



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO - UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS SAÚDE E TECNOLOGIA - CCSST
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JAKELINE DA SILVA GOMES

ESTUDO DA MISTURA AZEITE DE OLIVA – ÓLEO DE SOJA VIA
ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ÓPTICA

IMPERATRIZ-MA

2013

JAKELINE DA SILVA GOMES

**ESTUDO DA MISTURA AZEITE DE OLIVA – ÓLEO DE SOJA VIA ESPECTROSCOPIA
DE ABSORÇÃO ÓPTICA**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Franciana Pedrochi

IMPERATRIZ-MA

2013

Gomes, Jakeline da Silva

Estudo da mistura azeite de oliva – óleo de soja via espectroscopia de absorção óptica / Jakeline da Silva Gomes. - Imperatriz, 2013.
53f.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Franciana Pedrochi.

Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Curso de Bacharel em Engenharia de Alimentos, Campus Avançado do Bom Jesus / Universidade Federal do Maranhão (UFMA), 2013.

1. Óleos e gorduras vegetais 2. Azeite de oliva 2. Óleo de soja 3. Óleos compostos – adulteração 4. Espectroscopia de absorção I Título.

CDU 665.32/.33
G633e

JAKELINE DA SILVA GOMES

**ESTUDO DA MISTURA AZEITE DE OLIVA – ÓLEO DE SOJA VIA
ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ÓPTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão como pré-requisito para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Aprovada em: 13 / 12 / 2013

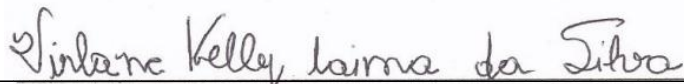
BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Franciana Pedrochi
Orientadora – CCSST/UFMA



Prof.^a Dr.^a Marta Célia Dantas Silva
Membro - CCSST/UFMA



Prof.^a Dr.^a Virlane Kelly Lima da Silva
Membro - CCSST/UFMA

À Deus pela minha vida. Aos meus pais Waldemir e Eulália, ao meu irmão Ramon, pelo apoio, amor e compreensão. A eles dedico esse trabalho com todo meu amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre esteve comigo e até aqui nunca me desamparou, que me concedeu proteção, determinação e a graça de concluir mais uma etapa em minha vida.

Aos meus pais, Eulália Gomes e Waldemir Tavares meus exemplos de vida, pelo apoio, compreensão, carinho e pelos esforços feitos para que eu tivesse uma educação de qualidade.

Ao meu irmão Ramon que também sempre me apoiou.

À toda minha família que me orgulho de fazer parte, pelo carinho, incentivo a nunca desistir dos meus sonhos e pela ajuda sempre que precisava da atenção.

A minha orientadora, professora Dr.^a. Franciana Pedrochi, pelos ensinamentos, paciência e dedicação indispensáveis no auxílio à concretização dessa monografia, além de ser uma profissional dedicada e inspiradora.

Às Prof. Dr.^a Marta Célia e Prof.^a Dr.^a Virlane Kelly Lima da Silva, por terem aceitado participar da minha banca, por serem de grande ajuda e valor pra esse trabalho, pelos ensinamentos transmitidos ao longo do curso e pelos belíssimos profissionais que são.

Agradeço a todos os professores do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão pela dedicação e pelos conhecimentos compartilhados durante minha graduação.

Ao Grupo de pesquisa GPCMB (Preparação e Caracterização de Materiais e Biocombustíveis) no qual fiz parte e foi fundamental no meu aprendizado científico.

A todos meus amigos especialmente Erivania Patrocino, Diva Andrade e Fernando Araújo por todo o companheirismo e amizade sincera durante o curso. Esta caminhada não seria a mesma sem vocês meus amigos.

E a todos aqueles que, de forma direta ou indireta, colaboram para realização desse sonho.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo propósito debaixo do céu: Há tempo de nascer, e tempo de morrer; tempo de plantar, e tempo de colher o que se plantou...”
(Eclesiastes 3:1,2)

RESUMO

O azeite de oliva é considerado como a opção mais saudável entre os azeites comestíveis, razão pela qual a produção e consumo têm crescido, nos últimos anos, em todo o mundo. Em virtude deste crescimento e do seu alto valor comercial, o azeite de oliva e óleos compostos de soja e azeite de oliva vêm sendo alvo frequente de adulterações. O objetivo do trabalho foi estudar a mistura azeite de oliva – óleo de soja via espectroscopia de absorção óptica sem o uso de solventes, comparando com óleos comerciais compostos de soja com 10 e 15% de azeite de oliva. Foram preparadas 12 misturas de óleo de soja e azeite de oliva em diferentes concentrações a fim de comparar com as amostras compostas já comercializadas. As medidas de absorção óptica foram realizadas utilizando espectrofotômetro UV-VIS-NIR marca Shimadzu, modelo UV-3600. O intervalo de comprimento de onda selecionado foi de 180 a 3300nm (desde o ultravioleta próximo passando por toda a região do espectro do visível até o infravermelho). Os resultados obtidos revelaram espectros com picos bem definidos para amostra de azeite de oliva (414, 452, 484 e 670nm) e a ausência dos mesmos na amostra de óleo de soja. Estes picos são característicos do azeite de oliva em virtude da quantidade significativa de clorofila e/ou seus derivados (feofitinas) presente no mesmo. Nos espectros de absorção para as amostras de óleo de soja e azeite de oliva e suas respectivas misturas e concentrações observou-se um aumento na intensidade dos picos conforme aumentava-se a concentração de azeite de oliva nas misturas. Nos espectros dos óleos comerciais compostos de soja e azeite de oliva (10 e 15%) observou-se um comportamento diferenciado do óleo comercial composto de soja com 10% de azeite de oliva o que nos levou a deduzir que possivelmente pode-se ter adicionado clorofila *b* ao óleo. Posterior análise que será realizada por meio de técnicas complementares como FTIR e HPLC poderão corroborar tal resultado, auxiliando na identificação dos componentes das amostras.

Palavras-chave: Azeite de oliva. Óleo de soja. Adulterações. Espectroscopia de Absorção Óptica.

ABSTRACT

Olive oil is considered the healthiest option among edible oils, which is the cause of the production and consumption have grown in recent years worldwide. Because of this growth and its high commercial value, olive oil and mixture with soybean and olive oil has been a frequent target of adulteration. The aim of this work was to study the mixture olive oil - soybean oil via optical absorption spectroscopy without using solvents, comparing with commercial soy oils with 10 and 15% of olive oil. Twelve mixtures of soybean oil and olive oil were prepared at different concentrations in order to compare with already commercialized composite samples. The optical absorption measurements were performed using a spectrophotometer UV-VIS-NIR Shimadzu UV-3600. The wavelength range was from 180 to 3300nm (from the near ultraviolet through the entire region of the visible spectrum into the infrared). The results revealed spectra with well-defined peaks for sample olive oil (414, 452, 484 and 670nm) and its absence in the sample of soybean oil. These peaks are characteristic of olive oil due to the significant amount of chlorophyll and / or its derivatives (phaeophytins) present therein. In the absorption spectra for samples of soybean oil and olive oil and mixtures and their respective concentrations observed an increase in the peak intensity increased as the concentration of olive oil blends. In the spectra of commercial oils soy compounds and olive oil (10 and 15%) was observed differential behavior of commercial soy oil compound with 10% olive oil which led us to conclude that possibly may have added chlorophyll b to oil. Additional analysis that will be done through FTIR and HPLC techniques can to corroborate that result, aiding to identify all samples constituents.

Keywords: Olive oil. Soybean oil. Adulteration. Optical absorption spectroscopy.

LISTA DE FIGURA

Figura 1 – Representação da reação de esterificação do glicerol.....	15
Figura 2 – Representação de um triacilglicerol.....	15
Figura 3 – Representação de um ácido graxo.....	15
Figura 4 – Estrutura dos isômeros cis (ácido oléico) e trans (ácido elaídico).....	17
Figura 5 – Estrutura química da clorofila <i>a</i> e clorofila <i>b</i>	21
Figura 6 – Espectro de absorção da clorofila <i>a</i> (linha contínua) e clorofila <i>b</i> (linha pontuada).....	22
Figura 7 – Espectro de absorção das clorofilas e feofitinas.....	23
Figura 8 – Espectro de absorção característico da clorofila retirada da couve.....	25
Figura 9 – Espectro de absorção obtido a partir de óleos comestíveis.....	26
Figura 10 – Esquema do funcionamento interno de um espectrofotômetro.....	27
Figura 11 – Espectros de absorção para as amostras de azeite de oliva e óleo de soja.....	31
Figura 12 – Espectros de absorção para as amostras de azeite de oliva e azeite de oliva extra virgem.....	34
Figura 13 – Espectros de absorção para as amostras de óleo de soja e azeite de oliva e suas respectivas misturas e concentrações.....	35
Figura 14 – Espectros de absorção para as amostras de óleo de soja e azeite de oliva e óleo composto de soja com 10 e 15% de azeite.....	36
Figura 15 – Espectros de absorção para as amostras de óleo de soja, óleo comercial de soja com 10% de azeite e mistura de óleo de soja com 10% de azeite.....	37
Figura 16 – Espectros de absorção para as amostras de óleo de soja, óleo comercial de soja com 15% de azeite e mistura de óleo de soja com 15% de azeite.....	37

Figura 17 – Espectro de absorção e ajuste por integração para a amostra de azeite de oliva.....	38
Figura 18 – Valores das áreas entre 386-560nm, calculadas por integração.....	40
Figura 19 – Valores das áreas entre 386-560nm, calculadas por integração para as amostras de óleo de soja puro, azeite de oliva puro, misturas (5 a 90%) de azeite e óleos compostos comerciais (10 e 15%) de azeite.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Distribuição de ácidos graxos de alguns óleos e gorduras.....	16
Tabela 2 –	Nomenclatura e ponto de fusão de alguns ácidos graxos.....	17
Tabela 3 –	Percentual de misturas e suas quantidades de azeite de oliva e óleo de soja.....	29
Tabela 4 –	Bandas de absorção do espectro na região do visível.....	32
Tabela 5 –	Parâmetros do ajuste por integração para os espectros de absorção das amostras de azeite de oliva (100%), óleo de soja (0%) e misturas azeite-óleo de soja (5 a 90%).....	39
Tabela 6 –	Parâmetros do ajuste por integração para os espectros de absorção dos óleos compostos comerciais (10 e 15%) de azeite.....	39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Óleos e gorduras vegetais.....	14
2.2 Composição química de óleos vegetais.....	14
2.3 Importância das gorduras e óleos na alimentação humana.....	18
2.4 Azeite de Oliva.....	19
2.4.1 <i>Aspectos nutricionais do azeite de oliva e sua influência na dieta humana.....</i>	<i>20</i>
2.5 Óleo de Soja.....	20
2.6 Clorofila.....	21
2.6.1 <i>Óleos de soja com elevado teores de clorofila.....</i>	<i>23</i>
2.6.2 <i>Análise de clorofila e seus derivados.....</i>	<i>24</i>
2.7 Espectroscopia de Absorção Óptica.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Material.....	29
3.2 Preparo das misturas.....	29
3.3 Medidas de absorbância.....	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1 Espectros de absorção.....	31
5 CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

O rápido crescimento de diferentes setores consumidores de óleos vegetais muito se deve à modificação nos hábitos alimentares em países industrializados, resultado da combinação de mudanças sociais, econômicas e tecnológicas (GENTA *et al.*, 2005). Dentre os diferentes tipos de alimentos o azeite de oliva é considerado como a opção mais saudável entre os azeites comestíveis, razão pela qual a produção e consumo têm crescido, nos últimos anos, em todo o mundo (EMBRAPA, 2011). Com base em dados fornecidos pelo Conselho Oleícola Internacional (COI) em 2008, o consumo mundial de azeite de oliva foi superior a 2,8 milhões de toneladas, sendo o Brasil o quarto maior importador deste produto (CRIZEL *et al.*, 2010).

O azeite de oliva, assim como os outros óleos vegetais, são misturas complexas sendo composto, principalmente, por triacilgliceróis. São encontrados, também, os diacilgliceróis, os ácidos graxos que foram formados pela hidrólise dos triacilgliceróis e alguns compostos fenólicos (CATHARINO *et al.*, 2005).

Existe uma diferença fundamental entre azeites e óleos, a qual está relacionada à origem de tais insumos. No caso dos óleos, como por exemplo, o óleo de soja, a extração se faz a partir das sementes pela utilização de solventes enquanto que os azeites são extraídos dos frutos. No caso do azeite de oliva, a extração é feita por prensagem, sem uso de produtos químicos (CARDOSO, 2006). Outra diferença é que o azeite de oliva não necessita passar por uma etapa de refino antes de ser consumida, ao contrário do óleo de soja, que necessita desta etapa para a remoção de alguns componentes, entre eles, a clorofila.

A clorofila presente nos grãos de soja pode interferir na qualidade do óleo extraído a partir deles. A maioria desses pigmentos é lipossolúvel e por isso os pigmentos verdes são extraídos juntamente com o óleo, resultando numa coloração escura. Na presença de clorofilas, a vida de prateleira do óleo e a eficiência dos catalisadores usado na hidrogenação são reduzidas, levando à necessidade de remover os pigmentos no processo de refino, elevando assim significativamente os custos de produção (TAUTORUS & LOW, 1993). Já no azeite de oliva a remoção deste pigmento é indesejável, uma vez que é interessante manter a cor verde.

Devido às suas características sensoriais excepcionais, aos inúmeros benefícios à saúde, ao alto valor agregado e à sua produção limitada, o azeite de oliva vem sendo alvo frequente de adulterações, sendo a mais habitual, a adição de outros óleos vegetais de menor valor comercial. Contudo, outras fraudes menos grotescas, relativas à qualidade do azeite de

oliva, podem ocorrer devido às diferentes categorias de azeites existentes, o que pode confundir o consumidor (ALVES, 2010). Óleos compostos de soja e azeite de oliva também têm sido alvo de adulterações.

Vários trabalhos realizados no Brasil e no mundo têm usado a técnica de espectroscopia óptica para estudar estes azeites e óleos. Porém, fazem uso da técnica juntamente com o uso de solventes orgânicos como diluente na amostra em que se deseja analisar o que pode não ser tão eficaz em virtude de que o comprimento de onda exato de absorção máxima de alguns componentes da amostra é dependente da identidade do solvente utilizado. Além disso, o uso de solventes traz o problema de descarte das amostras, enquanto que amostras de óleo puro podem ser reutilizadas para fins menos nobres, e a não necessidade da solubilização torna o processo de análise mais fácil e rápido, não demandando um local específico para tal análise.

Levando-se em consideração toda esta problemática, este trabalho teve como objetivo estudar a mistura azeite de oliva – óleo de soja via espectroscopia óptica sem o uso de solventes, comparando com óleos comerciais compostos de soja e azeite de oliva de diferentes concentrações.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Óleos e gorduras vegetais

Os óleos e gorduras constituem uma parte do grupo de macronutrientes denominados lipídios, os quais se apresentam em quantidades altamente variáveis em diversos tipos de alimentos. Os lipídios têm um papel importante em nossa alimentação, pois são fontes concentradas de energia que provêm 9 kcal/g, aproximadamente o dobro das calorias providas pelas proteínas e carboidratos. Além disso, desempenham funções importantes na fisiologia humana, como participantes na constituição de diversos tecidos, principalmente adiposo e nervoso, atuação como isolantes térmicos, promovendo a proteção dos órgãos e da pele, e precursores na síntese de hormônios e lipoproteínas (OLIVEIRA, 2009).

Ao analisar a composição da fração lipídica de um grão oleaginoso, músculo ou tecido animal, um alimento ou uma refeição processada são descobertos desde os triglicerídeos predominantes, na sua maioria fosfolipídeos, ceras, ácidos graxos, seus elementos majoritários, e toda uma gama de substâncias que não apresentam ácidos graxos em sua composição, mas que se enquadram na classe dos lipídios. Esses outros componentes podem variar de esteróis, alcoóis graxos ou terpênicos e hidrocarbonetos a pigmentos carotenóides, que apresentam uma única propriedade em comum com os componentes principais, que é a solubilidade em solventes apolares e a consequente insolubilidade em água (REGITANO – D'ARCE *et al.*, 2006).

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 270, de 22 de setembro de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) os óleos vegetais estão no estado líquido à temperatura de 25°C, diferentemente das gorduras vegetais que nessa mesma temperatura se apresentam na forma sólida ou pastosa (BRASIL, 2005). A diversidade dos diferentes óleos e gorduras que estão presentes na natureza ou que são originados por processos industriais baseia-se nos ácidos graxos que fazem parte de seus triglicerídeos, sendo assim os componentes mais importantes, tanto sob o ponto de vista estrutural quanto nutricional (MORETTO; FETT, 1998).

2.2 Composição química de óleos vegetais

Os óleos vegetais são compostos majoritariamente por triacilgliceróis (96 a 99%), resultantes da esterificação completa do glicerol com três moléculas de ácidos graxos, conforme figura 1 (McMURRY, 1997).

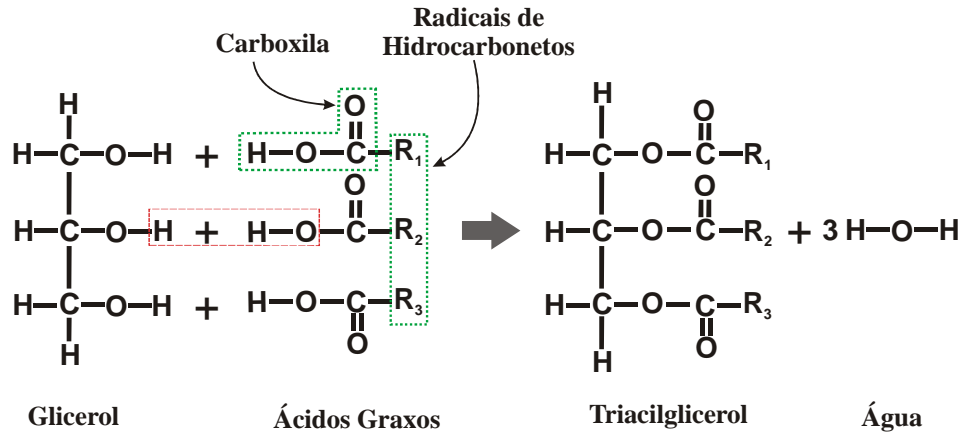


Figura 1 – Representação da reação de esterificação do glicerol

Fonte: OLIVEIRA (2009).

Na natureza os triacilgliceróis encontram-se geralmente na forma mista, com três ácidos graxos diferentes, ou somente dois iguais, se ligando ao glicerol (figura 2) (MORETTO; FETT, 1998).

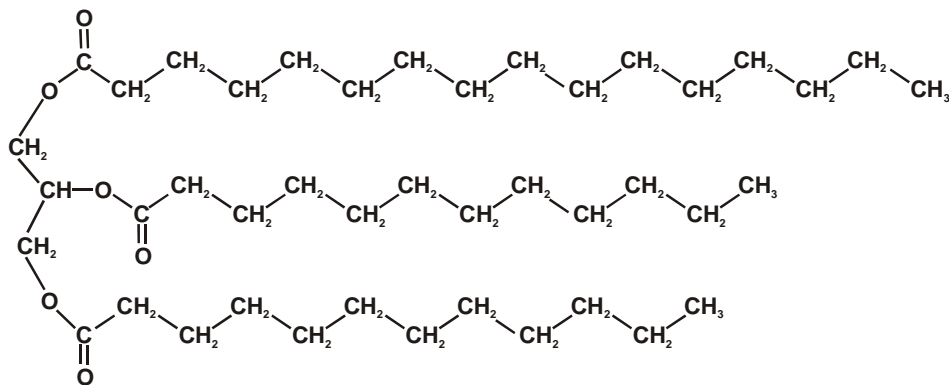


Figura 2 – Representação de um triacilglicerol

Fonte: OLIVEIRA (2009).

Os ácidos graxos são formados por cadeias hidrocarbonadas, com um grupo carboxila em um extremo e um grupo metil no outro, conforme figura 3 (OLIVEIRA, 2009).

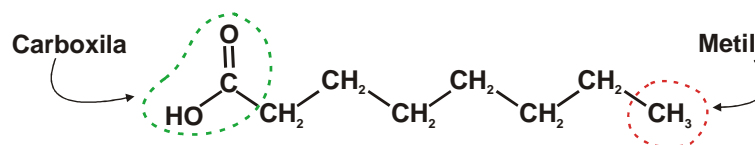


Figura 3 – Representação de um ácido graxo

Fonte: OLIVEIRA (2009).

A maioria dos ácidos graxos da natureza apresenta entre 14 e 24 carbonos. Apesar de algumas gorduras conterem ácidos graxos com menos de 14 carbonos, níveis significativos de ácidos graxos de cadeia curta são encontrados, principalmente em óleos tropicais e na gordura do leite. Os ácidos graxos costumam ser classificados como saturados e insaturados, sendo que os insaturados apresentam ligações duplas. Os ácidos graxos podem ser descritos por nomes sistemáticos, comuns e abreviados (FENNEMA *et al.*, 2010).

Os principais ácidos saturados são o láurico, o palmítico e o esteárico, e insaturados o oleico, linoleico e o linolênico.

O fato de existir muitos tipos diferentes de ácidos graxos e de poderem estar localizados em diferentes posições na molécula do glicerol, significa que os alimentos podem conter uma grande variedade de triacilgliceróis diferentes entre si sendo que o tipo e a concentração dependem de sua origem. A maioria dos óleos vegetais, em especial os de sementes oleaginosas, contém principalmente ácidos graxos insaturados conforme mostra a Tabela 1 (FENNEMA *et al.*, 2010).

Tabela 1– Distribuição de ácidos graxos de alguns óleos e gorduras.

Vegetal	Composição aproximada (%) dos principais ácidos graxos						
	Láurico C12:0	Mirístico C14:0	Palmítico C16:0	Esteárico C18:0	Oléico C18:1	Linoléico C18:2	Linolênico C18:3
Algodão	–	1	25	2	18	53	0,3
Amendoim	–	T	12	3	47	32	–
Babaçu	44	16	9	3	15	2	–
Coco	49	18	8,5	25	6,5	1,5	–
Girassol	0,5	T	7	5	19	68	0,5
Milho	–	–	12	2	28	57	1
Oliva	–	1,3	14	2,5	71	10	0,6
Soja	–	T	12	4	24	54	8
Palma	0,3	1	45	5	39	9,5	0,3

T(traços) < 0,2%

Fonte: ARAÚJO (2008).

A configuração natural das ligações duplas em ácidos graxos insaturados é a configuração *cis*. Nesta configuração, os carbonos da cadeia alifática estão do mesmo lado da ligação dupla, enquanto as ligações duplas *trans* teriam carbonos em lados opostos (figura 4) (FENNEMA *et al.*, 2010).

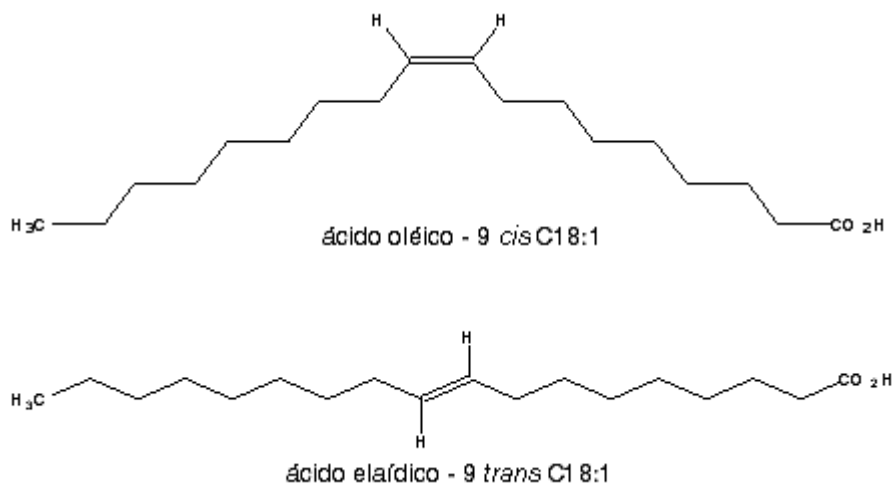


Figura 4– Estrutura dos isômeros *cis* (ácido oléico) e *trans* (ácido elaídico)

Fonte: COSTA (2006).

A presença de ligação dupla influencia no ponto de fusão dos ácidos graxos. As ligações duplas em configuração *cis* favorecem a configuração curvada não linear do ácido graxo dificultando a auto-orientação em configurações muito empacotadas, portanto, esses ácidos ocorrem mais no estado líquido, à temperatura ambiente, ou seja, seu ponto de fusão/ temperatura de solidificação é relativamente baixo. Os ácidos graxos com ligações duplas na configuração *trans* são mais lineares que os na configuração *cis*, o que resulta em um empacotamento mais forte das moléculas e em pontos de fusão mais elevados (FENNEMA *et al.*, 2010).

Gorduras animais como a banha, o sebo comestível e a manteiga, constituídas por misturas de triacilgliceróis com maior número de saturações do que insaturações apresentam maior ponto de fusão, sendo sólidas à temperatura ambiente. Analogamente, por possuírem número maior de insaturações, os óleos vegetais têm menor ponto de fusão, apresentando-se líquidos na mesma temperatura (OLIVEIRA, 2009). Na tabela 2 são apresentadas nomenclaturas e pontos de fusão de alguns ácidos graxos.

Tabela 2 – Nomenclatura e ponto de fusão de alguns ácidos graxos

Ácido graxo	Símbolo	Ponto de fusão (°C)
Butírico (butanóico)	C4:0	-4,2
Capróico (hexanóico)	C6:0	-3,4
Caprílico (octanóico)	C8:0	16,7
Cáprico (decanóico)	C10:0	31,6
Láurico (dodecanóico)	C12:0	44,2
Mirístico (tetradecanóico)	C14:0	54,4
Palmítico (hexadecanóico)	C16:0	62,9

“continua”

Ácido graxo	Símbolo	Ponto de fusão (°C)
Esteárico (octadecanóico)	C18:0	69,6
Araquídico (eicosanóico)	C20:0	75,4
Behênico (docosanóico)	C22:0	80,0
Lignocérico (tetracosanóico)	C24:0	84,2
Oléico (9-octadecenoico), (ω -9)	C18:1 ⁹	13,0
Linoléico (9,12-octadecadienoico), (ω -6)	C18:2 ⁶	-5,0
Linolênico (9,12,15-octadecatrienoico), (ω -3)	C18:3 ³	-11,0

Fonte: OLIVEIRA (2009).

O consumo de ácidos graxos *trans* em quantidades consideráveis na dieta humana teve início com o processo de hidrogenação dos óleos vegetais. Os alimentos que mais contribuem para ingestão elevada de ácidos graxos *trans* são os óleos vegetais, parcialmente hidrogenados e, produtos manufaturados que apresentem estas gorduras em sua composição ou elaboração, como margarinas, cremes vegetais, biscoitos, pães, massas, batatas fritas, entre outros alimentos (MARTIN *et al.*, 2004).

2.3 Importância das gorduras e óleos na alimentação humana

A composição lipídica da dieta é fundamental para o tratamento e prevenção de diversas patologias, além de manter as características de manutenção dos estádios bioquímicos e fisiológicos do organismo (BARCELOS *et al.*, 2006).

Moretto (1998) cita que a quantidade e a qualidade do tipo de gorduras consumidas, têm importância real, e que o consumo de gorduras saturadas existentes na natureza como a de coco, da manteiga ou dos óleos industrialmente endurecidos, através do processo de hidrogenação, podem aumentar o nível de colesterol do sangue e promover a arteriosclerose dos vasos sanguíneos. Ao contrário os óleos contendo alta porcentagem de ácidos graxos poliinsaturados, como óleo de soja, de arroz, de girassol de milho e outros e de algumas margarinas especialmente preparadas com alto teor de ácidos graxos poliinsaturados, reduzem o nível de colesterol do sangue exercendo uma influência benéfica nas alterações vasculares. Os estudos realizados por Moretto (1998) sugerem que as gorduras possuem duas tarefas importantes na alimentação humana:

- a) Como fornecedora de energia à “biossíntese”;
- b) Como transportadora de agentes químicos orgânicos solúveis em óleo: os ácidos graxos essenciais, as vitaminas e os hormônios óleos-solúveis.

2.4 Azeite de Oliva

Azeite de oliva é o óleo comestível obtido diretamente do fruto da *Olea europaea* L. (oliveira) através de processos tecnológicos adequados (BRASIL, 1999). A denominação azeite refere-se à extração do fruto, sendo que o óleo é proveniente da extração das sementes com auxílio de solventes (BOSKOU, 1996). Devido ao processo de extração, geralmente por prensagem mecânica, o azeite de oliva é considerado um produto natural de alta qualidade (MELLO *et al.* 2012).

Recentemente foi elaborada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) uma instrução normativa (Portaria nº 419), visando estabelecer o regulamento técnico dos azeites de oliva, que define o padrão oficial de classificação brasileira, com os requisitos de identidade e qualidade, os quais estão baseados nos critérios internacionais de comercialização do produto.

Segundo esta instrução normativa do MAPA (BRASIL, 2010), os azeites são classificados nas categorias:

- a) **Azeite de oliva virgem extra:** produto obtido do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos, sob controle da temperatura, mantendo-se a natureza original do produto; os azeites assim obtidos podem, ainda, ser submetidos aos tratamentos de lavagem, decantação, centrifugação e filtração, possuindo acidez livre de no máximo 0,8%, expressa em ácido oleico;
- b) **Azeite de Oliva Virgem Comum:** azeite de oliva virgem com acidez livre de no máximo 3,3%, expressa em ácido oléico, cujas demais características correspondam às estipuladas para esta categoria;
- c) **Azeite de oliva refinado:** azeite de oliva obtido de azeites de oliva virgens mediante técnicas de refino que não provoquem alterações na estrutura glicérica inicial, com acidez livre de no máximo 0,3%, expressa em ácido oléico, cujas demais características correspondam às estipuladas para esta categoria;
- d) **Azeite de Oliva:** azeite constituído pela mistura de azeite de oliva refinado e azeites de oliva virgens aptos para o consumo humano, com acidez livre de no máximo 1,0%, expressa em ácido oléico, cujas demais características correspondam às estipuladas para esta categoria.

O azeite de oliva apesar de representar pequeno volume em termos de produção mundial (aproximadamente 2% do total de óleos produzidos), contribui com cerca de 15% do

valor monetário da produção dos óleos (AUED-PIMENTEL *et al.*, 2008). Dentre os diferentes tipos de alimentos o azeite de oliva é considerado como a opção mais saudável entre os azeites comestíveis, razão pela qual a produção e consumo têm crescido, nos últimos anos, em todo o mundo (EMBRAPA, 2011).

2.4.1 Aspectos nutricionais do azeite de oliva e sua influência na dieta humana

A divulgação das qualidades nutricionais, dietéticas e organolépticas do azeite extra virgem, principalmente dos monovarietais, com sabores e aromas incomparáveis, com baixa acidez, estimulam seu consumo cru e como incremento em saladas (SANTOS, 2002).

O azeite de oliva contribui expressivamente para esses fatores, além de ser tradicionalmente consumido em grande escala, em diferentes regiões do mundo, devido sua excelente característica sensorial. Populações como as do mediterrâneo apresentam significativamente menor incidência de algumas doenças crônicas não transmissíveis que podem ser prevenidas com o consumo do azeite de oliva, concomitantemente com outros fatores. Trabalhos *in vivo* e *in vitro* apresentam os prováveis mecanismos de ação dos componentes do azeite como os ácidos fenólicos, devido a suas ações antioxidantes, além das ações do ácido oléico que é um ácido graxo monoinsaturado que traz benefícios para várias patologias como diabetes, doenças cardíaco-coronarianas, câncer, entre outras. Entretanto, o conteúdo de ácidos fenólicos é dependente da variedade, do método de extração, entre outros fatores. O consumo de azeite de oliva pela população brasileira é pequeno, quando comparado aos países do mediterrâneo, sendo necessário estimular o consumo cada vez mais e apresentar os benefícios esperados (BARCELOS *et al.*, 2006).

2.5 Óleo de Soja

Óleo de soja é o produto obtido por prensagem mecânica e/ou extração por solvente, dos grãos de soja (*Glucine max. L Merril*), isento de misturas de outros óleos, gorduras ou outras matérias estranhas ao produto (BRASIL, 1993).

A soja é um dos principais produtos de exportação da agricultura brasileira, importante no mercado internacional, independente das cotações. É uma planta originária da China e foi introduzida no Brasil no século XIX. O maior produtor mundial de soja são os Estados Unidos, ficando o Brasil em segundo lugar (SOUZA, 2002).

O óleo de soja surgiu como um subproduto do processamento do farelo de soja, e tornou-se um dos líderes mundiais no mercado de óleos devido às suas qualidades nutricionais, abundância, valor econômico e larga aplicabilidade na formulação de outros produtos (SOUZA, 2002).

2.6 Clorofila

As clorofilas são moléculas formadas por complexos derivados da porfirina tendo como átomo central o Mg (magnésio) (figura 5). Possuem uma estrutura macrocíclica assimétrica insaturada constituída por quatro anéis de pirrol. (STREIT *et al.*, 2005).

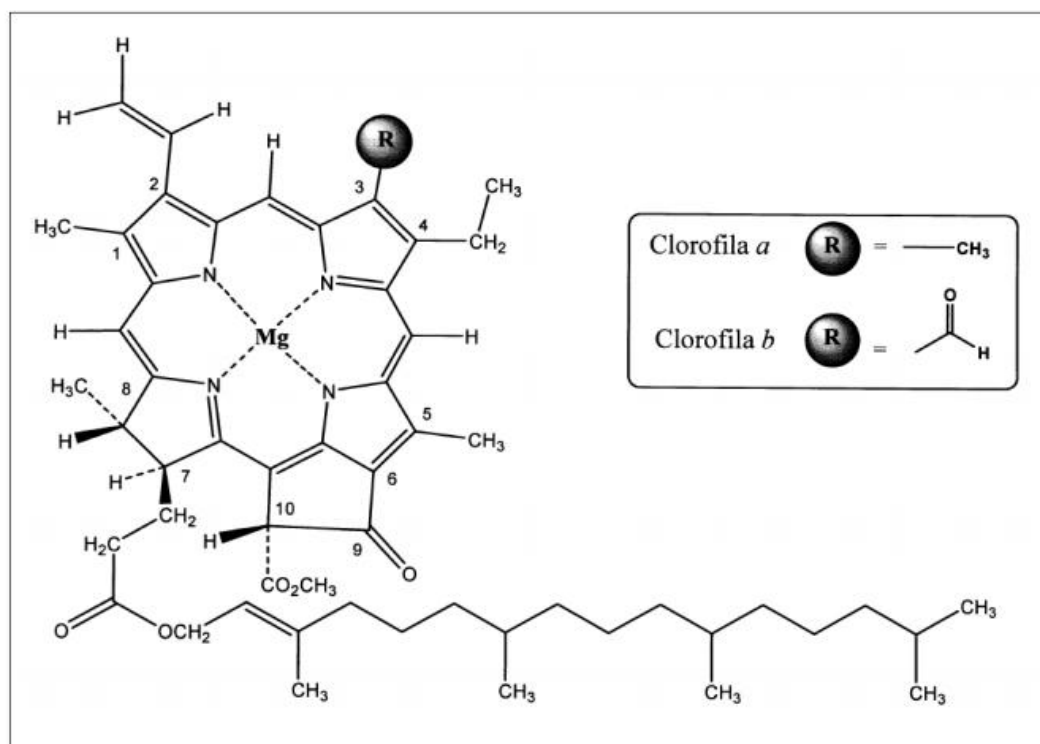


Figura 5– Estrutura química da clorofila *a* e clorofila *b*

Fonte: STREIT *et al.*, (2005).

As clorofilas são os pigmentos verdes das folhas vegetais. É o pigmento funcional da fotossíntese em todas as plantas verdes. Elas ocorrem, ao lado de uma variedade de pigmentos carotenoides, na membrana dos cloroplastos, a organela responsável pela fotossíntese nas plantas. Os pigmentos dos cloroplastos estão intimamente associados com outros componentes lipofílicos da membrana, como fosfolípidos, além das proteínas da membrana. Algas e bactérias fotossintéticas contêm um número diferente de tipos de clorofilas, mas a maioria das plantas superiores que nos interessam contêm apenas as

clorofilas *a* e *b* na razão de 3 para 1 aproximadamente (COULTATE, 2004). A proporção varia com as condições de crescimento e fatores ambientais, etapa no ciclo de vida da planta e espécie vegetal. Por exemplo, as plantas que crescem na sombra apresentam uma quantidade elevada de clorofila *b*, o que pode ser explicado com base nas suas propriedades de absorção da luz. A clorofila *b* é capaz de absorver fortemente entre 450 e 480nm, enquanto a clorofila *a* absorve fortemente entre 400 e 450nm (GROSS, 1991 *apud* BORRMANN, 2009). Na figura 6 é apresentado o espectro de absorção das clorofilas *a* e *b*.

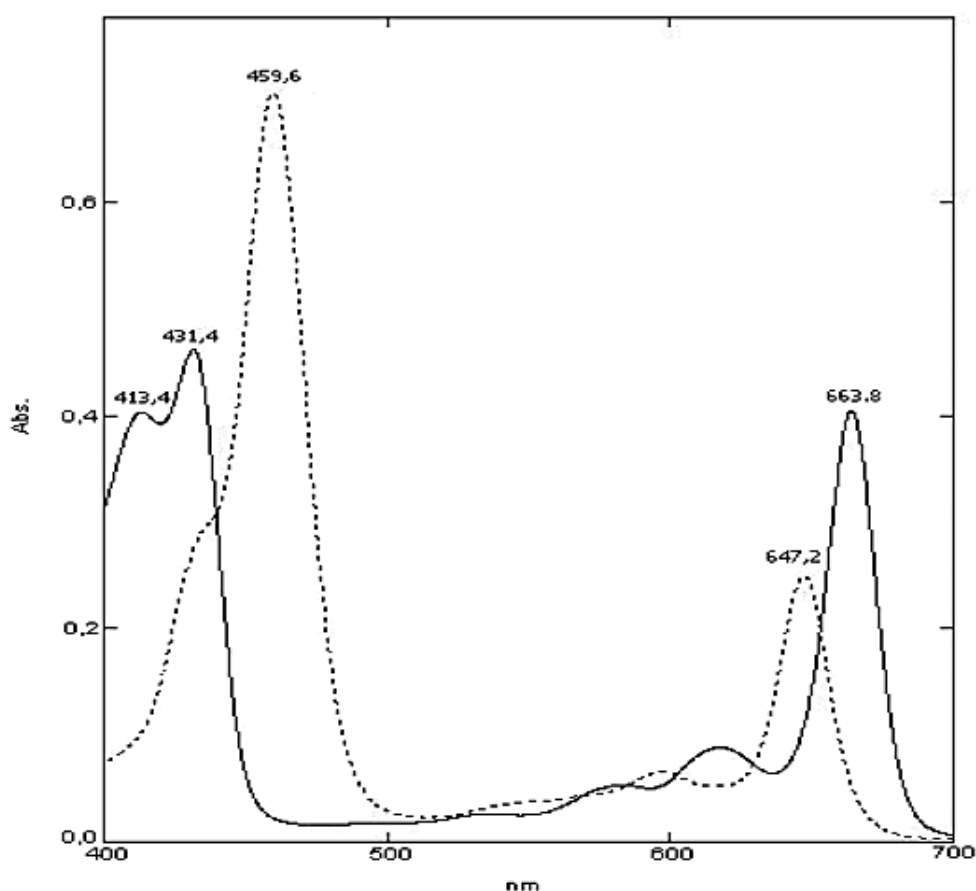


Figura 6 – Espectro de absorção da clorofila *a* (linha contínua) e clorofila *b* (linha pontuada)

Fonte: BORRMANN (2009).

Quando os vegetais verdes são aquecidos, no cozimento comum, quando eles são escaldados para o congelamento ou durante o enlatamento, existem evidências da perda da cadeia lateral de fitol para dar o correspondente clorofilídio *a* ou *b*, mas o evento mais importante é a perda de magnésio. Isso ocorre mais prontamente em condições ácidas, com o íon Mg^{2+} sendo substituído por prótons, resultando nas feofitinas *a* e *b* (ver espectro de absorção na figura 7). Estas apresentam coloração marron-escuro e são a família de pigmentos dominantes em vegetais verdes, quando cozidos em excesso (COULTATE, 2004). Segundo

Johnson-Flanagan *et al.* (1990 *apud* BORRMANN, 2009), a clorofila *a* é mais sensível à feofitinação do que a clorofila *b*.

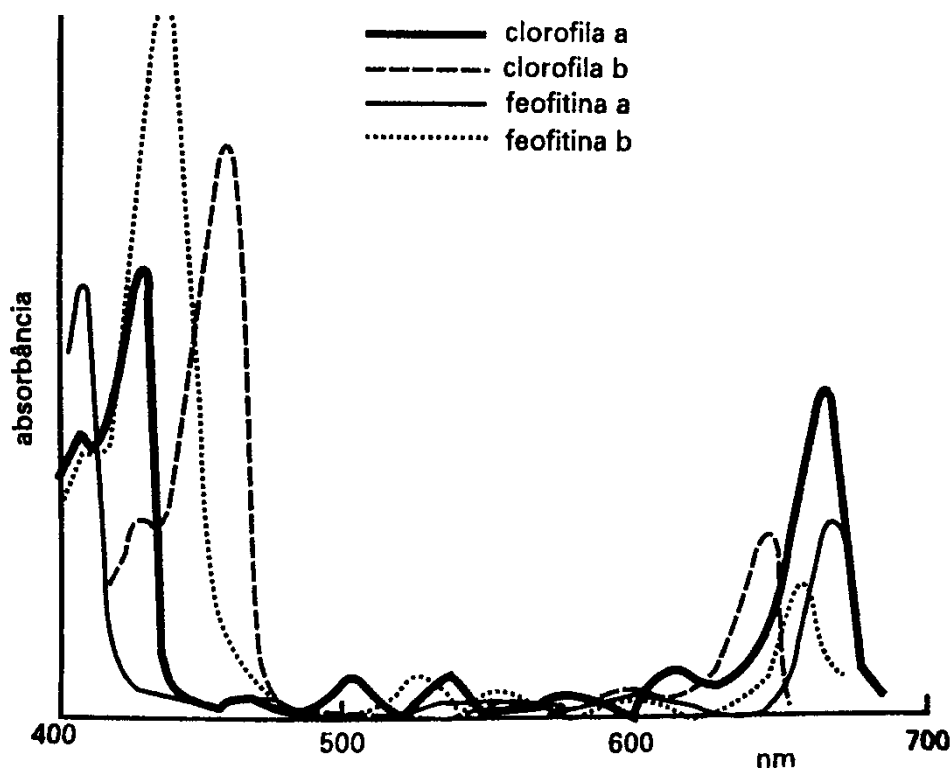


Figura 7 – Espectro de absorção das clorofilas e feofitinas

Fonte: COULTATE (2004).

A degradação do pigmento clorofila em vegetais e sementes pode ser desejável ou não, conforme o destino comercial do produto. Em vegetais frescos ou enlatados, como, por exemplo, a ervilha, em azeitonas e azeites de oliva, é interessante manter a cor verde. Em sementes como soja, canola e seus óleos derivados, a presença do pigmento verde é indesejável (BORRMANN, 2009).

2.6.1 Óleos de soja com elevado teores de clorofila

Óleos com elevado teores de clorofila, provenientes da extração de grãos verdes, são um problema nas indústrias esmagadoras de sementes oleaginosas. O conteúdo de clorofila é um parâmetro na avaliação da qualidade do óleo e sua presença confere uma coloração escura indesejável ao óleo. Por ser uma molécula pró-oxidante, a clorofila reduz a estabilidade oxidativa do óleo (TAUTORUS & LOW, 1993; LEVADOUX *et al.*, 1987).

A presença de clorofila também é relacionada com a diminuição da velocidade do

processo de hidrogenação (BORRMANN, 2009). Antes da hidrogenação, todos os óleos vegetais devem ser submetidos ao processo de refinação embora existam casos de consumo de óleos brutos, como azeite de oliva e azeite de dendê. O hidrogênio usado no processo deve ser de alta pureza (99,5% ou mais). O monóxido de carbono, sulfeto de hidrogênio e, em menor grau, o vapor d'água, agem como “venenos”, diminuindo gradativamente a atividade do catalizador, por meio do “envenenamento” de seus centros ativos e, portanto, essas substâncias não devem estar presentes durante o processo de hidrogenação. A hidrogenação visa conservar o óleo de soja, por meio da eliminação das duplas ligações entre os átomos de carbono dos ácidos graxos insaturados, que formam os triglicerídeos que compõem o óleo, bem como dos ácidos graxos livres. Essas duplas ligações constituem-se em pontos de oxidação dos óleos e sua conseqüente rancificação (EMBRAPA, 2001).

Alguns autores, que estudaram a estabilidade oxidativa de óleos de soja e de canola, relataram que a atividade pró-oxidante da feofitina é até três vezes maior do que a da clorofila. Tanto a clorofila quanto a feofitina promovem, de forma similar, a foto oxidação do óleo em uma ampla faixa de comprimento de onda, provavelmente porque elas possuem espectros de absorção semelhantes. Porém, a maior atividade pró-oxidante da feofitina foi relacionada com sua maior estabilidade química. Durante a foto oxidação ou auto oxidação do óleo vegetal, a clorofila é degradada mais rapidamente do que a feofitina (BORRMANN, 2009).

Desta forma, é fundamental que a clorofila e seus derivados sejam removidos. A presença dos pigmentos, mesmo em pequenas quantidades, aumenta o custo de refinação (BORRMANN, 2009) uma vez que a finalidade da refinação é uma melhora de aparência, odor e sabor do óleo bruto, por meio da remoção de vários componentes, dentre eles as substâncias coloridas como clorofila, xantofila, carotenoides, incluindo-se neste caso o caroteno ou pró-vitamina A (EMBRAPA, 2001).

2.6.2 Análise de clorofila e seus derivados

A espectroscopia óptica na caracterização de corantes vem sendo estudada há anos. Muitos autores tem usado essa metodologia, porém antes da medida propriamente dita, fazem uso de solventes orgânicos como diluente na amostra em que se deseja analisar. Segundo Coultate (2004) o comprimento de onda exato da absorção máxima das clorofilas *a* e *b* e o coeficiente de extinção não são definidos facilmente, eles variam dependendo da identidade do solvente orgânico usado e da presença de traços de umidade. Essas variações

são suficientes para tornar mais difícil a exata determinação dos níveis de clorofila em tecidos vegetais por espectrofotometria. Outra dificuldade é que, em solução, sobretudo em solventes que incluem metanol, existe uma tendência para ocorrer a oxidação.

Estudando a clorofila, extraída da couve, testando-se diferentes solventes e proporções, Azevedo *et al.* (2011) percebeu que a posição exata e o aparecimento ou não de um determinado pico depende muito do solvente usado durante a preparação da solução. A figura 8 mostra o espectro de absorção obtido.

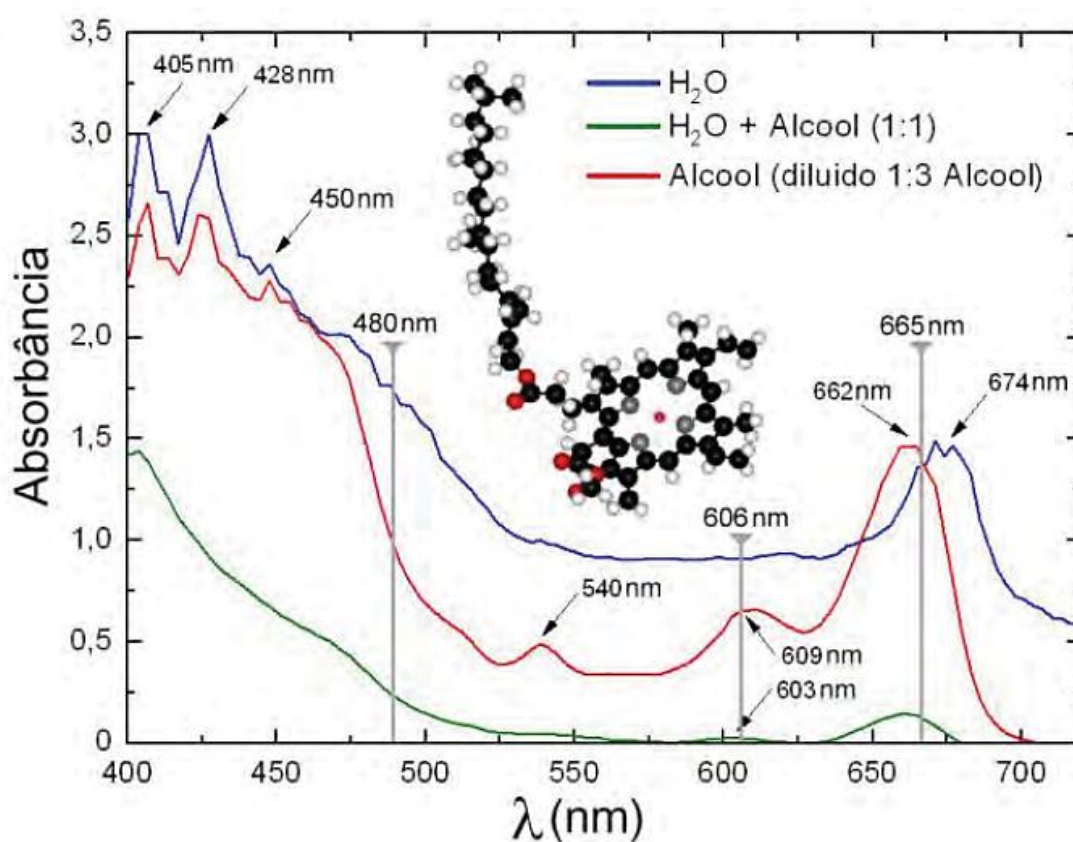


Figura 8 – Espectro de absorção característico da clorofila retirada da couve

Fonte: AZEVEDO *et al.* (2011).

A análise desses espectros mostra o surgimento de picos bem pronunciados na região do vermelho ao redor de 606 e 665nm, picos menos notáveis na região do azul em 405, 428 e 450nm e provavelmente mais um em torno de 480nm. Curiosamente, na amostra na qual se usou álcool como solvente surge claramente um pico na região do verde em 540nm, cuja presença não é clara nos dois outros casos (AZEVEDO *et al.*, 2011). Os espectros da clorofila mostrados na figura 8 concordam razoavelmente com o estudo que Mackinney (1941) fez sobre a mesma.

Tendo em vista as variações do comprimento de onda exato da absorção máxima das clorofilas *a* e *b*, em virtude do solvente utilizado Azevedo *et al.* (2011) aplicou de forma direta (ou seja, sem uso de solventes) a análise de absorbância óptica envolvendo corantes na avaliação da pureza de óleos comestíveis. Na figura abaixo é mostrado o espectro de absorbância obtido.

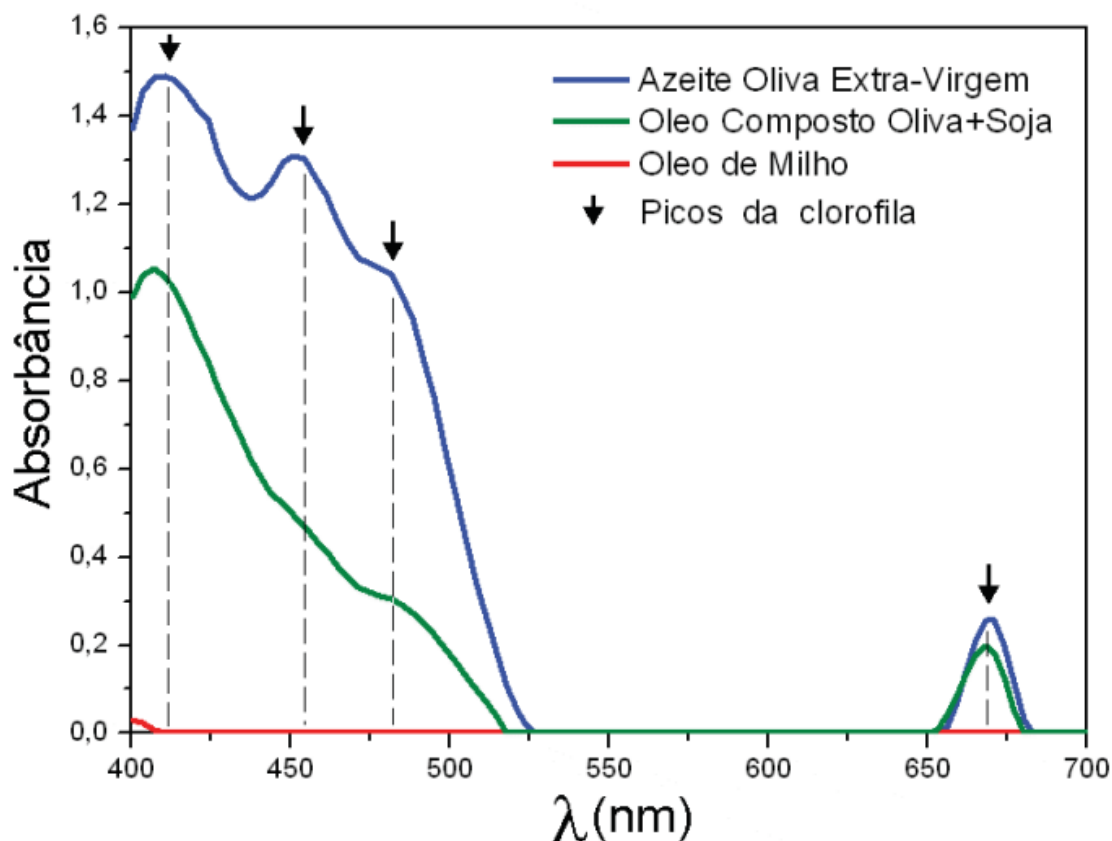


Figura 9 – Espectro de absorção obtido a partir de óleos comestíveis

Fonte: AZEVEDO *et al.* (2011).

Como se observa os três tipos de óleos são claramente distinguíveis graças a correspondente concentração de clorofila que cada um contém.

2.7 Espectroscopia de Absorção Óptica

Devido à estrutura interna da matéria, um dos processos de interação desta com a radiação eletromagnética é a absorção, onde parte da energia radiante incidindo em um material é transferida para excitar moléculas de estados de menor energia para estados de energia mais alta (NUNES, 2008).

Quando um fóton encontra uma molécula ele pode ser espalhado (sua direção de propagação muda) ou pode ser absorvido (sua energia é transferida para a molécula). A probabilidade relativa da ocorrência de cada processo é uma propriedade particular a molécula encontrada. Se a energia eletromagnética é absorvida, a molécula é dita estar excitada ou em um estado excitado. Uma molécula ou parte de uma molécula que pode ser excitada pela absorção de luz é chamada de cromóforo (NUNES, 2008, *apud* CAMPOS, 1976).

A absorção da radiação luminosa acontece nos comprimentos de onda entre o ultravioleta e o infravermelho no espectro da radiação eletromagnética (JUNIOR, 2012 *apud* WILLARD, 1979).

Um espectrofotômetro é um aparelho que faz passar um feixe de luz monocromática através de uma solução, e mede a quantidade de luz que foi absorvida e a luz transmitida por essa solução. Usando um prisma, o aparelho separa a luz em feixes com diferentes comprimentos de onda (figura 10). O espectrofotômetro permite saber que quantidade de luz é absorvida a cada comprimento de onda (JUNIOR, 2012 *apud* WILLARD, 1979).

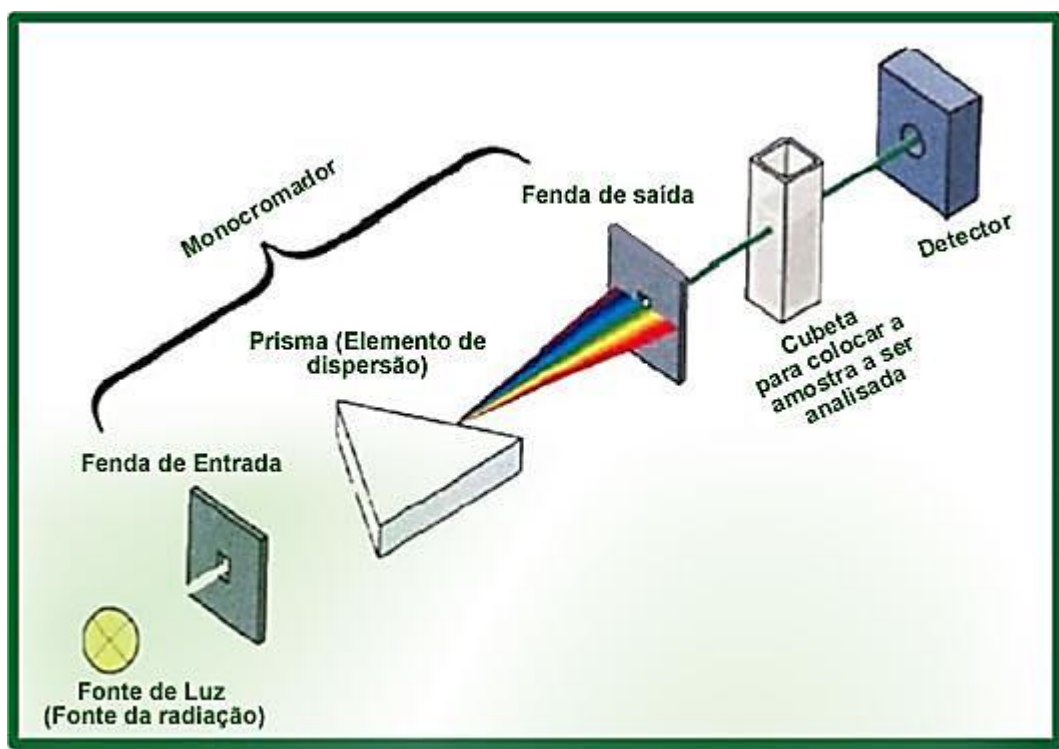


Figura 10– Esquema do funcionamento interno de um espectrofotômetro

Fonte: INFOESCOLA (2013).

As substâncias têm diferentes padrões de absorção, a espectrofotometria permite identificar substâncias com base no espectro da substância. Permite também quantificá-las, uma vez que a quantidade de luz absorvida está relacionada com a concentração da substância (VOGUEL, 1981).

De um ponto de vista prático, o aspecto mais importante do cálculo quântico é a determinação de quanta luz é absorvida pela amostra. Isto é descrito pela *lei de Beer-Lambert*, que dá a relação entre a intensidade da luz incidindo na solução (I_0), e a intensidade da luz saindo da solução (I) (LEMOS *et al.*, 2009).

$$\text{Log } (I_0/I) = A = \epsilon cl$$

A = absorbância

ϵ = absorvidade molecular ou coeficiente de extinção

c = concentração do material absorvedor

l = espessura da amostra através da qual a luz passa.

Nos compostos orgânicos, os que possuem dupla ligação absorvem fortemente no ultravioleta remoto. Os compostos que possuem ligações simples e duplas alternadamente, chamadas de ligações conjugadas, produzem absorção em comprimentos de ondas maiores. Quanto mais extenso for o sistema conjugado, mais longos serão os comprimentos de onda absorvidos, podendo chegar à região do visível (LEMOS *et al.*, 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

As análises de absorvância foram conduzidas nas dependências do GPCMB (Grupo de Preparação e Caracterização de Materiais e Biocombustíveis) da Universidade Federal do Maranhão (CCSST \UFMA), Unidade Avançada de Imperatriz-MA.

3.1 Material

Foram analisadas algumas amostras comerciais de azeite de oliva e óleo de soja separadamente e amostras compostas (óleo de soja e azeite de oliva 10 e 15%) de três marcas diferentes.

Todas essas amostras foram adquiridas no comércio varejista da cidade de Imperatriz – MA.

3.2 Preparo das misturas

Foram preparadas 12 misturas de óleo de soja e azeite de oliva comercial em diferentes concentrações a fim de comparar com a amostra composta (óleo de soja e azeite de oliva 10 e 15%) já comercializada.

Essas misturas foram feitas utilizando pipetas graduadas. Mediu-se os volumes mostrados na Tabela 3, e após adicionados ao vidro âmbar de 30 ml, fechou-se e agitou-se manualmente os vidros afim de se obter uma maior homogeneização.

Tabela 3 – Percentual de misturas e suas quantidades de azeite de oliva e óleo de soja.

Mistura (%)	Quantidade Azeite de Oliva (ml)	Quantidade de Óleo de Soja (ml)
5	1	19
10	2	18
15	3	17
20	4	16
25	5	15
30	6	14
40	8	12
50	10	10

"Continua"

Mistura (%)	Quantidade Azeite de Oliva (ml)	Quantidade de Óleo de Soja (ml)
60	12	8
70	14	6
80	16	4
90	18	2

3.3 Medidas de absorvância

As medidas de absorção óptica foram realizadas em triplicata utilizando espectrofotômetro UV-VIS-NIR marca Shimadzu, modelo UV-3600. O intervalo de comprimento de onda selecionado foi de 180 a 3300nm (desde o ultravioleta próximo passando por toda a região do espectro do visível até o infravermelho).

O primeiro passo no processo utilizado na operação do espectrofotômetro foi selecionar a grade de difração a ser usada, onde se ajustou a varredura espectral na faixa de 180 a 3300nm e depois colocou-se a cubeta de quartzo vazia no porta amostra e foi processado a varredura para se obter o espectro da lâmpada a ser usado como referência nas medidas de absorvância.

Após este passo a cubeta foi devidamente preenchida com as amostras (tanto as comerciais como com as misturas preparadas no laboratório) que posteriormente foram colocadas no porta amostra e novamente realizada varreduras. Os dados do espectro de absorção foram adquiridos e processados com o auxílio do software UVProbe 2.42 e, posteriormente, foram transferidos para o programa gráfico (Origin 6.0) para fins de tratamento e análise.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Espectros de absorção

As medidas de absorção como já mencionadas anteriormente foram realizadas fazendo-se a varredura desde o ultravioleta até a região do infravermelho. Os espectros obtidos, por sua vez, apresentaram boa definição de bandas e informações relevantes na região analisada, como pode-se visualizar na figura 11.

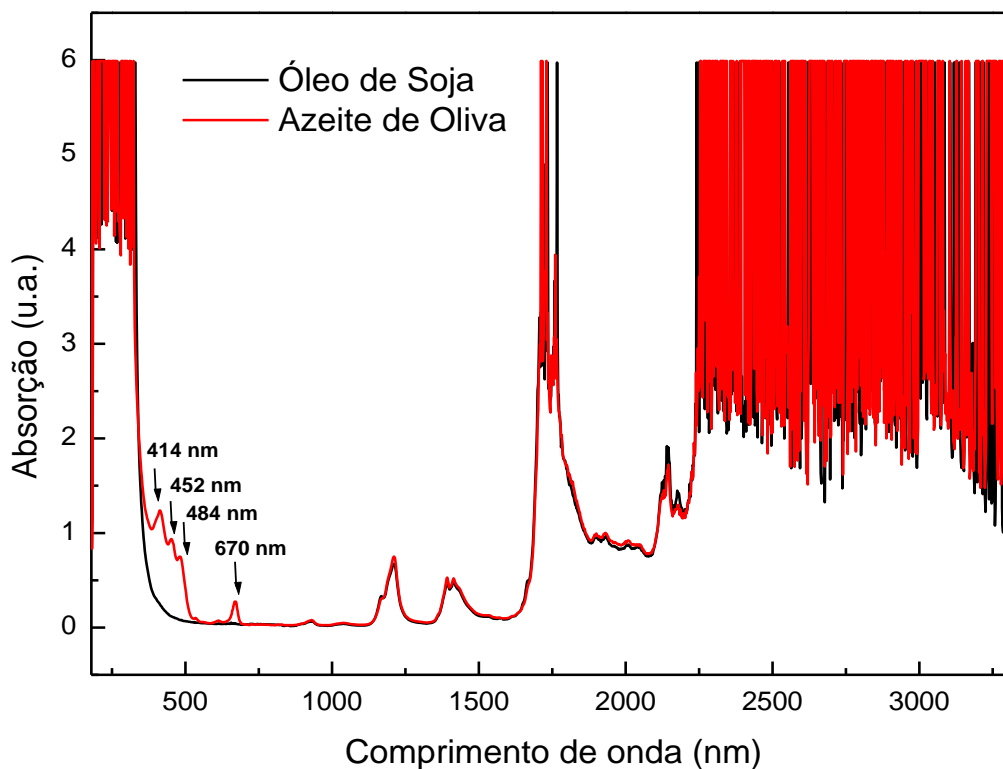


Figura 11 – Espectros de absorção para as amostras de azeite de oliva e óleo de soja

Observa-se a presença de picos bem definidos na amostra de azeite de oliva (414, 452, 484 e 670nm) e sua ausência na amostra de óleo de soja. Estes picos são característicos do azeite de oliva em virtude da quantidade significativa de clorofila e/ou seus derivados (feofitinas) presente no mesmo. A ausência destes picos no óleo de soja deve-se ao fato de que durante o seu processamento (refino) este pigmento é removido, uma vez, que sua presença diminui a velocidade do processo de hidrogenação, confere uma coloração escura indesejável ao óleo e trata-se de uma molécula pró-oxidante, reduzindo, portanto a estabilidade oxidativa

do óleo.

Podemos identificar quatro picos de absorção em nossos espectros, que se encontram na Tabela 4, sendo todos previamente conhecidos na literatura.

Tabela 4 – Bandas de absorção do espectro na região do visível.

Comprimento de onda		Picos	Componente	Picos encontrados na literatura
Unidade em nm	Unidade em cm^{-1}			
414	24154	1	Feofitina <i>a</i>	409nm (BORRMANN, 2009); 409nm (DÍAZ <i>et al.</i> , 2003); 411nm (MAIA, 2006).
452	22123	2	Clorofila <i>b</i>	453nm (BORRMANN, 2009); 455nm (DÍAZ <i>et al.</i> , 2003); 459nm (MAIA, 2006).
484	20661	3	Clorofila	480 nm (AZEVEDO, 2011).
670	14925	4	Feofitina <i>a</i>	667nm (BORRMANN, 2009); 666nm (DÍAZ <i>et al.</i> , 2003).

Todavia, cumpre observar que a análise de pigmentos por espectroscopia fornece dados relativos ao conteúdo total de pigmentos esverdeados, incluindo clorofila *a*, clorofila *b* e seus derivados, como feofitinas e feoforbídeos, e não diferencia individualmente entre seus componentes, uma vez que seus espectros e máximos de absorbância são muito parecidos (BORRMANN, 2009). Por essa razão no estudo feito por Azevedo (2011) o pico encontrado por volta de 480nm como mostrado na tabela 3 é característico de um pico da clorofila, não identificando qual a sua forma.

O processo de extração do azeite virgem permite que as clorofilas presentes nas azeitonas sejam transferidas para o azeite devido ao seu carácter lipofílico, sofrendo simultaneamente alguma degradação, caso da feofitinação (remoção do magnésio). Assim, a fração de clorofilas presentes no azeite virgem é formada pelas clorofilas *a* e *b* e ainda pelas feofitinas *a* e *b*. A feofitina *a* é o composto predominante. Nos azeites submetidos à refinação verifica-se uma redução no teor destes pigmentos (MINGUEZ-MOSQUERA *et al.*, 2002, *apud* MAIA, 2006). É válido ressaltar que o azeite de oliva propriamente dito, é aquele, segundo a legislação, constituído pela mistura de azeite de oliva refinado e azeites de oliva virgens aptos para o consumo humano (BRASIL, 2010). Isso implica dizer que embora nos

azeites submetidos à refinação verifica-se uma redução do teor destes pigmentos, no azeite de oliva virgem a presença destes pigmentos é significativa, o que faz com que o azeite de oliva propriamente dito tenha também quantidades significantes destes pigmentos resultando em espectros de absorção com picos bem definidos.

Uma maneira de se observar a redução no teor destes pigmentos em azeites submetidos à refinação é analisando o espectro de absorção de um azeite de oliva extra virgem e do azeite de oliva (figura 12).

Sendo o azeite de oliva a mistura de azeite de oliva refinado e azeite de oliva virgem, fazendo-se um comparativo entre o azeite extra virgem e azeite virgem, Ramalho *et al* (2013) diz que estes óleos podem ser consumidos diretamente após a prensagem, sem a necessidade de etapas posteriores de purificação. A diferença entre os dois se refere à temperatura na qual a prensagem é realizada. Um óleo é classificado como extra virgem quando resultante de uma primeira prensagem a frio (temperatura ambiente), e o óleo virgem é o resultante da mesma torta, mas de prensagem posterior realizada a quente (aproximadamente 70 °C). Quando o óleo é submetido a uma temperatura mais alta ocorrem reações de hidrólise e degradação térmica dos triacilglicerídeos, aumentando a acidez do produto (maior teor de ácidos graxos livres). Porém essa temperatura não é o suficiente para degradar toda a clorofila, podendo ocorrer a feofitinação.

O espectro a seguir mostra que embora o azeite de oliva extra virgem apresente picos com uma intensidade de absorção mais elevada em virtude da maior quantidade de clorofila presente, por ser extraído a frio, o azeite de oliva também apresenta picos bem definidos, porém de intensidade menor em virtude da menor quantidade de clorofila. Isso devido à mistura do azeite refinado e do azeite de oliva virgem que o compõe. Observa-se que não há deslocamento do centro dos picos, apenas diferenças nas intensidades dos picos de absorção.

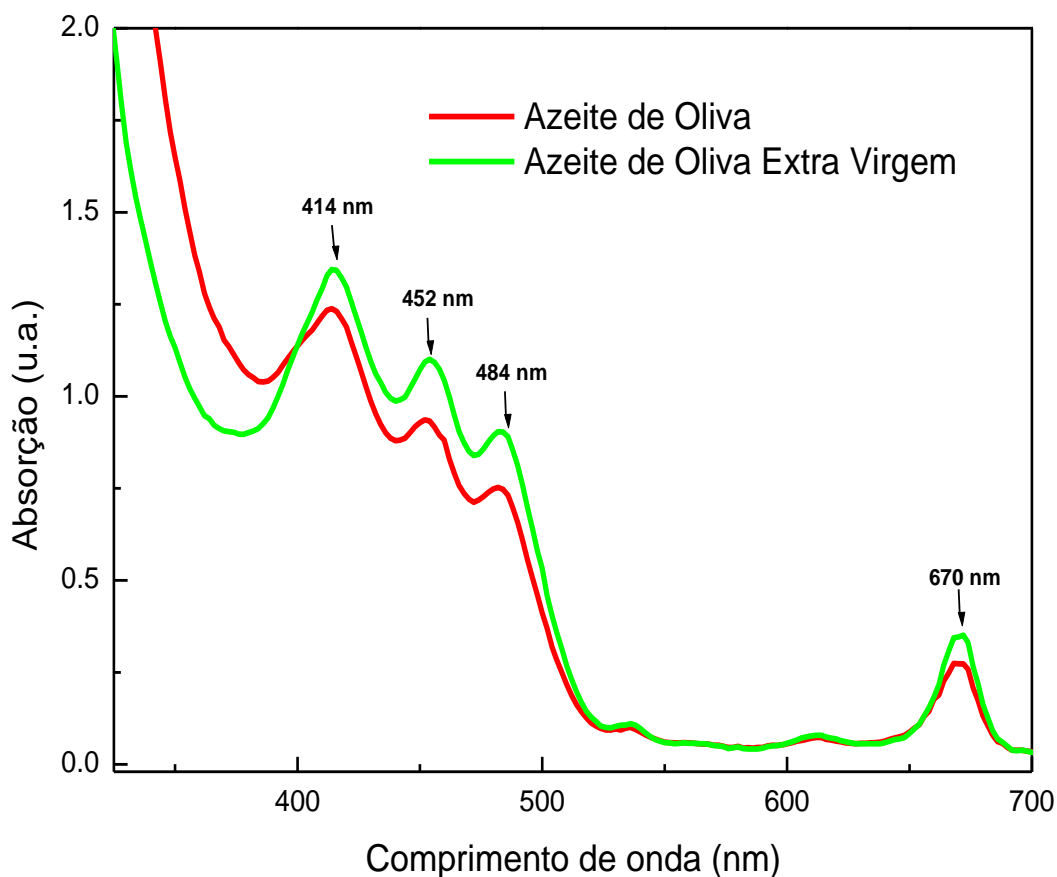


Figura 12 - Espectros de absorção para as amostras de azeite de oliva e azeite de oliva extra virgem.

Na figura 13 observa-se os espectros de absorção para as amostras de óleo de soja e azeite de oliva e suas respectivas misturas e concentrações. Observa-se um aumento na intensidade dos picos conforme aumenta-se a concentração de azeite de oliva nas misturas. Para a amostra com 0% de azeite, ou seja, a amostra de óleo de soja puro como visto no espectro anterior (figura 11) não existe a presença de picos. Estes picos começam a se definir mediante o aumento da concentração de azeite de oliva nas misturas até chegar a concentração máxima de azeite que é a amostra de azeite de oliva puro (100%). Pode-se observar que não há a presença de anomalias, como saturação, ou mudança no comportamento da curva devido a qualquer reação entre os óleos da mistura.

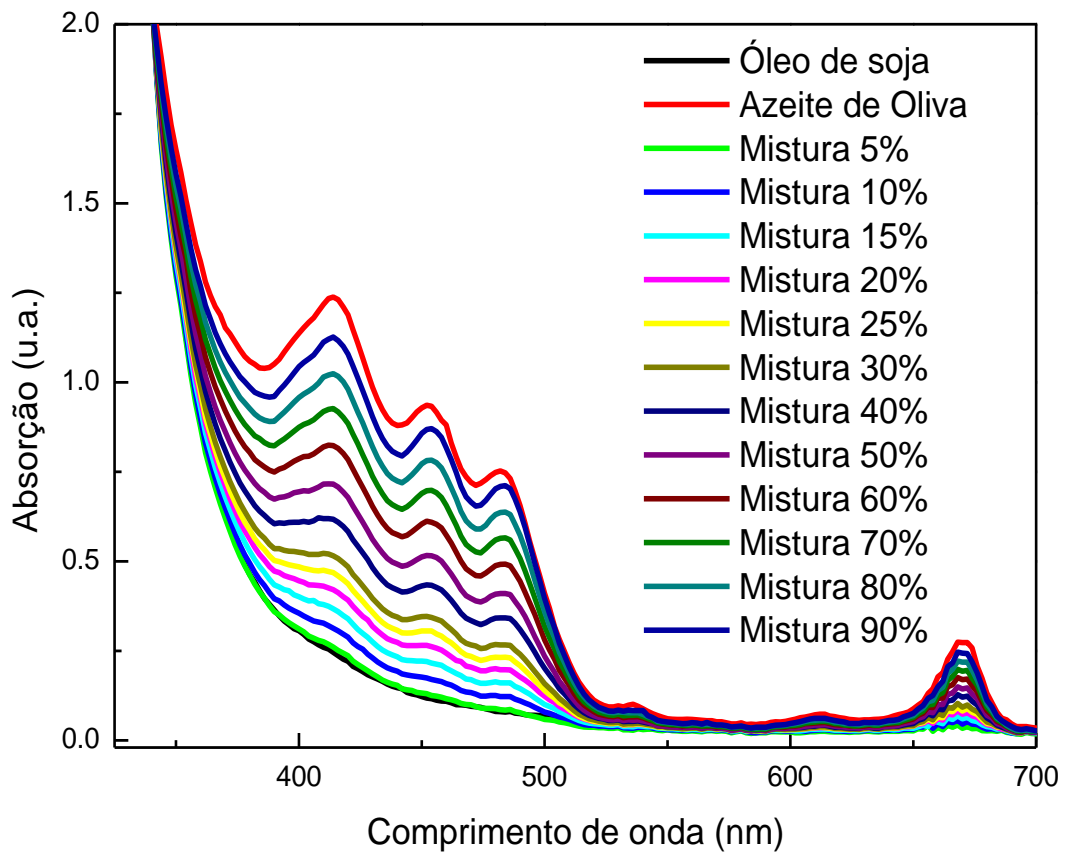


Figura 13 – Espectros de absorção para as amostras de óleo de soja e azeite de oliva e suas respectivas misturas e concentrações

Na figura 14 é apresentado o espectro de absorção para as amostras de óleo de soja e azeite de oliva e amostras de óleo comercial composto de soja com azeite de oliva (10 e 15%).

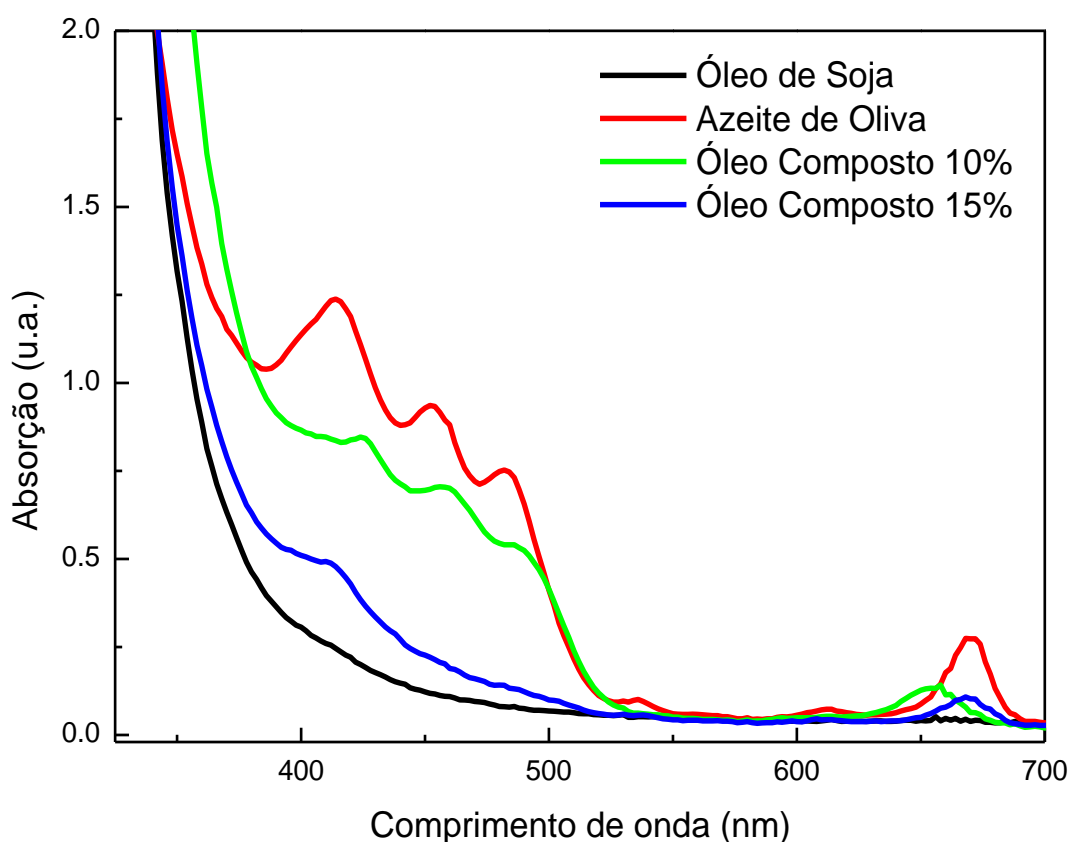


Figura 14 – Espectros de absorção para as amostras de óleo de soja e azeite de oliva e óleo comercial composto de soja com 10 e 15% de azeite.

Nessa figura observou-se um comportamento diferenciado do óleo composto de soja com 10% de azeite de oliva. Nota-se uma intensidade de absorção maior e picos bem mais definidos (426, 460, 488nm) do que o óleo composto de soja com 15% de azeite. O que pela lógica e pelos espectros mostrados na figura anterior (figura 13) teria que ser o contrário. Também foi possível verificar um deslocamento do centro dos picos ao compararmos o óleo composto de soja com 10% de azeite e a amostra de azeite de oliva puro, comportamento este não observado para a amostra de óleo composto com 15% de azeite.

Para efeito de comparação as figuras 15 e 16 mostram respectivamente, os espectros de absorção para as amostras de óleo comercial composto de soja com 10% de azeite de oliva e a mistura preparada de óleo de soja também com 10% de azeite e amostras de óleo composto de soja com 15% de azeite e a mistura com 15% de azeite.

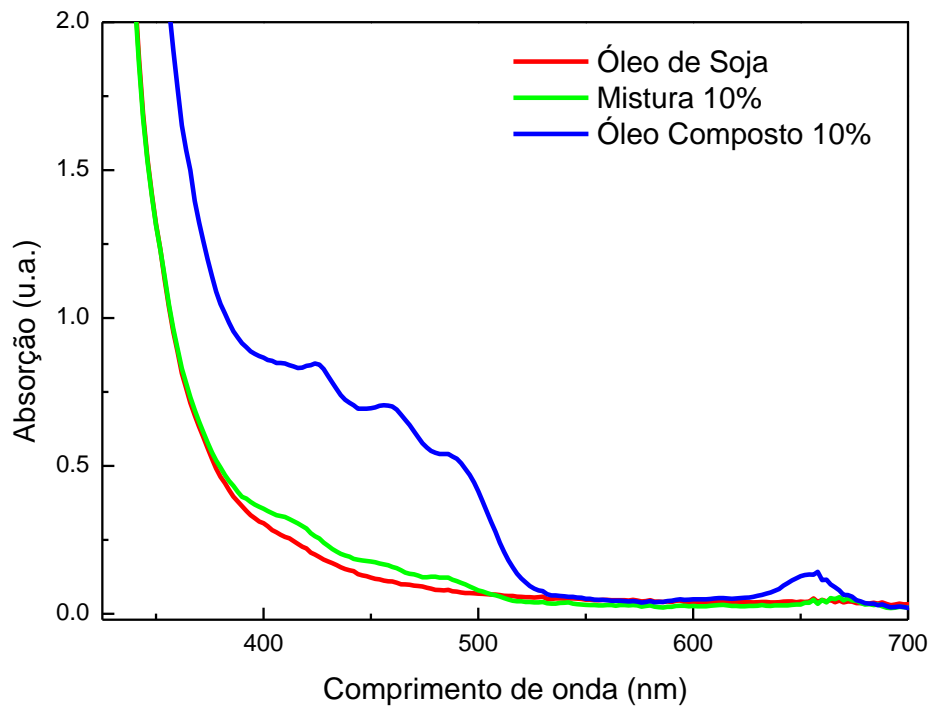


Figura 15 – Espectros de absorção para as amostras de óleo de soja, óleo comercial composto de soja com 10% de azeite e mistura de óleo de soja com 10% de azeite.

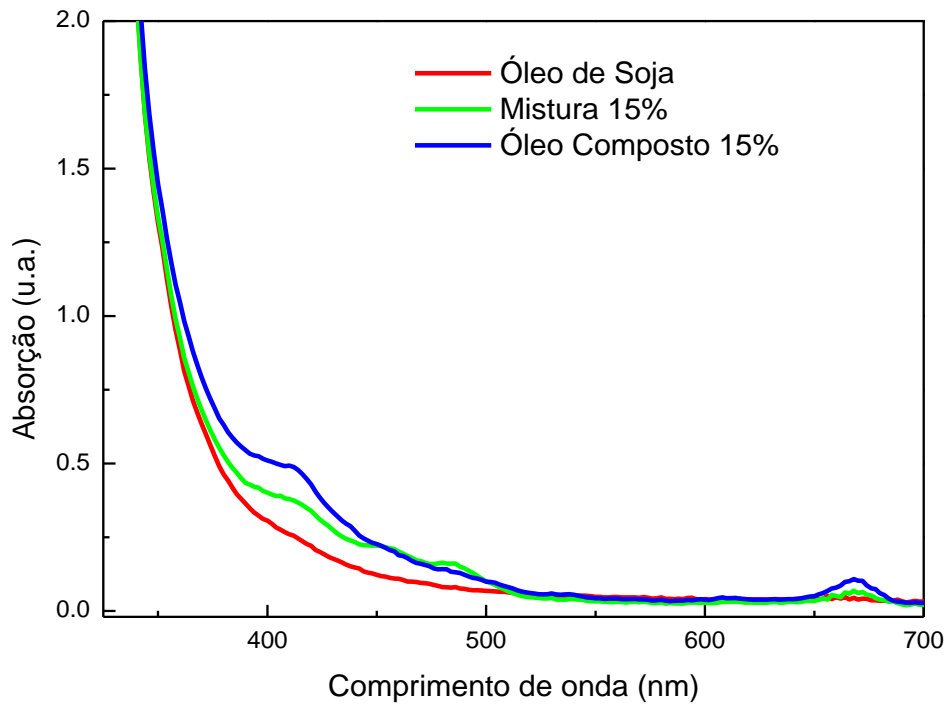


Figura 16 – Espectros de absorção para as amostras de óleo de soja, óleo comercial composto de soja com 15% de azeite e mistura de óleo de soja com 15% de azeite.

Observa-se na figura 15 uma enorme diferença entre os espectros do óleo comercial composto de soja com 10% de azeite e da mistura preparada no laboratório com 90% de soja e 10% de azeite de oliva. O comportamento esperado seria o mesmo obtido para as amostras com 15% de azeite, que por sua vez, não apresentou mudanças significativas entre os espectros do óleo comercial composto de soja com 15% de azeite e a mistura preparada também com 15% de azeite.

Fato importante a ser salientado é que este espectro obtido para o óleo comercial composto de soja com 10% de azeite é muito semelhante ao espectro de absorção da clorofila *b* (ver figura 7), ou seja, em ambos verifica-se um deslocamento do centro dos picos, o que nos leva a deduzir que possivelmente pode-se ter adicionado clorofila *b* ao óleo ou algum derivado deste sabendo-se que segundo Johnson-Flanagan *et al.* (1990 *apud* BORRMANN, 2009), a clorofila *b* é mais resistente à feofitinação do que a clorofila *a*.

A análise detalhada dos espectros de absorção foi feita através de ajuste por integração, obtendo-se assim, os valores da área compreendida entre 386 a 560nm. Um exemplo deste ajuste está mostrado na figura 17.

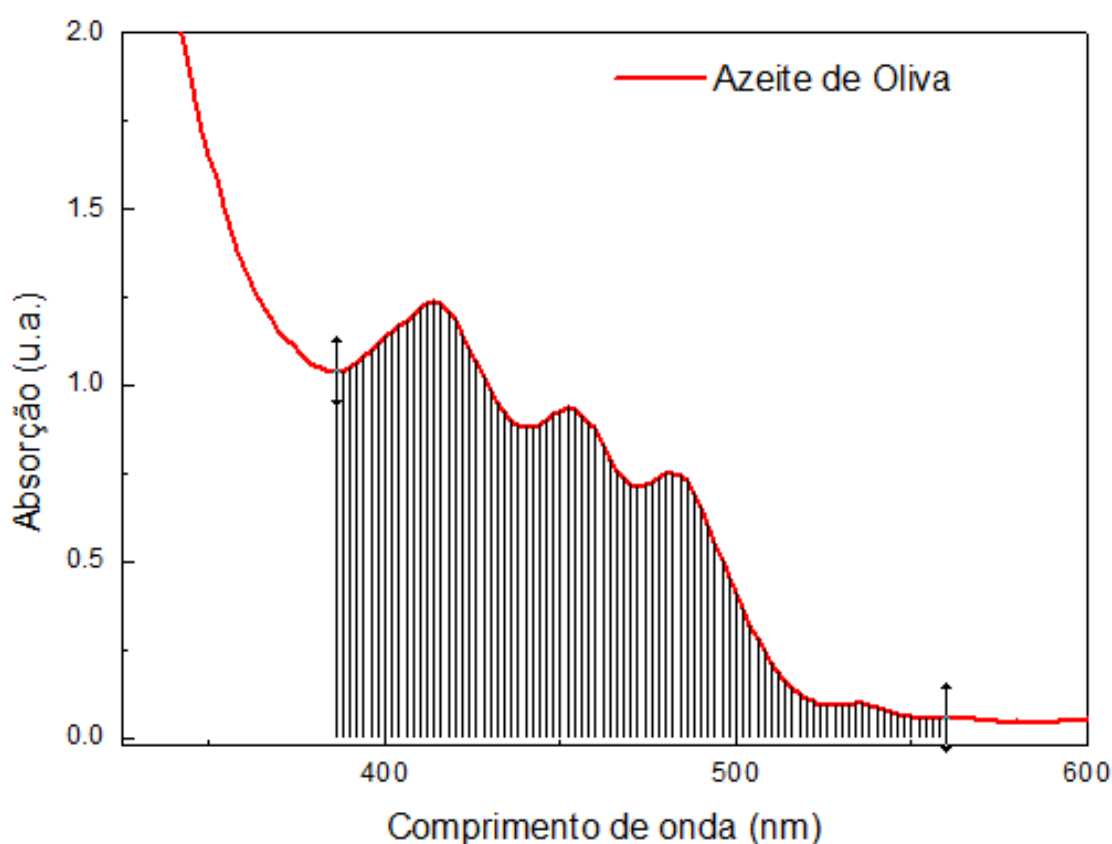


Figura 17 – Espectro de absorção e ajuste por integração para a amostra de azeite de oliva.

Para os ajustes, os espectros de absorção foram inicialmente colocados em uma mesma linha de base, ou seja, escolhemos um “ponto mínimo”, por volta de 844nm que deveria estar em $y = 0$, ou o mais próximo deste valor possível. Assim, desprezou-se as diferenças entre os espectros causadas por falhas no manuseio das amostras e no procedimento experimental. Para garantir ainda a credibilidade do procedimento de ajuste, as medidas de absorção foram realizadas em triplicata, obtendo-se assim valores de três áreas para cada mistura. Na tabela 5 encontram-se os parâmetros utilizados para a análise dos dados. Para simplificação, definiu-se a área 1 (correspondente ao grupo de misturas 1), área 2 (grupo de misturas 2) e área 3 (grupo de misturas 3), o valor médio de *VM*, que corresponde a área média e $sd(yEr\pm)$ que corresponde ao desvio. A área correspondente a 0% de azeite de oliva é justamente a área da amostra de óleo de soja puro e a área correspondente a 100% de azeite é a área da amostra de azeite de oliva puro.

Tabela 5 – Parâmetros do ajuste por integração para os espectros de absorção das amostras de azeite de oliva (100%), óleo de soja (0%) e misturas azeite-óleo de soja (5 a 90%).

Azeite de Oliva (%)	Área 1	Área 2	Área 3	VM Área Média	Sd (yEr±)
0	20.55037	22.82214	23.62614	22.33288	1.59519
5	19.27614	19.62922	22.39084	20.43207	1.70551
10	24.14914	25.00822	27.48084	25.54607	1.72974
15	29.26414	29.39522	32.62212	30.42716	1.90202
20	34.38314	34.40022	37.74712	35.51016	1.93728
25	40.90514	38.91922	41.94484	40.58973	1.53727
30	43.37114	49.25777	46.52912	46.38601	2.94592
40	52.79742	53.40522	56.28084	54.16116	1.86068
50	66.40024	63.05922	65.18284	64.88077	1.69087
60	76.56924	77.39877	75.74884	76.57228	0.82497
70	85.88624	84.47332	85.30584	85.2218	0.7102
80	95.12024	95.97705	94.70884	95.26871	0.64701
90	104.98124	102.45412	104.17584	103.8704	1.29095
100	112.89063	108.15563	110.619	110.55508	2.36815

Na tabela a seguir segue os mesmos parâmetros da tabela 5, porém agora para os óleos compostos comerciais (10 e 15%) de azeite, sendo que dois óleos compostos comerciais com 15% de azeite de marcas distintas foram analisados.

Tabela 6 – Parâmetros do ajuste por integração para os espectros de absorção dos óleos compostos comerciais (10 e 15%) de azeite.

Azeite de Oliva (%)	Área 1	Área 2	Área 3	VM Área Média	Sd (yEr±)
10	90.56463	88.68546	90.05246	89.76752	0.97145

“continua”

Azeite de Oliva (%)	Área 1	Área 2	Área 3	VM Área Média	Sd (yEr±)
15	33.64842	37.78814	38.84814	36.76157	2.74766
15	34.99914	39.20363	39.63863	37.94713	2.56229

A figura 18 mostra como os valores da área em função da concentração de azeite foram ajustados. Nessa figura observa-se um aumento da área integrada em função da concentração de azeite de oliva evidenciando um comportamento linear.

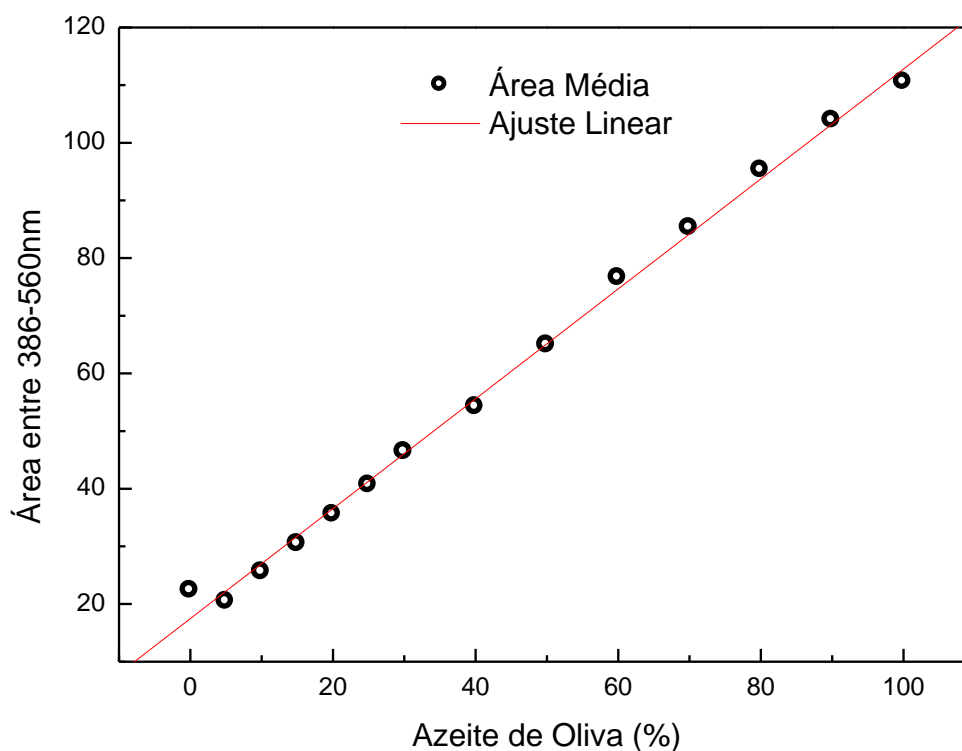


Figura 18 – Valores das áreas entre 386-560nm, calculadas por integração.

O gráfico a seguir mostra este mesmo comportamento linear juntamente com o desvio, incluindo as áreas integradas dos óleos comerciais compostos de soja e azeite de oliva (10 e 15%).

Observa-se que a área do óleo composto comercial com 15% de azeite ficou bem próxima da curva de calibração (tanto para a marca A como para a B), o que já era esperado, em virtude do comportamento obtido nos espectros de absorção mostrados anteriormente. Já para o óleo composto comercial com 10% de azeite, observa-se que a área obtida ficou

totalmente fora da curva de calibração. Simulando uma possível inversão na concentração de azeite de oliva e de óleo de soja nesse óleo composto e ao invés de ser 10% de azeite fosse o contrário, ou seja, 90% de azeite e apenas 10% de óleo de soja, observou-se que a área obtida ficou mais próxima da curva de calibração. Porém, sabemos que essa seria uma hipótese totalmente inválida por ser inviável para a indústria, tendo em vista que a mesma não se beneficiaria com isto, pelo contrário, estaria vendendo um produto a baixo custo sendo que na realidade o mesmo teria um alto valor agregado em virtude da elevada concentração de azeite de oliva.

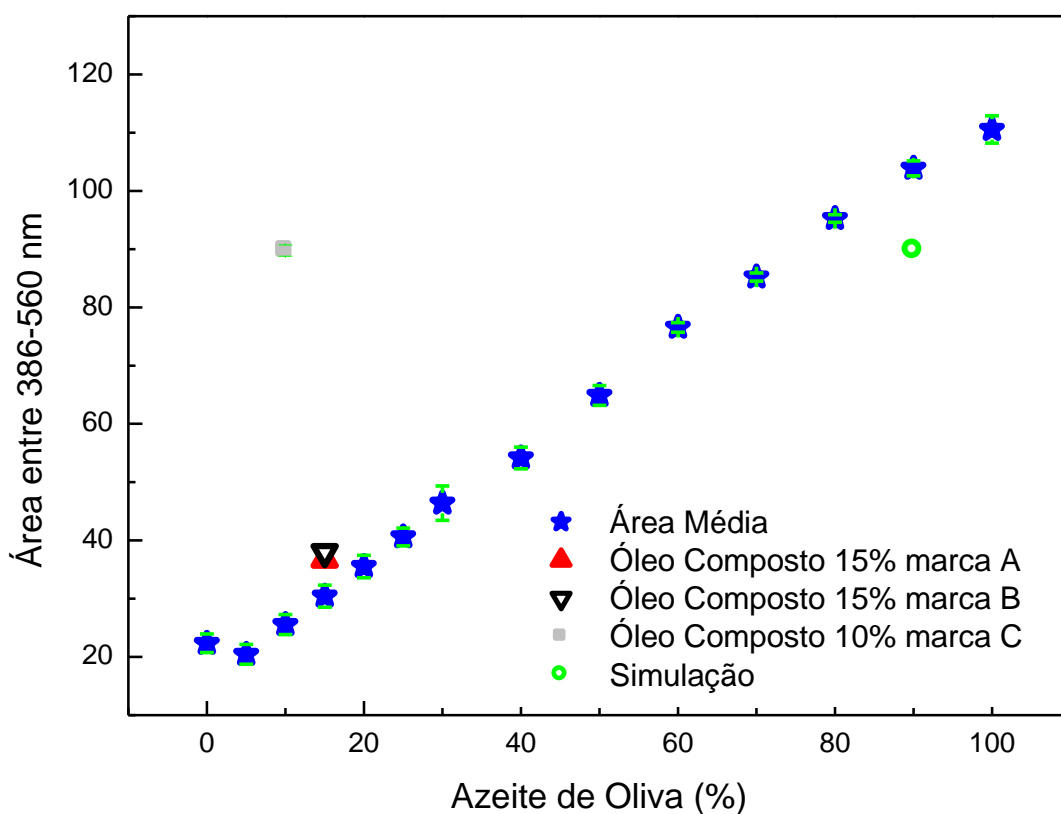


Figura 19 – Valores das áreas entre 386-560nm, calculadas por integração para as amostras de óleo de soja puro, azeite de oliva puro, misturas (5 a 90%) de azeite e óleos compostos comerciais (10 e 15%) de azeite.

5 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados demonstraram a potencialidade da técnica de espectroscopia de absorção óptica para análise de óleos comestíveis, sem fazer uso de solventes.

Observou-se claramente a presença de picos bem definidos na amostra de azeite de oliva (414, 452, 484 e 670nm) e sua ausência na amostra de óleo de soja.

Nos espectros de absorção para as amostras de óleo de soja e azeite de oliva e suas respectivas misturas observou-se um aumento na intensidade dos picos conforme aumentava-se a concentração de azeite de oliva nas misturas. Não houve a presença de anomalias, como saturação, ou mudança no comportamento da curva devido a qualquer reação entre os óleos da mistura. O que ratifica o potencial da técnica para este tipo de análise.

Observou-se o comportamento diferenciado do óleo comercial composto de soja com 10% de azeite de oliva o que nos levou a deduzir que possivelmente pode-se ter adicionado clorofila *b* ao óleo. Posterior análise que será realizada por meio de técnicas complementares como FTIR e HPLC poderão corroborar tal resultado, auxiliando na identificação dos componentes das amostras.

REFERÊNCIAS

- ALVES, J. O. **Espectrometria de massas com ionização electrospray (esi-ms) e métodos quimiométricos: caracterização de azeites de oliva (extra virgem e puro) e outros óleos vegetais e quantificação de óleos adulterantes em azeite de oliva extra virgem**. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: Teoria e prática**. 4. ed. Viçosa, MG: editora UFV, 2008.
- AUED-PIMENTEL, S.; TAKEMOTO, E.; KUMAGAI, E. E.; CANO, C. B. Determinação da diferença entre o valor real e teórico do triglicerídeo ECN 42 para a detecção de adulteração em azeites de oliva comercializados no Brasil. **Química Nova**, v. 31, p. 31-34, 2008.
- AZEVEDO, R. V.; VIEIRA, S. R.; KASCHNY, J. R. A. **Espectroscopia de corante naturais**. Instituto Federal da Bahia – Campus Vitória da Conquista, 2011.
- BARCELOS, M. F. P.; ANGELIS-PEREIRA, M. C.; OLIVEIRA, A. F. **Aspectos nutricionais do azeite de oliva e sua influência na dieta humana**. Belo Horizonte. 2006. Disponível em:
<<http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/busca?b=ad&id=157271&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22BARCELOS,%20M.%20de%20F.%20P.%22&qFacets=autoria:%22BARCELOS,%20M.%20de%20F.%20P.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>>. Acesso em: 27 set. 2013.
- BOSKOU, D. **Olive oil: chemistry and technology**. Champaign: AOCS, 1996.
- BORRMANN D. **Efeito do déficit hídrico em características químicas e bioquímicas da soja e na degradação da clorofila, com ênfase na formação de metabólitos incolores**. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, Junho, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 795, de 15 de dezembro de 1993. Aprova as normas de identidade, qualidade, embalagem, marcação e apresentação do óleo e do farelo de soja. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 dez. 1993.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 482, de 23 de setembro de 1999. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais. **Diário Oficial da União**, 13 out. 1999.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal. **Diário Oficial da União**, 23 set. 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 419, 26 de agosto de 2010. Regulamento técnico dos azeites de oliva e dos óleos de bagaço de oliva. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 166, p.02-05, 30 ago. 2010. Seção 1.

CAMPOS, M. M. **Química Orgânica**. São Paulo: Edgard Blücher, v.2, 1976.

CARDOSO, L. G. V. **Características físico-químicas e avaliação do perfil de ácidos graxos de azeite obtidos de diferentes variedades de oliveira introduzidas em Minas Gerais - Brasil**. Universidade Federal de Lavras: Lavras. p. 89. 2006.

CATHARINO, R. R.; HADDAD, R.; CABRINI, L. G.; CUNHA, I. B. S.; SAWAYA, A. C. H. F.; EBERLIN, M. N. Characterization of vegetable oils by electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting: Classification, quality, adulteration, and aging. **Analytical Chemistry**. v. 77, n. 22, p. 7429-7433, 2005.

COSTA, A. G.; BRESSAN, J. ; SABARENSE, C. M. **Ácidos graxos trans: Alimentos e efeitos na saúde**. Archivos Latino Americanos de Nutrición, v. 56, 2006. Disponível em <http://www.alanrevista.org/ediciones/2006-1/acidos_graxos_trans.asp>. Acesso em: 25 set. 2013.

COULTATE, T. P. **Alimentos: a química de seus componentes**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

CRIZEL, M. M.; GOULARTE-DUTRA, F. L.; PESTANA-BAUER, V. R.; COUTINHO, E. F.; ZAMBIAZI, R. C. Índice de peróxido em azeites de oliva monovarietais. 2010. Disponível: < http://www.ufpel.edu.br/cic/2010/cd/pdf/CA/CA_00816.pdf >. Acesso em: 04 set. 2013.

DÍAZ, T. G.; MERÁS, I. D.; CORREA, C. A.; ROLDAN, B.; CÁCERES, M. I. R. Simultaneous Fluorometric Determinations of Chlorophylls A and B and Pheophytins A and B in Olive Oil by Partial Least-Squares Calibration. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 51, n. 24, p. 6934-6940, ISSN 1618-2650, 2003.

EMBRAPA. **Tecnologia para produção do óleo de soja: descrição das etapas, equipamentos, produtos e subprodutos**. Londrina, PR, Setembro, ISSN 1516-781X, 2001.

EMBRAPA. **Cultivo de oliveira (*Olea europaea L.*)**. Dez. 2011. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/catalogo/tipo/sistemas/sistema16_novo/11_mercados_e_comercializacao.htm>. Acesso em: 28 ago. 2013.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S. PARKIN, K. L. **Química de alimentos de Fennema**. 4ª. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

GENTA, T. M. S.; MAURÍCIO, A. A.; MATIOLI, G. Avaliação das boas práticas através de check-list aplicado em restaurantes self-service da região central de Maringá. **Actasci.health sci**. v. 27, n. 2, p.151-156, 2005.

INFOESCOLA. Navegando e Aprendendo. Espectrofotômetro. Disponível em: <<http://www.infoescola.com/materiais-de-laboratorio/espectrofotometro/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

LEVADOUX, W. L., KALMOKOFF, M. L., PICKARD, M. D., GROOFWASSINK, J. W. D. Pigment removal from canola oil using chlorophyllase. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v. 64, n. 1, p. 139-144, 1987.

LEMOS, A. M.; NOBLE, A. P.; SEGAT, H. J.; **Espectroscopia visível e ultravioleta**. Universidade Federal de Santa Maria. Centro de ciências naturais e exatas. Santa Maria, RS, 2009.

MAIA, L. M. J. **Azeites dop: avaliação dos carotenoides maioritários (β – caroteno e luteína)**. Dissertação (Mestrado em controle de qualidade) – Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, 2006.

MARTIN, C. A.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E. Ácidos graxos *trans*: implicações nutricionais e fontes na dieta. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 361-368, jul./set., 2004.

MACKINNEY, G. Absorption of light by chlorophyll solutions. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 140, p. 315-322, 1941.

MCMURRY, J. **Química Orgânica**, 4^a ed, Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 1997.

MELLO, L. D.; PINHEIRO, M. F. Aspectos físico-químicos de azeites de oliva e de folhas de oliveira provenientes de cultivares do RS, Brasil. **Alim. Nutr.** Araraquara. v. 23, n. 4, p. 537-548, 2012.

MORETTO, Eliane; FETT, Roseane. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1998.

NUNES, E. C. de B. **Propriedades Ópticas e Térmicas da Oleína de Palma**. Dissertação (Mestrado em física) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Exatas e Naturais. Belém, PA, 2008.

OLIVEIRA, R. G. **Aplicação de Parâmetros termo-ópticos para o monitoramento da degradação de óleos vegetais**. Tese (Doutorado em física) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá – PR, 2009.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A química dos óleos e gorduras e seus processos de extração e refino. **Rev. Virtual de Química**, v. 5, n. 1, p. 2-15, 2013.

REGITANO–D’ARCE, M. A. B.; OETTERER, M.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri – SP: Manole, 2006.

SANTOS J. F. **El contexto de la olivicultura, la producción y el consumo de aceite de oliva en el mundo**. Tese de Doutorado, 2002. p. 295-319. Disponível em: <<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8371/Tjfs04de23.pdf?sequence=4>>. Acesso em: 04 set. 2013.

SOUZA, C. D. D. **Regeneração térmica de argilas comerciais para reutilização na clarificação de óleo de soja**. Dissertação (Mestrado em engenharia química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis-SC, 2002.

STREIT, N. M. *et al.* As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.3, p. 748-755, 2005.

TAUTORUS, C.L., LOW, N.H. Chemical aspects of chlorophyll breakdown products and

their relevance to canola oil stability. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v.70, n. 9, p. 843-847, 1993.

VOGEL, A. I. **Química analítica qualitativa**, 5^a ed. São Paulo. p. 343-354, 1981.

WILLARD, H.; MERRITT Jr.; L., DEAN, J. **Análise Instrumental**. Fundação Calouste Gulbenkian, 2^a edição, Lisboa, 1979.