

Departamento de Indústria, Inspeção e Conservação de Produtos Alimentícios
de Origem Animal

Diretor: Prof. Paschoal Mucciolo

Departamento de Química Orgânica e Biológica

Diretor: Prof. Fonseca Ribeiro

DETERMINAÇÃO IODOMÉTRICA DO ÍNDICE
DE PERÓXIDOS EM ÓLEO DE CAROÇO DE ALGODÃO,
BANHA E MANTEIGA *

(IODOMETRIC DETERMINATION OF PEROXIDE VALUES IN COTTON
SEED OIL, LARD AND BUTTER)

P. Mucciolo

P. Assis Ribeiro

V. Bonoldi

Assistente

Livre Docente

A determinação iodométrica do valor ou índice de peróxidos nos óleos e gorduras comestíveis tem sido preferentemente utilizada nos mais recentes trabalhos referentes à rancificação, como medida do desenvolvimento do processo oxidativo.

Da literatura existente à respeito, pode-se concluir que até o presente não há método químico cujos resultados capacitem o analista a afirmar estar ou não rancosa uma gordura, chegando muitos autores a afirmar que a prova final (e inconteste?) da rancidez é dada pela observação organolética; à este respeito, não acreditamos ser necessário ressaltar o fraco apóio que deve ser dispensado às provas que se estribem em meros conceitos pessoais, mercê das falhas que estes podem apresentar.

Dessa maneira, a importância de uma determinação segura por intermédio da qual a rancidez possa ser medida quantitativamente, não precisa ser ressaltada e justifica plenamente a procura a que se dedicam dentro desse objetivo, numerosos experimentadores.

Sem dúvida, um dos trabalhos interessantes a este propósito é o de STANSBY referente especialmente ao estudo comparativo entre alguns processos de determinação do índice de peróxidos em óleo de peixe; sobre o mesmo assunto versa igualmente o presente, tendo os autores trabalhado com manteiga, banha e óleo de caroço de algodão todos de procedência nacional, sujeitando os resultados à análise estatística o que deixou de ser feito por STANSBY.

(*) Apresentado ao IV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Rio de Janeiro, 22-28/1/1948.

Do trabalho do referido autor — STANSBY — retiramos o quadro abaixo, no qual, após a aplicação de alguns processos iodométricos preconizados para as determinações do índice peróxido, aquele autor estabelece as

VANTAGENS COMPARATIVAS DOS PROCESSOS

Processos de	Vantagens	Desvantagens	Aplicação
Wheeler	Extrema simplicidade.	Falta de exatidão. Resultados falhos para amostras de pesos diferentes.	Para as provas de rotina nas quais importa mais a rapidez do que a exatidão (usar as modificações recomendadas).
Ácido clorídrico	Sensibilidade e precisão moderada.	Resultados apenas regulares no caso de amostras de peso variável. Exige atmosfera inerte.	Usado para a maioria dos trabalhos em que a exatidão é importante ou quando a variação é inevitável.
Ácido sulfúrico	Grande sensibilidade e precisão se os pormenores forem cuidadosamente seguidos. Resultados bons com variações âmplos do peso da amostra. Quebra bem acentuada da curva de indução.	Processo algo laborioso necessitando grande atenção aos pormenores, afim de se evitar erros.	Não se recomenda para provas ordinárias.

Do referido trabalho igualmente retiramos o que se refere à técnica da dosagem do valor peróxido, de acôrdo com os diversos processos. Estes, aliás, são abaixo descritos, o que se justifica porque em nosso meio não são suas descrições senão difficilmente acessíveis.

PROCESSO DE WHEELER-STANSBY

Reagentes:

- 1 — Solução de ácido acético e clorofórmio na proporção de 6:4.
- 2 — Solução saturada de iodeto de potássio, de recente preparação.
- 3 — Solução de ácido clorídrico N/10.
- 4 — Solução de tiosulfato de sódio N/100.
- 5 — Solução de amido à 1%.

Técnica:

- a) — pesar 3 a 10 g da amostra homogenizada em frasco Erlenmeyer de 250 cm³ de boca esmerilhada; adicionar 10 cm³ da mistura 6:4 de ácido acético-clorofórmio; agitar com movimento de rotação até dissolução;

b) — adicionar logo depois de efetuada a dissolução acima, 1 cm³ de solução saturada de iodeto de potássio. Homogenizar a distribuição do iodeto com ligeira agitação, deixando então que a mistura reaja no escuro pelo espaço de um minuto;

c) — juntar imediatamente após esgotado o minuto, 50 cm³ de ácido clorídrico N/10, sob viva agitação;

d) — proceder á determinação do iodo libertado, com a solução 0,01 N de tiosulfato de sódio, usando como indicador, 1 cm³ da solução de amido a 1% ; êste deverá ser adicionado tanto quanto possível nas proximidades do ponto final — leve coloração amarelo-palha de iodo ainda em liberdade;

e) — efetuar prova em branco.

PRECAUÇÕES E ALGUMAS CONSIDERAÇÕES ATINENTES AO PRESENTE PROCESSO

Além das recomendações que cabem a todos os processos e das quais será feita referência adiante, em parágrafo especial, êste processo, como diz STANSBY, apresenta grande percentagem de variabilidade quando aplicado sôbre pesos diversos da amostra; segundo nossas observações, mesmo sôbre pesos muito próximos da mesma amostra, a percentagem de variabilidade é grande. A homogenização, a mistura com os diversos reagentes, o tempo de permanência de contato do iodeto de potássio e a adição da solução de amido, tudo deve ser cuidadosamente respeitado tal como explicitamente estatuído.

PROCESSO DO ÁCIDO CLORÍDRICO

Reagentes:

- 1 — Clorofórmio ou tetracloreto de carbôno.
- 2 — Anidrido carbônico produzido em aparelho de Kipp ou de torpedo.
- 3 — Ácido acético glacial puríssimo, contendo 4 por mil de ácido clorídrico concentrado.
- 4 — Solução saturada de iodeto de potássio, de recente preparação.
- 5 — Solução de tiosulfato de sódio N/100.
- 6 — Solução de amido a 1%.

Técnica:

a) — pesar de 3 a 10 g da amostra fundida e filtrada em frasco Erlenmeyer de 250-500 cm³, preferivelmente de boca esmerilhada;

b) — dissolver em 20 cm³ de clorofórmio ou tetracloreto de carbôno, homogenizando com ligeiro movimento de rotação; no caso de gordura, fundir em banho-maria;

c) — na solução, passar corrente vigorosa de anidrido carbônico;

d) — adicionar 30 cm³ de ácido acético contendo 4 cm³ de ácido clorídrico concentrado por litro e continuar a borbulhar o anidrido carbônico pelo espaço de um minuto, findo o qual diminuir para cerca de uma bôlha por segundo;

e) — juntar 1 cm³ da solução saturada de iodeto de potássio e após decorridos 5 minutos, adicionar 100 cm³ de água distilada (250 cm³ caso o óleo seja escuro);

f) — dosar o iodo livre por solução de tiosulfato de sódio N/100 usando como indicador a solução de amido a 1% devendo este ser adicionado tanto quanto possível próximo ao ponto final — leve coloração amarelo-palha de iodo ainda em liberdade;

g) — prova em branco.

PRECAUÇÕES E ALGUMAS CONSIDERAÇÕES ATINENTES AO PRESENTE PROCESSO

No que se refere à homogenização e mistura com os diversos graus de agitação, os tempos de permanência sob corrente de anidrido carbônico, contato com o iodeto de potássio e a adição da solução de amido, as recomendações devem ser rigorosamente observadas para que os resultados se enquadrem dentro do que objetiva o processo, ou seja, exatidão dentro de amostras de pesos muito próximos.

Além disto o contato com o ar, além da exposição à luz, acelera a reação pelo que, iniciada a determinação, deve esta prosseguir sem interrupções até a fase final da valorização do iodo. Mais: o alongamento do período de contato dos reagentes, antes da adição do iodeto de potássio, dá lugar a valores mais baixos de peróxido, recomendando-se por isso que as operações que precedem a referida adição, realizem-se tanto quanto possível dentro de espaços de tempo iguais. Outra causa de baixos valores peróxido é o uso de ácido acético de concentração inferior à recomendada.

PROCESSO DO ACIDO SULFÚRICO

Reagentes:

1 — Solução aquosa saturada e de recente preparação, de iodeto de potássio.

2 — Água distilada.

3 — Anidrido carbônico, produzido em aparelho de Kipp ou de torpedo.

4 — Tiosulfato de sódio N/200.

5 — Solução aquosa a 1% de amido.

6 — Sóluto solvente recentemente preparado:

Ácido acético glacial	30 cm ³
Clorofórmio	20 cm ³
Ácido sulfúrico concentrado	0,5 cm ³

7 — Clorofórmio.

Técnica:

Inicialmente, o solvente e reagentes (exceto o tiosulfato de sódio) devem ser resfriados a cerca de 1°C (banho de gelo em fusão) e saturados com corrente de anidrido carbônico, ou nitrogênio.

a) — pesar aproximadamente 5 g da amostra num bequer de 50 cm³ de capacidade; dissolver com clorofórmio, completando o volume a 50 cm³ em matraz aferido; lavar o bequer, o bastão e o funil com clorofórmio, até completar os 50 cm³; agitar bem e filtrar;

b) — a um Erlenmeyer de 500 cm³ no qual estão 50 cm³ do solvente resfriado, juntar 1 cm³ da solução saturada de iodeto de potássio e imediatamente 2 cm³ exatos da dissolução de óleo ou gordura;

c) — o anidrido carbônico ou nitrogênio é levado a passar em corrente lenta através a solução, que permanece mergulhada no banho de gelo em fusão;

d) — decorridos exatamente 5 minutos, adicionar 250 cm³ de água destilada, resfriada e saturada de gaz inerte;

e) — proceder a determinação do iodo libertado com solução de tiosulfato de sódio N/200 juntando o indicador — solução de amido a 1% — bem próximo ao ponto final, indicado por uma leve coloração amarelo palha de iodo ainda em liberdade;

f) — efetuar prova em branco.

PRECAUÇÕES E ALGUMAS CONSIDERAÇÕES ATINENTES AO PRESENTE PROCESSO

Especial atenção deve ser dispensada a todos os pormenores, a fim de que sejam obtidos resultados verdadeiros. STANSBY não observou influência da luz em ausência de ar, mas chama a atenção para a necessidade de se juntar imediatamente após a solução de iodeto de potássio, a amostra do lípido já dissolvido, sem o que são obtidos baixos valores peróxido.

CONSIDERAÇÕES GERAIS E CUIDADOS A PROPÓSITO DOS PROCESSOS DESCRITOS

No caso de gordura, fundir rapidamente em banho maria, antes de adicionar qualquer reagente.

Quanto a êstes, é de especial importância o uso de ácido acético puríssimo, e antes da realização das determinações, deve o mesmo ser submetido a provas no sentido de averiguar sua capacidade de dar branco excessivamente alto ou negativo, fatos que comprovam ou a capacidade de libertar iodo do iodeto de potássio ou a de combinar-se com o iodo libertado.

O iodeto de potássio deve dar, em soluções saturadas de preparação recente, provas negativas de iodo livre com solução de amido.

Esta solução de iodeto de potássio liberta iodo rapidamente, especialmente sob a ação da luz. Recomendam alguns autores, STANSBY inclusive, para prevenir esta oxidação, a juntada de carbonato de sódio (à 0,3%) com o que a solução se conservaria indefinidamente.

Os solventes e as misturas solventes devem ser, no que diz respeito à capacidade de libertar o iodo da solução saturada de iodeto de potássio, submetidos a provas de período a período, especialmente quando for usado o processo do ácido sulfúrico.

A solução de tiosulfato de sódio pode ser estabilizada por uma semana — segundo STANSBY — pela adição de carbonato de sódio à 0,01%. O ponto final da reação cuja importância não é necessário encarecer, nos processos propostos tem a solução de amido como indicador. Ora, é sabido que êste absorve o iodo de acordo com a concentração dêste no meio. Daí diluir-se a solução e cuidar-se de juntar o indicador quando o iodo livre estiver em mínima quantidade. Casos há em que não se tem indicação certa da oportunidade dessa juntada pois muitos óleos atribuem ao meio coloração semelhante à leve amarelo-palha.

A emulsão que se forma, pois a determinação deve ser feita com agitação constante, é mais uma causa que concorre para perturbar a indicação apropriada do momento de juntar-se o indicador. Por esta razão recomendam os autores do presente trabalho a execução sistemática de provas em triplicata em determinações por processos como os presentemente examinados. Acresça-se ainda que no processo do ácido sulfúrico desenvolve-se em alguns óleos, ao invés da coloração azul do complexo amido-iodo, uma coloração púrpura que se atribui à existência da vitamina A no óleo ou gordura. Êste inconveniente perturbador pode ser obviado pela manutenção constante da solução reagente em banho de gelo fundente.

Finalmente, qualquer que seja o processo cuide-se sempre de juntar imediatamente ao lípido dissolvido a solução de iodeto de potássio saturada, bem como usar ácido acético de comprovada pureza

além de realizar sempre prova em branco para tôdas as determinações feitas.

As amostras devem ser prèviamente muito bem homogenizadas, pois as camadas externas, principalmente na manteiga, geralmente apresentam-se rançosas dias antes desta deterioração manifestar-se nas partes internas.

CÁLCULOS

Para qualquer dos processos aplicados, os resultados exprimem-se em moles de peróxido por g de lípido, e são calculados de acôrdo com a seguinte fórmula, originariamente proposta por WHEELER:

$$\text{moles de peróxidos: } \frac{0,5 \times \text{cm}^3 \times N}{g}$$

cm³ = centímetros cúbicos de tiosulfato de sódio gastos.

N = normalidade do tiosulfato de sódio.

g = gramas do lípido.

Costuma-se também exprimir os resultados por 1.000 g do lípido, para o que, após aplicar a fórmula acima, multiplica-se o resultado por 1.000.

PARTE EXPERIMENTAL

Para evidenciarmos, dentro do intuito do presente trabalho, qual dos três processos é mais sensível quando aplicado á banha, á manteiga e ao óleo de caroço de algodão, determinámos o Índice de Peróxidos nessas substâncias; êste índice foi determinado doze vezes pelos três processos no mesmo material. Os pesos utilizados de cada amostra, foram os seguintes, em gramas:

	Óleo de caroço de algodão	Banha	Manteiga
Processo de Wheeler . . .	4,0482 - 4,5015	3,4828 - 3,9454	2,3275 - 4,0318
Processo do HCl	3,8605 - 4,9902	3,7440 - 3,9444	3,3642 - 3,8000
Processo do H ₂ SO ₄	4,2999	3,7590	3,8363

Os resultados das determinações vão adiante tabelados, seguindo-se o estudo estatístico dos mesmos.

ÓLEO DE CAROÇO DE ALGODÃO
Moles de peróxido por 1.000 g de lípido

Processo de Wheeler-Stansby	Processo do Acido clorídrico	Processo do Acido sulfúrico
2,700	2,752	29,797
1,559	3,328	18,895
1,926	2,705	13,081
1,053	4,035	21,802
1,990	3,367	14,535
1,357	3,443	15,988
1,235	3,654	24,709
1,166	3,459	17,442
2,197	3,011	17,442
0,999	2,428	10,174
1,269	3,712	10,174
1,273	2,746	14,535

BANHA

Moles de peróxido por 1.000 g de lípido

Processo de Wheeler-Stansby	Processo do Acido clorídrico	Processo do Acido sulfúrico
16,664	13,702	61,519
13,064	14,375	48,217
19,786	14,823	46,554
17,383	14,576	66,507
18,577	14,197	56,530
19,578	13,601	48,217
18,956	13,492	59,856
14,193	15,646	58,193
16,502	14,972	58,193
12,209	15,055	46,554
17,730	15,585	54,868
10,518	13,531	46,554

MANTEIGA

Moles de peróxido por 1.000 g de lípido

Processo de Wheeler-Stansby	Processo do Acido clorídrico	Processo do Acido sulfúrico
1,718	2,295	17,920
1,967	2,236	8,145
1,488	2,080	8,145
1,546	2,411	8,145
1,668	2,326	8,145
1,768	2,360	9,775
1,864	2,297	14,662
1,465	2,282	11,404
1,781	2,384	17,920
1,545	2,295	14,662
1,399	2,372	11,404
1,405	2,321	17,920

COMPARAÇÃO DE PROCESSOS DE DETERMINAÇÃO DO VALOR PERÓXIDO

Material	Óleo de caroço de algodão			Banha			Manteiga		
	Wheeler	HCl	H ₂ SO ₄	Wheeler	HCl	H ₂ SO ₄	Wheeler	HCl	H ₂ SO ₄
M (média)	1,560	3,220	17,381	16,263	14,463	54,313	1,635	2,305	12,354
σ (variabilidade)	0,38	0,46	5,59	2,94	0,60	6,59	0,17	0,08	3,90
C.V. (% de variabilidade)	24,67	14,50	32,16	18,08	4,15	12,13	10,95	3,58	31,57
N (N.º de mensurações).	12	12	12	12	12	12	12	12	12

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS PROCESSOS DE DETERMINAÇÃO DO VALOR PERÓXIDO

Material	Óleo de caroço de algodão			Banha			Manteiga		
	Wheeler HCl	H ₂ SO ₄ Wheeler	H ₂ SO ₄ HCl	Wheeler HCl	H ₂ SO ₄ Wheeler	H ₂ SO ₄ HCl	Wheeler HCl	H ₂ SO ₄ Wheeler	H ₂ SO ₄ HCl
F (Teste de variabilidade)	2,8997	1,6978	4,9230	18,9816	2,2151	8,5694	9,3470	8,3288	77,8499
No nível 5%	Diferença signif.	Diferença não sig.	Diferença signif.	Diferença signif.	Diferença não sig.	Diferença signif.	Diferença signif.	Diferença signif.	Diferença signif.
No nível 1%	Diferença não sig.	>	>	>	>	>	>	>	>

CONCLUSÕES

Em face dos resultados obtidos e estribados na análise estatística, concluimos:

1) De acôrdo com a análise da variância — Test F — a variabilidade dos processos de WHEELER-STANSBY e do Ácido sulfúrico, nos níveis de 5% e 1% pode ser, no caso da banha e do óleo de caroço de algodão, atribuível ao acaso, o mesmo não se dando com referência à manteiga. No entretanto, devido à alta percentagem dessa variabilidade, não são os mesmos recomendáveis.

2) Dos processos examinados, o mais sensível para determinação do Índice de Peróxidos em óleo de caroço de algodão, banha e manteiga, contrariamente ao observado por STANSBY em óleo de peixe, é o do Ácido clorídrico, por apresentar menor percentagem de variabilidade.

3) O processo de WHEELER-STANSBY apresentou alta percentagem de variabilidade mesmo em amostras de pêso bem próximo.

4) O processo do Ácido sulfúrico apresentou, no óleo de caroço de algodão e na manteiga, as maiores percentagens de variabilidade, comparativamente aos outros dois.

RESUMO

Os autores determinaram o Índice de Peróxidos no óleo de caroço de algodão, na banha e na manteiga, pelos processos de WHEELER (modificado por STANSBY), do Ácido clorídrico e do Ácido sulfúrico, tal como foram descritos por STANSBY. Executaram as determinações pelos três processos utilizando-se da mesma amostra e realizando-as em número de doze para cada uma delas.

Dos resultados obtidos, e após submetê-los à análise estatística — Test F — concluem:

1) De acôrdo com a análise da variância — Test F — a variabilidade dos processos de WHEELER-STANSBY e do Ácido sulfúrico, nos níveis de 5% e 1% pode ser, no caso da banha e do óleo de caroço de algodão, atribuível ao acaso, o mesmo não se dando com referência à manteiga. No entretanto, devido à alta percentagem dessa variabilidade, não são os mesmos recomendáveis.

2) Dos processos examinados, o mais sensível para determinação do Índice de Peróxidos em óleo de caroço de algodão, banha e manteiga, contrariamente ao observado por STANSBY em óleo de peixe, é o do Ácido clorídrico, por apresentar menor percentagem de variabilidade.

3) O processo de WHEELER-STANSBY apresentou alta percentagem de variabilidade mesmo em amostras de pêso bem próximo.

4) O processo do Ácido sulfúrico apresentou, no óleo de caroço de algodão e na manteiga, as maiores percentagens de variabilidade, comparativamente aos outros dois.

CONCLUSIONS

In view of the results obtained, and based upon statistical analysis, we draw the following conclusions:

1) *Analysis of variance — Test F — was performed; according to it, variance of WHEELER-STANSBY'S of sulphuric acid process, referring to lard and cotton-seed oil, may be due to chance. The same does not go for butter. But, owing to the high percentage of this variance, they are not to be recommended.*

2) *The most accurate process for determining the rate of peroxide in cotton-seed oil, lard and butter, from those examined, is the one employing chlorhydric acid; it presents a lower rate of variance. STANSBY observed the opposite of this concerning fish oil.*

3) *WHEELER-STANSBY'S process presented high rate of variance, even when samples were approximately of the same weight.*

4) *Sulphuric acid process presented higher rates of variability as compared with the other two, when concerning butter and cotton-seed oil.*

SUMMARY

The AA. determined the rates of peroxide in cotton-seed oil, lard and butter, by the processes of WHEELER (modified by STANSBY), of chlorhydric acid and of sulphuric acid, the very way STANSBY described them. Determinations were made by all three processes, making use of the same sample, numbering twelve for each. The AA. were able to draw the following conclusions with the results obtained, after submitting them to statistical analysis — Test F:

1) *Analysis of variance — Test F — was performed; according to it, variance of WHEELER-STANSBY'S of sulphuric acid process, referring to lard and cotton-seed oil, may be due to chance. The same does not go for butter. But, owing to the high percentage of this variance, they are not to be recommended.*

2) *The most accurate process for determining the rate of peroxide in cotton-seed oil, lard and butter, from those examined, is the one employing chlorhydric acid; it presents a lower rate of variance. STANSBY observed the opposite of this concernig fish oil.*

3) WHEELER-STANSBY's process presented high rate of variance, even when samples were approximately of the same weight.

4) Sulphuric acid process presented higher rates of variability as compared with the other two, when concerning butter and cotton-seed oil.

BIBLIOGRAFIA

- STANSBY, M. — 1941 — Determination of peroxide values for rancidity in fish oils. *Jour. Ind. Eng. Chem., Anal. ed.* 13: 627.
- WHEELER, D. H. — 1932 — Peroxide formation as a measure of autoxidative deterioration. *Oil & Soap*, 9: 89-97.
- WINTON, A. L. — WINTON, K. B. — 1945 — The analysis of foods — New York, John Wiley & Sons, Inc.
-