

DEGRADAÇÃO TÉRMICA DE TOCOFEROL E PRODUTOS DE OXIDAÇÃO EM DIFERENTES CLASSES DE AZEITE DE OLIVA UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS E MCR-ALS

Rhayanna P. Gonçalves, Paulo H. Março e Patrícia Valderrama*

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 87301-899 Campo Mourão – PR, Brasil

Recebido em 26/01/2015; aceito em 02/03/2015; publicado na web em 30/04/2015

THERMAL DEGRADATION OF TOCOPHEROL AND OXIDATION PRODUCTS IN DIFFERENT OLIVE OIL CLASSES USING UV-VIS SPECTROSCOPY AND MCR-ALS. Extra virgin olive oil, virgin olive oil and mixed oil were analyzed by UV-Vis spectroscopy and Multivariate Curve Resolution with Alternating Least Squares (MCR-ALS). When the oils were heated at high temperatures (frying), oxidation products were formed which were harmful to human health and antioxidants present were degraded. The aim of this study was to evaluate tocopherol (an antioxidant present in oils) and the behaviour of oxidation products in different olive oil classes. MCR-ALS results showed that degradation started at 70 °C for extra virgin olive oil, while tocopherol concentration decreased and oxidation products increased starting at 40 °C in virgin olive oil. In mixed oil, commercialized as a mixture of 85% soybean oil and 15% olive oil, tocopherol concentration started to decrease and oxidation products increase at 30 °C. The results suggested that extra virgin olive oil offered more resistance to increasing temperatures, while virgin olive oil and mixed oil were less resistant.

Keywords: olive oil; resolution method; signal separation.

INTRODUÇÃO

Os óleos vegetais sofrem algumas reações na presença de oxigênio e água. Estas reações são aceleradas durante o aquecimento, ou seja, durante o cozimento de alimentos, e/ou frituras. Os produtos dessas reações apresentam um alto impacto no sabor, aroma e qualidade nutricional dos óleos com significativa implicação na saúde humana, como um aumento na incidência de arteriosclerose e doenças do coração.¹ Estas reações podem incluir, por exemplo, hidrólise, oxidação, isomerização e polimerização.² Os compostos produzidos durante o aquecimento de óleos vegetais incluem hidroperóxidos, aldeídos, alcoóis e ácidos.³

O azeite, ou óleo de oliva extra virgem exibe resistência aos processos oxidativos devido ao seu alto conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados (55-88%), baixo conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados (2-21%) e a presença de grande quantidade de compostos fenólicos antioxidantes que podem inibir a produção de hidroperóxidos.² O óleo de oliva apresenta ainda em sua composição o tocoferol, ou vitamina E, com composição entre 100 e 380 mg/kg. A razão entre o conteúdo de tocoferol e a quantidade de ácidos graxos poliinsaturados é relativamente alta nos óleos de oliva (1,2) em comparação com os outros óleos vegetais, como por exemplo, o óleo de soja (0,25). Isto significa que os óleos de oliva apresentam menor suscetibilidade a sofrer oxidação do que o óleo de soja.⁴ Entretanto, essa informação é válida para o azeite de oliva extra virgem, não podendo ser estendidas aos azeites de oliva virgem, refinados e aos óleos compostos, que contém apenas uma percentagem de azeite de oliva em suas composições.

As categorias/classes dos azeites de oliva são estabelecidas por legislação específica de cada país e por padrões internacionais definidos pela Comissão do *Codex Alimentarius*, sendo elas:^{5,6}

a) azeite de oliva extra virgem: esse tipo é considerado de altíssima qualidade e pode ser vendido direto ao consumidor. Não sofre nenhum refino químico, apresentando grau de acidez menor que

0,8%. É o mais saudável e completo entre todos e o responsável pelos efeitos benéficos à saúde humana;

- b) azeite de oliva virgem: apesar de ter uma qualidade inferior ao do extra virgem, esse tipo de azeite também pode ser vendido diretamente ao consumidor. Seu uso é principalmente culinário, sendo comercializado ainda misturado a outros tipos de óleos. Sua acidez varia de 0,81% a 2%;
- c) azeite de oliva virgem lampante: esse tipo de azeite é impróprio para o consumo, pois seu odor e paladar são inadequados e sua acidez é acima de 3,3%, sendo comercializado apenas quando misturado com outros azeites ou óleos de sementes;
- d) azeite refinado: o azeite de oliva virgem lampante pode ser refinado quimicamente, cujo processo resulta em perda do gosto, da cor, do aroma e de grande parte das vitaminas (de 20% a 40%). Obtém-se, assim, um azeite refinado com acidez próxima a 0,5%. Esse tipo não faz mal à saúde, apenas perde em sabor e tem menos nutriente (inclusive alguns benéficos à saúde). O azeite refinado destina-se à utilização industrial, ou seja, é misturado com outros azeites de oliva (virgem ou extra virgem), atingindo valor de acidez não maior que 1,5%;
- e) azeite composto: produto de uso popular e com grande venda no mercado, mas com baixa qualidade. É resultado da mistura do azeite de oliva virgem lampante (15%) e óleo de soja (85%).

O objetivo do trabalho consistiu em avaliar a degradação térmica de tocoferol e formação de produtos de oxidação de azeites de oliva dos tipos extra virgem, virgem e composto empregando a espectroscopia ultravioleta-visível (UV-Vis) e o método quimiométrico de resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes (MCR-ALS).

Os métodos quimiométricos utilizam de matemática e estatística para auxiliar o tratamento dos dados químicos, no intuito de se extrair uma maior quantidade de informações dos dados instrumentais.⁷ Um destaque para esse tipo de metodologia consiste na possibilidade de utilização de amostras sem necessidade de preparo prévio, a não geração de resíduos tóxicos e a não utilização de reagentes e solventes químicos, sendo, portanto, considerada uma metodologia rápida e de menor custo em relação às metodologias convencionais

*e-mail: patriciav@utfpr.edu.br

já empregadas nos estudos de degradação térmica de óleos como a cromatografia líquida de alta eficiência,⁸ cromatografia gasosa^{8,9} e a espectrometria de massas.¹⁰ Atualmente, o emprego de métodos quimiométricos aliados à espectroscopia parece ser uma tendência nos mais diversos campos de análises. No caso de óleos comestíveis, destaca-se o emprego da espectroscopia de fluorescência molecular,¹¹ no infravermelho médio,¹²⁻¹⁴ a ressonância magnética nuclear¹⁵ e a espectroscopia na região do UV-Vis^{16,17} no estudo da degradação térmica de diferentes tipos de óleos.

Nos países Europeus é sabido que existe uma proibição da comercialização de azeite de oliva diferente do extra virgem. No Brasil, a Resolução número 482, de 23 de setembro de 1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, regulamenta a fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais,¹⁸ tornando possível a comercialização do azeite de oliva dos tipos extra virgem, virgem e em composição com outros óleos vegetais (azeite composto). Alguns estudos já foram conduzidos no sentido de avaliar a identidade e qualidade do azeite de oliva consumido no país,^{19,20} entretanto, não foram encontrados relatos acerca do estudo da degradação térmica do tocoferol presente nesses diferentes tipos de azeite, bem como da formação de produtos de oxidação.

Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes (MCR-ALS)

Esse método quimiométrico, incluído na classe de métodos de análise de fatores,²¹ foi descrito em detalhes em uma revisão recentemente publicada em português.²² Fazendo uma abordagem breve sobre o MCR-ALS, seus objetivos principais são o isolamento ou resolução dos sinais instrumentais, relativos aos componentes de uma mistura, sem a necessidade de separações físicas, e a quantificação das fontes de variação em um determinado conjunto de dados. Dessa forma, o MCR-ALS recupera informações misturadas não seletivas provenientes de uma matriz de dados (**D**) em contribuições reais dos componentes puros no sistema (representados pelos perfis de concentração em **C** e perfis espectrais em **S^T**), por meio de um processo iterativo de mínimos quadrados alternantes (ALS).²³

$$\mathbf{D} = \mathbf{CS}^T \quad (1)$$

Uma das grandes vantagens deste método é que nenhuma hipótese a priori sobre a contribuição dos diferentes fatores na resposta global é necessária e isso torna o método bastante atrativo no estudo de problemas químicos complexos.²⁴

Para que o método MCR-ALS possa ser aplicado torna-se necessário: 1) estimar o posto (*rank*) da matriz de dados instrumentais; 2) realizar estimativas iniciais para **C** ou **S**; 3) aplicar restrições objetivando reduzir ambiguidades nos resultados; 4) otimização via mínimos quadrados alternantes. Maiores informações sobre cada um desses passos podem ser obtidos no trabalho de revisão dedicado ao assunto.²²

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais

Azeite de oliva extra virgem (marca Quinta d'Aldeia, origem Portuguesa, 2 amostras de lotes diferentes), azeite de oliva virgem (marca Quinta d'Aldeia, origem Portuguesa, 2 amostras de lotes diferentes), azeite composto (marca Maria, 2 amostras de lotes diferentes). As medidas de absorvância foram realizadas em um espectrômetro Ocean Optics modelo USB-650-UV-VIS utilizando uma cubeta de quartzo com caminho ótico de 1 mm.

Métodos

Um primeiro espectro de cada amostra foi adquirido em temperatura ambiente de aproximadamente 27 °C. Cada uma das amostras foi aquecida de 30 °C até 170 °C, com um espectro coletado a cada diferença de 10 °C na temperatura. Esta faixa de temperatura foi escolhida para a análise levando-se em consideração o valor médio da temperatura observada durante frituras, que é de 162 °C.²⁵ Os experimentos foram conduzidos em sistema aberto, simulando um ambiente utilizado em fritura.

Para as análises utilizou-se a região UV-Vis de 300 a 540 nm. Os dados experimentais foram processados utilizando o software MatLab R2007b com aplicação das ferramentas para a utilização do MCR-ALS disponibilizadas pelo Professor Romà Tauler.²⁶

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros obtidos para cada uma das amostras passaram por um rearranjo para a forma matemática matricial, no qual as linhas correspondem ao número das amostras (espectros em diferentes temperaturas) e as colunas referem-se aos valores de absorvância nos diferentes comprimentos de onda. Dessa forma, tem-se um arranjo matricial por amostra (16 x 120), ou seja, 16 amostras, correspondentes ao aquecimento das amostras em diferentes temperaturas, por 120 valores de absorvância, correspondentes ao intervalo analisado entre 300 e 540 nm, com absorvância a cada 2 nm. A Figura 1 ilustra os espectros das diferentes classes de azeite que foram analisadas.

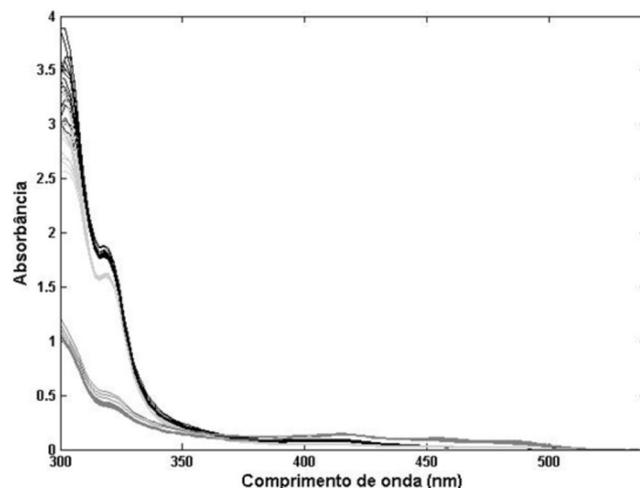


Figura 1. Espectro UV-Vis de diferentes classes de azeite de oliva (—) virgem, (—) extra virgem, (—) composto

Apesar da dificuldade na determinação exata do número de contribuições químicas (posto) quando se trabalha com o método quimiométrico MCR-ALS, o processo é facilitado quando se tem conhecimento do sistema químico em análise. No caso dos óleos comestíveis, segundo a literatura,^{11,16} a região entre 400 – 450 nm corresponde à absorção referente aos produtos de oxidação, formados quando o óleo é aquecido, e o tocoferol apresenta uma banda de absorção com máximo em 325 nm.¹⁶ Portanto, para o posto de cada uma das matrizes desse estudo foram consideradas duas espécies diferentes (pseudo *rank*), de acordo com a literatura¹⁶ e com os objetivos do trabalho de avaliar o perfil de degradação térmica do tocoferol e a formação de produtos de oxidação. Na inicialização do algoritmo MCR-ALS utilizou-se o PURE²⁷ para obtenção das estimativas iniciais de **S**. O PURE, derivado do método SIMPLISMA (do inglês, *SIMPL*e-to-use *InteractiveS* *Mixture* *Analysis*), busca e seleciona a

variável mais pura com base na determinação de um ângulo máximo entre as variáveis. Como restrições foram empregadas não negatividade para C e S e balanço de massas (*closure*) para C.

As matrizes, analisadas por meio do método quimiométrico MCR-ALS, possibilitaram a obtenção dos valores de concentração relativa (Figura 2) e espectros dos compostos puros (Figura 3) referentes conteúdo de tocoferol e dos produtos de oxidação.

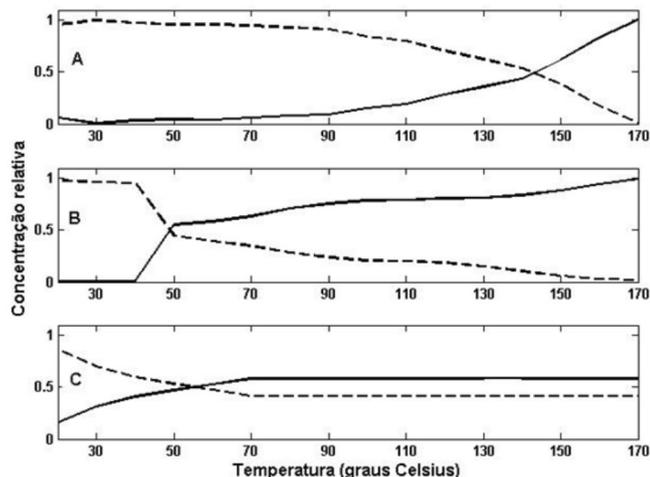


Figura 2. Resultados de MCR-ALS para os perfis de concentração de azeite de oliva (A) extra virgem, (B) virgem, (C) composto. (—) Produtos de oxidação, (---) Tocoferol

Com o aquecimento térmico, o tocoferol sofre degradação favorecendo a formação de produtos de oxidação.¹⁶ O azeite de oliva extra virgem não contém inicialmente produtos de oxidação devido ao efeito antioxidante do tocoferol e ao baixo conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados.² O azeite composto é o que começa a formar produtos de oxidação e degradar o tocoferol em temperatura mais baixa. Isso ocorre porque o azeite composto apresenta 85% de óleo de soja em sua composição e o óleo de soja apresenta uma quantidade muito menor de tocoferol e muito maior de ácidos graxos poliinsaturados em relação ao azeite de oliva extra virgem.^{2,13} Ainda, no óleo de soja, é predominante o γ -tocoferol,²⁸ que apresenta atividade antioxidante menor que o α -tocoferol. O α -tocoferol é considerado o isômero de maior atividade antioxidante e seu conteúdo é maior no óleo de girassol, seguido pelos óleos de canola, oliva, milho e soja, com a menor quantidade desse antioxidante.²⁹ Além disso, os demais 15% da composição desse tipo de azeite é devido a azeites de oliva de baixa qualidade. Nesse tipo de azeite composto verifica-se a presença de produtos de oxidação desde a temperatura ambiente e sua degradação se inicia na temperatura de 30 °C. Essa temperatura está abaixo da temperatura na qual se inicia a degradação do óleo de soja puro que é de 50 °C, na qual, em estudos de degradação, também é verificada a presença de produtos de oxidação desde a temperatura ambiente, provavelmente devido à comercialização do óleo de soja em embalagem plástica transparente, às formas de estocagem do produto e a sua exposição a luz.¹⁶

Enquanto o azeite de oliva extra virgem inicia sua degradação em 70 °C, o azeite de oliva virgem tem sua degradação iniciada em 40 °C, o que sugere que seu conteúdo de tocoferol e de ácidos graxos poliinsaturados seja intermediário ao conteúdo desses componentes no azeite de oliva extra virgem e no azeite composto. De qualquer forma, o consumo de azeite de oliva objetivando a saúde cardiovascular e os benefícios de seu poder antioxidante são obtidos com o consumo do azeite de oliva extra virgem em temperatura ambiente.³⁰

O perfil espectral recuperado pelo MCR-ALS está de acordo com o perfil espectral do tocoferol e dos produtos de oxidação reportados

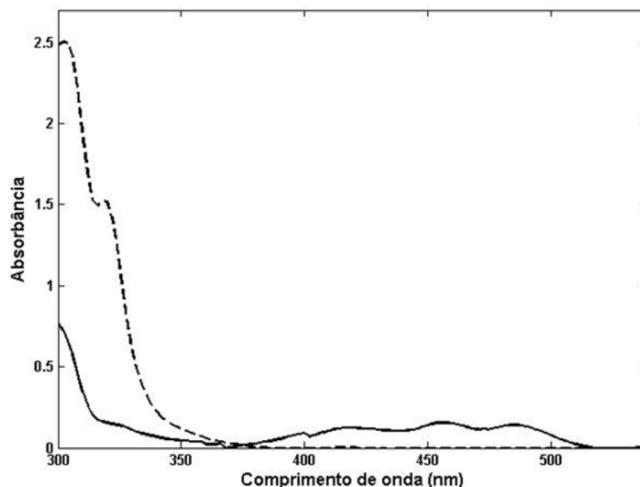


Figura 3. Perfil espectral recuperado por MCR-ALS para (—) Produtos de oxidação, (---) Tocoferol

na literatura,^{11,16} segundo a qual se observa absorção entre 400–450 nm e um máximo de absorção do tocoferol em 325 nm.

CONCLUSÃO

A utilização do método quimiométrico MCR-ALS aliado à espectroscopia UV-Vis promoveu a obtenção de informações acerca da degradação do tocoferol e da formação de produtos de oxidação em diferentes classes de azeite de oliva submetidos ao tratamento térmico.

Os resultados sugerem que o MCR-ALS pode ser empregado na determinação da contribuição dos compostos químicos responsáveis pelo fenômeno de oxidação. Além disso, o método pode servir para comparar diferentes óleos de acordo com suas estabilidades térmicas.

AGRADECIMENTOS

Programa de Infraestrutura para Jovens Pesquisadores - Programa Primeiros Projetos – PPP, Chamada de Projetos 14/2011, convênio nº 223/2013.

REFERÊNCIAS

- Brown, W. V.; Karmally, W.; Kris-Etherton, P.; Rudel, L. R.; *J. Clin. Lipidol.* **2009**, *3*, 303.
- Tena, N.; Garcia-González, D. L.; Aparicio, R.; *J. Agr. Food Chem.* **2009**, *57*, 10505.
- Moros, J.; Roth, M.; Garrigues, S.; Guardia, M.; *Food Chem.* **2009**, *114*, 1529.
- Cheikhousman, R.; Zude, M.; Bouveresse, D. J. R.; Léger, C. L.; Rutledge, D. N.; Birlouez-Aragon, I.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *382*, 143.
- Fao/Who.; *Codex standard for olive oil, virgin and refined and for refined olive-pomace oil*, Codex alimentarius, Rome, 2001, *8*, 25-39. (Codex Alimentarius. Codex Stan, 33).
- Oliveira, A. F.; Barcelos, M. F. P.; Gonçalves, E. D.; Neto, J. V.; *Circular Técnica EPAMIG* **2008**, *40*, 1.
- Otto, M.; *Chemometrics*, Wiley: Weinheim, 1999.
- Galeano Díaz, T.; Rodríguez Cáceres, M. I.; Roldán Murillo, B.; *Food Chem.* **2007**, *105*, 1583.
- Moreda, W.; Pérez-Carmino, M. C.; Cert, A.; *J. Chromatogr. A* **2001**, *936*, 159.
- Purcaro, G.; Morrison, P.; Moret, S.; Conte, L. S.; Marriott, P. J.; *J. Chromatogr. A* **2007**, *1161*, 284.

11. Valderrama, P.; Março, P. H.; Locquet, N.; Ammari, F.; Rutledge, D. N.; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2011**, *106*, 166.
12. Climaco Pinto, R.; Locquet, N.; Eveleigh, L.; Rutledge, D. N.; *Food Chem.* **2010**, *120*, 1170.
13. Le Dréau, Y.; Dupuy, N.; Artaud, J.; Ollivier, D.; Kister, J.; *Talanta* **2009**, *77*, 1748.
14. Ammari, F.; Bouveresse, D. J. R.; Eveleigh, L.; Boughanmi, N.; Rutledge, D. N.; *Journal of Food Measurement and Characterization* **2013**, *7*, 90.
15. Cordella, C. B. Y.; Tekye, T.; Rutledge, D. N.; Leardi, R.; *Talanta* **2012**, *88*, 358.
16. Gonçalves, R. P.; Março, P. H.; Valderrama, P.; *Food Chem.* **2014**, *163*, 83.
17. Gonçalves, R. P.; Março, P. H.; Valderrama, P.; *J. Food Process. Technol.* **2014**, *5*, 1.
18. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 482, de 23 de setembro de 1999. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais. Disponível em: www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B8994-1-0%5D.pdf, acessada em Janeiro 2015.
19. Peixoto, E. R. M.; Santana, D. M. M.; Abrantes, S.; *Food Sci. Technol.* **1998**, *18*, 444.
20. Antoniassi, R.; Pereira, D. A.; Szpiz, R. R.; Jablonka, F. H.; Lago, R. C. A.; *Braz. J. Food Technol.* **1998**, *1*, 32.
21. Malik, A.; Tauler, R.; *Anal. Chim. Acta* **2013**, *794*, 20.
22. Março, P. H.; Valderrama, P.; Alexandrino, G. L.; Poppi, R. J.; Tauler, R.; *Quim. Nova* **2014**, *37*, 1525.
23. Jaumot, J.; Gargallo, R.; de Juan, A.; Tauler, R.; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2005**, *76*, 101.
24. de Juan, A.; Navea, S.; Diewok, J.; Tauler, R.; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2004**, *70*, 11.
25. Ramalho, V. C.; Jorge, N.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 755.
26. Tauler, R.; MCR Web Page: <http://www.ub.edu/mcr/welcome.html>, acessada em Dezembro 2014.
27. Widing, W.; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **1988**, *4*, 201.
28. Guinazi, M.; Milagres, R. C. R. M.; Pinheiro-Sant'Ana, H. M.; Chaves, J. B. P.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 2098.
29. Yoshida, Y.; Niki, E.; Noguchi, N.; *Chem. Phys. Lipids* **2003**, *123*, 63.
30. Bardi, C.; *Azeite de Oliva*, Melhoramentos: São Paulo, 2012.