BRITO, Rogério da Cunha. **"Produção de ésteres etílicos utilizando rejeito da neutralização do processo do refino dos óleos de buriti, maracujá e castanha-do-pará."** (2015).

BRUM, A.A.S., ARRUDA, L.F., DARCE, M.A.B.R. **Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal** Quim. Nova, Vol. 32, No. 4, 849-854, 2009.

CASSINI, S. T. A; ANTUNES; P. W. P.; KELLER, R. **Validação de método analítico livre de acetonitrila para análise de microcistinas por cromatografia líquida de alta eficiência**. Química Nova vol.36 no.8, 1208-1213, 2013.

CASTEJON, Letícia Vieira. **Parâmetros de qualidade na clarificação da lecitina de soja**. 2015. 187 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.

CANTELMO, Narjara Fonseca; FERREIRA, Daniel Furtado. **Desempenho de testes de normalidade multivariados avaliado por simulação Monte Carlo**. Ciência e agrotecnologia, v. 31, p. 1630-1636, 2007.

EMANUELLI T, SCANDIUZZI M. **Validação de processos na indústria farmacêutica**. in: **congresso de produtos farmacêuticos e cosméticos**. 2000; rio grande do sul: universidade do rio grande do sul. anais. 2000. p.57.

EMBRAPA SOJA. **Soja em números 2020/2021**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>> Acesso em: 05 Ago. 2022.

FONTELLES, M. J. **BIOESTATÍSTICA Aplicada à Pesquisa Experimental**: volume 1. [s.l: s.n.].

GEANKOPLIS, C.J. **Transport processes and separation process principles**. Prentice Hall, 4ªed., 2003.

GONÇALVES, Gabriela Soldi. **Atributos da validação do método analítico para quantificação da biotina empregando a técnica potenciométrica**. 2010.

INMETRO. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. Rio de Janeiro, 2003

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4ª ed. (1ª Edição digital), 2008. 1020 p.

LAUREANO, Raul et al. **Testes de Hipóteses e Regressão—O meu manual de consulta rápida**. Lisboa: Edições Silabo, 2020.

LEAL, A.; HENRIQUES, C.; LUNA, A. **Validação e estimativa da incerteza do método de determinação de fósforo por espectrofotometria uv-vis**. Revista Analytica, v.32. p. 28-34. Rio de Janeiro :Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro,2008.

LEITE, Dilza A N DeOliveira et al. **Avaliação dos parâmetros do índice de Qualidade de água segundo o modelo estatístico arima**. Holos environment, v. 13, n. 1, p.24- 39, abr. 2013.

LEOTTI, Vanessa Bielefeldt; COSTER, Rodrigo; RIBOLDI, João. **Normalidade de variáveis: métodos de verificação e comparação de alguns testes não-**



**paramétricos por simulação.** Revista HCPA. Porto Alegre. Vol. 32, no. 2 (2012), p. 227-234, 2012.

MANDARINO, M. G.; ROESSING, A. C. **Tecnologia para produção do óleo de soja: descriçãodas etapas, equipamentos, produtos e subprodutos** . Londrina: Embrapa Soja, 2001 40p. --(Documentos / Embrapa Soja, ISSN 1516-781X; n. 171).

McKelvie I.D., Peat D.M.W., Matthews G.P., **Worsfold P.J.**, **Anal.Chim. Acta** 351 (1997) 265.

MELTON, S.L. **AnalysisofSoybeanLecithinsandBeefPhospholipidsby HPLC withanEvaporative Light Scattering Detector.** JAOCS, 69, 1992.

MIOT, Hélio Amante. **Avaliação da normalidade dos dados em estudos clínicos e experimentais.** Jornal vascular brasileiro , v. 16, p. 88-91, 2017.

MORETTO LD. **Supervisão da produção.** 3.ed. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo; 1999. p.129.

NIELSEN, K. **The CompositionoftheDifficultlySoybeanPhosphatidesExtractable** The JournalOf The American OilChiemists' Society, v.37, 217 – 219, 1960.

OLSEN, Eugene D.. **“Métodos ópticos modernos de análise.”** (1975).

PEREZ, Mary Ângela Fávaro. **Validação de métodos analíticos: Como fazer? Por que ela é importante.** Boletim de tecnologia e desenvolvimento de embalagens, v. 22, n. 3, p. 1-9, 2010.

RIBANI, M. et al. **Validation for chromatographicandelectrophoreticmethods.** Quimica Nova, v.27, n.5, p.771-780, 2004.

RIBEIRO, Patrícia. **Análises físico-químicas de óleo de soja refinado comercializados em Ponta Grossa - Paraná.** 2016. 27 p. Trabalho de Conclusão de Curso de Tecnologia em Alimentos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2016.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos.** 2a ed. São Paulo: Blucher, 2007.

RITTNER, H. **Lecitina de soja dá boa receita.** Química e Derivados, Nov, pp. 20-29, 1990.

SANTOS, Cleiton de Souza. **PROCESSAMENTO DA SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill): Um enfoque na qualidade de fabricação do óleo comestível.** Rio Verde: Universidade de Rio Verde, 2015. 16 f.

SEIBEL, Neusa Fátima. **Soja cultivo, benefícios e processamento.** Curitiba-Brasil: Editora CRV, 2018.

SIQUEIRA, Paula Fernandes de. **Recuperação de fosfolipídios residuais do farelo desengordurado de soja.** São Carlos: UFSCar, 2014. 118 f.

SINRAM, Roger D. **Determinação nefelométrica de fósforo no processamento de óleo de soja e milho.** Journal of the American Oil Chemists' Society, v. 63, n. 5, pág. 667-670, 1986.

SMITH, A.K.; CIRCLE, S.J. Soja: química y tecnología. v. 1. Westport: El AVI, 1972.

TOMAZONI, Julio Caetano et al. **Utilização de medidas de turbidez na quantificação da movimentação de sólidos por veiculação hídrica nas bacias dos rios anta gorda, brinco, coxilha rica e jirau - sudoeste do estado do Paraná.** Boletim paranaense de geociências -editora ufpr, n. 57, p.49-56, 2005.

Udnana Y., McKelvie I.D., Grace M.R., Jakmunee J., Grudpan K., **Talanta 66** (2005) 461.

VALENTINI SR, Sommer WA, Matioli G. **Validação de métodos analíticos.** ArqMudi. 2007;11(2):26-31.

VON SPERLING, Marcos. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – Lagoas de estabilização**, V.03. MINAS GERAIS: ABES 1996.

YAO, L.; JUNG, S. **<sup>31</sup>P NMR Phospholipid Profiling of Soybean Emulsion Recovered from Aqueous Extraction.** J. Agric. Food Chem. 2010, 58, 4866–4872.

