BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, EXTENSÃO E PÓS-GRADUAÇÃO – PROPEX
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO – PPGAD
NÚCLEO DE ELETROFOTOQUÍMICA E MATERIAIS POLIMÉRICOS – NEMP

DISSERTAÇÃO

ESTUDO DAS ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DO AZEITE DE OLIVA APÓS TRATAMENTO TÉRMICO

Lisângela Rita Penz

Lajeado, fevereiro de 2010

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, EXTENSÃO E PÓS-GRADUAÇÃO – PROPEX
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO – PPGAD
NÚCLEO DE ELETROFOTOQUÍMICA E MATERIAIS POLIMÉRICOS – NEMP

DISSERTAÇÃO

ESTUDO DAS ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DO AZEITE DE OLIVA APÓS TRATAMENTO TÉRMICO

Lisângela Rita Penz

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ambiente e Desenvolvimento para apreciação da Banca.

Orientadora: Profa. Dra. Simone Stülp
Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Miranda Ethur

Lajeado, fevereiro de 2010

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

"Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já têm a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos..."

(Fernando Pessoa)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Este trabalho é dedicado aos meus pais Wilma e João, pelo apoio em todas as suas formas, e por serem responsáveis pela formação do meu caráter.

À minha irmã Jordana, que mesmo distante fisicamente, sempre soube me colocar "para cima" em alguns momentos, com seu permanente bom humor.

Ao meu namorado Gelson, pelo incentivo durante esta trajetória e, sobretudo, pelo companheirismo, carinho, amor, amizade e compreensão.

E a todos os familiares, colegas e amigos que de alguma forma, torceram e me apoiaram ao longo destes anos.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder saúde, inteligência e paciência para superar as dificuldades com fé e também me dando sabedoria para tomar as decisões certas nos momentos mais difíceis.

À minha orientadora, Professora Dra. Simone Stülp, pela oportunidade concedida, confiança, paciência e pela atenção dedicada durante toda a realização deste trabalho.

Ao meu Co-orientador, Professor Dr. Eduardo Miranda Ethur, um muito obrigado pela sua dedicação na orientação e pela sua amizade.

À Professora Dra. Simone Morelo Dal Bosco, pela sugestão deste tema e apoio desde os tempos de graduação.

Ao Gerente Administrativo – Jeferson Bottoni, e à Gerente Técnica do Laboratório de Análises Físico-Químicas – Profa. Dra. Miriam Ines Marchi, do Unianálises/Univates, pela disponibilização do espaço para a realização das análises cromatográficas.

Aos laboratoristas Lucas Schmidt e Laerte Loposzinski e aos bolsistas Sandro Marmitt, Paula Bianchetti e Júlia Sartori Becker – sem o valioso auxílio de vocês, este trabalho não teria sido possível!

Aos professores e colegas da turma 3 do PPGAD/Univates, pelas oportunidades de aprendizado e troca de experiências.

À minha família e aos meus amigos, presentes em todos os momentos, que ouviram os meus problemas, ansiedades, alegrias e me apoiaram, ao longo destes dois anos.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

RESUMO

Durante o processo de aquecimento, os óleos passam por modificações em sua estrutura química, o que pode torná-los inadequados para consumo. O azeite de oliva, por ser a maior fonte de gordura monoinsaturada na dieta humana, tem sido alvo de muitas pesquisas na área da saúde, indicando que o seu consumo regular é benéfico à saúde. Por ser um óleo de alto valor comercial, é interessante conhecer o seu comportamento quando submetido a processos de aquecimento em diferentes temperaturas, para avaliar as modificações físico-químicas, e orientar o consumidor quanto a esta prática. O objetivo deste trabalho é avaliar o comportamento físico-químico do azeite de oliva, em seus estados brutos e após o processo térmico, variando da temperatura ambiente até 60 °C, 100 °C, 180 °C e após 30 minutos a 180 °C. Para tanto, foram utilizados métodos quantitativos e qualitativos tais como: ensaios de voltametria cíclica, cromatografia gasosa, índices de peróxidos e acidez, e pH, espectrofotometria UV/Vis e voltametria de pulso diferencial, com o intuito de avaliar o comportamento deste lipídeo. Através destes ensaios, foi possível avaliar as modificações ocorridas por este lipídeo por meio das reações de oxi-redução ocorridas no sistema. Em função do alto custo do azeite de oliva extra-virgem e das perdas de compostos antioxidantes verificadas, deve-se dar preferência ao seu uso na forma bruta, como tempero de saladas e outras preparações. Eventualmente, se o consumidor desejar utilizá-lo em processo térmico, e principalmente, de fritura, sugere-se que a temperatura não seja superior a 180 °C e que não haja um reaproveitamento deste em processos de aquecimento posteriores, devido às perdas de compostos desejáveis, responsáveis por ações positivas para a nossa saúde.

PALAVRAS-CHAVE: azeite de oliva, óleos vegetais, tratamento térmico, degradação, propriedades físico-químicas.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

ABSTRACT

During the process of oil heating occur changes in its chemical structure, which may make them unsuitable for consumption. The olive oil as the main source of monounsaturated fats in the human diet has been much research in health, indicating that their regular consumption is health beneficial. Being an oil of high commercial value, it is interesting to know its behavior when subjected to heating processes at different temperatures to evaluate the physicochemical changes, and guide the consumer on this practice. The aim of this study is to evaluate the physical and chemical behavior of the olive oil in its raw state and after thermal processing, ranging from ambient temperature to 60 °C, 100 °C, 180 °C and after 30 minutes at 180 °C. Thus, quantitative and qualitative methods will be used, such as: cyclic voltammetry, gas chromatography, peroxide and acidity values, pH, spectrophotometric UV/Vis and differential pulse voltammetry in order to evaluate the behavior of this lipid. Through these assays, it was possible to evaluate the changes in this lipid through the reactions of oxidation-reduction occurred in the system. Due to the high cost of extra-virgin olive oil and losses of antioxidant compounds found, should be preferred to its use in raw form, such as salad dressings and other preparations. Eventually, if the consumer wants to use it in the heating processes, and especially in frying, it is suggested that the temperature does not exceeds 180 °C and that there is no reuse in this subsequent heating processes due to loss of desirable compounds, responsible for positive actions for our health.

KEYWORDS: olive oil, vegetable oils, heat treatment, degradation, physicochemical properties.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS 9
LISTA DE FIGURAS 10
LISTA DE TABELAS 12
1 INTRODUÇÃO 14
1.1 Azeite de Oliva 19
1.2 Rancidez Lipídica 22
1.3 Riscos Ambientais e à Saúde 26
2 OBJETIVOS 28
2.1 Objetivo Geral 28
2.2 Objetivos Específicos 28
3 JUSTIFICATIVA 29
4 METODOLOGIA 32
4.1 Tipo de Pesquisa 32
4.2 Amostragem 32
4.3 Preparo das Amostras 32
4.5 Análise Química 45
4.5.1 Determinação do Índice de Acidez 46
4.5.2 Determinação do Índice de Peróxidos 47
4.6 Análise Estatística 48
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES 49
6 CONCLUSÃO 73
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS 75
REFERÊNCIAS 76
ANEXOS 84

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AOAC	*Association of Analytical Communities*
ISO	*International Organization for Standardization*
IUPAC	*International Union of Pure and Applied Chemistry*
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NIST	*National Institute of Standards and Technology*

UNIVATES

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Estrutura química do beta-sitosterol. 16
FIGURA 2 – Reações de esterificação e hidrólise de um glicerídeo. 17
FIGURA 3 – Arranjos *cis* e *trans* de um ácido graxo insaturado. 18
FIGURA 4 – Alguns ácidos graxos presentes no azeite de oliva com sua respectiva concentração. 20
FIGURA 5 – Reação de formação de acroleína a partir da desidratação do glicerol. 22
FIGURA 6 – Reação de formação de aldeídos a partir da oxidação de lipídeos. 25
FIGURA 7 – Potenciostato-Galvanostato, acoplado a um computador e a uma gaiola de Faraday, utilizados nos experimentos eletroquímicos. 35
FIGURA 8 – Célula eletroquímica e eletrodos utilizados nos experimentos eletroquímicos. 36
FIGURA 9 – Espectrofotômetro utilizado nos ensaios espectrofotométricos. 40
FIGURA 10 – Cromatógrafo gasoso, utilizado nos ensaios de gorduras saturadas, monoinsaturadas, polinsaturadas, *trans* e fitosteróis. 41
FIGURA 11 – Voltamograma Cíclico do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100°C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). v = 50 $mV.s^{-1}$. 50
FIGURA 12 – Voltamograma Cíclico do azeite de oliva antes do tratamento térmico. v = 50 $mV.s^{-1}$. 51
FIGURA 13 – Voltamograma de Pulso Diferencial do azeite de oliva com adição de eletrólito-suporte KCl 3M, antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). v = 30 $mV.s^{-1}$, amplitude de pulso = 0,06 V. 53

FIGURA 14 – Zoom do espectro UV/Vis do azeite de oliva, antes e após tratamento térmico (190 – 900 nm). 55
FIGURA 15 – Zoom do espectro UV/Vis do azeite de oliva, antes e após tratamento térmico (200 – 300 nm). 56
FIGURA 16 – *Zoom* do espectro UV/Vis do azeite de oliva, antes e após tratamento térmico (faixa e varredura 400 – 500 nm). 59
FIGURA 17 – Valores de Cargas da VC (C) antes e após tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).....69
FIGURA 18 – % de Fitosteróis antes e após tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). 69
FIGURA 19 – Índice de Peróxidos antes e após tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).....70
FIGURA 20 – Índice de Acidez antes e após tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). 70
FIGURA 21 – pH antes e após tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). 71
FIGURA 22 – Demonstrativo da tendência de alteração dos parâmetros avaliados antes e após aplicação de tratamento térmico em amostras de azeite de oliva. 72

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Valores de Carga (em Coulombs – C) do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).....51
TABELA 2 – Perfil lipídico do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). MUFA's = Ácidos Graxos Monoinsaturados; PUFA's = Ácidos Graxos Polinsaturados; *Trans* = Ácidos Graxos *Trans*. 60
TABELA 3 – % de Fitosteróis do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). 61
TABELA 4 – Índice de Peróxidos (mEq/kg) do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).....62
TABELA 5 – Índice de Acidez do azeite de oliva (como ácido oleico, em%) antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). ...63
TABELA 6 – pH do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).....63
TABELA 7 – Análise de Variância para ensaios de Voltametria Cíclica – Valores de Carga (C) do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico. F = Valor da Análise de Variância; P = Probabilidade. 65
TABELA 8 – Análise de Variância para ensaio de Gorduras Monoinsaturadas, Polinsaturadas e Saturadas do azeite de oliva bruto e para cada um dos tratamentos térmicos aplicados. F = Valor da Análise de Variância; P = Probabilidade. 65
TABELA 9 – Análise de Variância para ensaio de Fitosteróis do azeite de oliva bruto e para cada um dos tratamentos térmicos aplicados. F = Valor da Análise de Variância; P = Probabilidade. 66

TABELA 10 – Análise de Variância para ensaios de pH e acidez do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico. F = Valor da Análise de Variância; P = Probabilidade. 66
TABELA 11 – Análise de Variância para ensaio de Índice de Peróxidos do azeite de oliva bruto e para cada um dos tratamentos térmicos aplicados. F = Valor da Análise de Variância; P = Probabilidade. 67
TABELA 12 – Correlações de Pearson no azeite de oliva bruto e para cada um dos tratamentos térmicos aplicados. r = Pearson; P = Probabilidade. 67

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

1 INTRODUÇÃO

O hábito alimentar representa um dos mais importantes fatores ambientais associados ao desenvolvimento das doenças crônico-degenerativas da modernidade (Pimentel; Magnoni; Costa, 2007), sendo que, os lipídeos têm sido um dos principais pontos de interesse da pesquisa em nutrição (Sabarense & Mancini Filho, 2003).

A agricultura começou a produzir mudanças na dieta há mais ou menos 10.000 anos. Somente a partir da Revolução Industrial e, particularmente, nos últimos 150 anos, maiores mudanças ocorreram tanto na quantidade como no tipo de gordura consumida (Sabarense & Mancini Filho, 2003).

Os lipídeos constituem um grupo de substâncias que, genericamente, são chamamos de óleos e gorduras, tanto de origem animal como vegetal (Riegel, 2002). São insolúveis em água, representadas em especial pelos triacilgliceróis, fosfolipídeos e colesterol (Tirapegui, 2006).

Segundo a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) (Brasil, 2005), os óleos vegetais se apresentam na forma líquida à temperatura de 25 °C e as gorduras vegetais se apresentam na forma sólida ou pastosa à temperatura de 25 °C. São caracterizados como “produtos constituídos principalmente de glicerídeos de ácidos graxos de espécie(s) vegetal(is). Podem conter pequenas quantidades de outros lipídeos como fosfolipídeos, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres naturalmente presentes no óleo ou na gordura”.

Os produtos agrícolas apreciados pelo seu conteúdo em óleo comestível são o fruto da oliveira (*Olea europaea*) e diversas sementes oleaginosas: soja (*Glycine soja*), amendoim (*Arachis hypogea*), girassol (*Helianthus annuus*), canola (*Brassica napus* var. *oleifera*), algodão (*Gossypum herbaceum*), cártamo (*Carthamus tinctorius*). Também são ricos em conteúdo lipídico os grãos de milho (*Zea mays*), de arroz (*Oriza sativa*), os frutos e a semente de palma (*Elacis guineensis*), do cacau (*Theobroma cacao*) e do coco (*Cocus nucifera*). A mamona (*Ricinus communis*) produz um óleo não comestível, utilizado apenas em operações industriais (Yúfera, 1998).

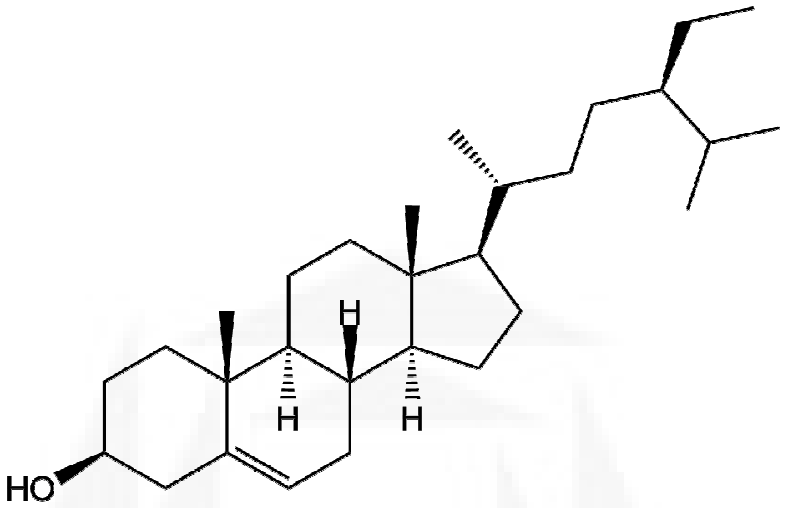
Quando da análise de composição lipídica de uma semente oleaginosa, um alimento processado ou tecido animal, são encontrados desde os triglicerídeos, constituintes majoritários, na sua maioria fosfolipídeos, ceras, ácidos graxos, e toda uma gama de outras substâncias livres de ácidos graxos na sua composição, mas que se enquadram na classe dos lipídeos. Estes podem ser esteróis, alcoóis graxos ou terpênicos, hidrocarbonetos ou pigmentos carotenoides, que em comum com os lipídeos, apresentam a característica de solubilidade em solventes orgânicos e a insolubilidade em água (Oetterer; Regitano-D'Arce; Spoto, 2006).

Segundo Bobbio & Bobbio (2003), os compostos minoritários presentes nos lipídeos compõem a fração insaponificável, pois nas reações com compostos alcalinos não sofrem modificações. Podem ser obtidos facilmente por extração com éter a partir da porção aquosa resultante da saponificação das gorduras.

Em grande parte dos lipídeos, os esteróis constituem o principal componente da fração insaponificável. Geralmente são substâncias cristalinas e podem ser encontrados livres ou esterificados com ácidos graxos de alto peso molecular (Bobbio & Bobbio, 2003), e constituem uma família de compostos com função alcoólica encontrados em todas as gorduras em quantidades variadas (esteróis totais) e em diferentes proporções entre seus componentes. As gorduras animais possuem exclusivamente o colesterol, já as vegetais apresentam uma maior variabilidade, com um componente majoritário que é o beta-sitosterol, acompanhado

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

de proporções variadas de outros esteróis segundo a espécie vegetal de procedência (Cert, 1995). A estrutura do beta-sitosterol está ilustrada na Figura 1.



FONTE: Sigma-Aldrich.

FIGURA 1 – Estrutura química do beta-sitosterol.

Os fitosteróis ou esteróis vegetais são moléculas de tipo esteroide que estão presentes de forma abundante nas sementes de leguminosas e que inibem a absorção de colesterol (Plaza *et al*., 2000). São os constituintes que estão presentes em menor quantidade na fração insaponificável da matéria vegetal. A maioria dos óleos vegetais crus contém entre 0,1 e 0,5 g de fitosteróis por 100 g de óleo (Costa, 2007).

A Figura 2 representa as reações de esterificação e hidrólise de um glicerídeo. A reação no sentido direto (→) é a esterificação, e no sentido contrário (←), ocorre a hidrólise. Os glicerídeos são ésteres de glicerol, e os ácidos graxos são produto da hidrólise dos triglicerídeos (Oetterer; Regitano D'Arce; Spoto, 2006).

Os ácidos graxos livres são encontrados em pequenas quantidades nos lipídeos, o que é determinante para as propriedades físico-químicas dos diferentes óleos e gorduras. Os ácidos graxos que ocorrem naturalmente nas gorduras possuem, geralmente, uma cadeia longa de átomos de carbono e hidrogênio

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

(hidrocarboneto) e um grupo terminal chamado carboxila (-COOH). Os ácidos graxos presentes nos lipídeos são compostos alifáticos, os quais podem ser saturados ou insaturados e, em alguns casos, de cadeia ramificada (Ribeiro & Seravalli, 2004).

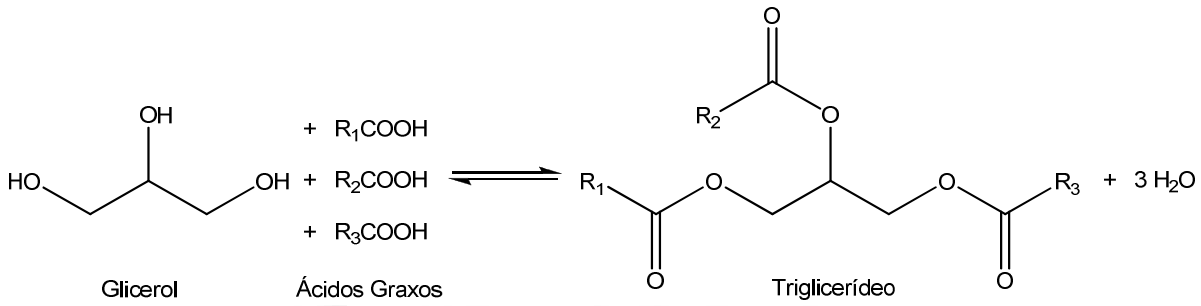


FIGURA 2 – Reações de esterificação e hidrólise de um glicerídeo.

De acordo com Coultate (1984), os ácidos graxos saturados presentes em alimentos são quase que exclusivamente compostos por um número par de átomos de carbono em uma cadeia não-ramificada. Também existem os ácidos graxos insaturados, que podem conter uma, duas ou até seis ligações duplas (insaturações).

Segundo Ribeiro & Seravalli (2004), os ácidos graxos insaturados são encontrados livres ou ligados ao glicerol, e predominam sobre os saturados principalmente nas plantas superiores e em animais que vivem em baixas temperaturas.

Os ácidos graxos insaturados podem ser divididos em: monoinsaturado (MUFA), polinsaturado (PUFA) ou *trans,* considerado por alguns autores prejudicial à saúde humana (Sgarbieri & Pacheco, 1999).

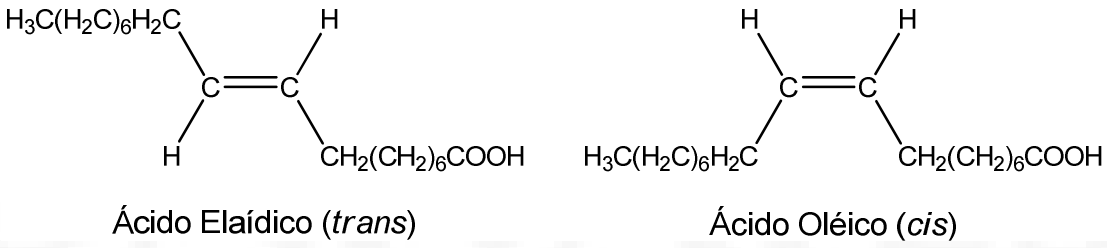
O MUFA mais conhecido é o ácido oleico, ácido graxo predominante no azeite de oliva e no óleo de canola. Na maioria dos insaturados, há uma dupla ligação entre os átomos de carbono 9 e 10 (Oetterer; Regitano-D'Arce; Spoto, 2006).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Os PUFA's possuem ligações duplas normalmente entre os carbonos 9, 10 e o grupamento metila terminal (Oetterer; Regitano D'Arce; Spoto, 2006). O PUFA pode ser encontrada em óleos vegetais, como os de girassol, canola, milho, soja, gordura de coco, nozes, castanhas, amêndoas, também sendo encontrada em linhaça, óleo de linhaça e peixes (ômega 3) (Sgarbieri & Pacheco, 1999). Quanto mais insaturado um lipídeo, maior será sua sensibilidade à rancidez oxidativa.

Os ácidos graxos *trans* não são sintetizados no organismo humano, sendo resultante de um processo industrial chamado hidrogenação (Quintaes, 2005). As formas *cis* dos ácidos graxos insaturados podem ser convertidas em formas *trans* por aquecimento, na presença de catalisadores, em processo industrial. Dessa forma, o ácido oleico pode ter uma conformação *trans*, e transformar-se no ácido elaídico, cujo ponto de fusão é muito mais elevado (ácido oleico = *cis* = ponto de fusão 14 °C; ácido elaídico = *trans* = ponto de fusão 44 °C) (Oetterer; Regitano D'Arce; Spoto, 2006, Ribeiro & Seravalli, 2004).

A Figura 3 representa os arranjos *cis* e *trans* de um ácido graxo insaturado.



Ácido Elaídico (*trans*) Ácido Oléico (*cis*)

FIGURA 3 – Arranjos *cis* e *trans* de um ácido graxo insaturado.

Segundo Yúfera (1998), as características de composição da azeitona e das sementes oleaginosas são bastante diferenciadas. A azeitona possui uma grande quantidade de água, mas é muito pobre em proteínas. As sementes oleaginosas são produtos secos e com uma fração proteica maior. O conteúdo lipídico de ambos é elevado e o de carboidratos normalmente é maior nas sementes.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Óleos e gorduras são de grande importância na dieta como fornecedores de energia, visto que, na forma pura, 1 grama de óleo ou gordura fornece 9 kcal, mais que o dobro fornecido pelo mesmo peso de carboidrato ou proteína (4 kcal / grama) (Philippi, 2003). Também agem como transportadores de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e são fontes de ácidos graxos essenciais, como o linoleico e o linolênico, além de influenciar positivamente a palatabilidade e a sensação de saciedade dos alimentos (Germano & Germano, 2008).

1.1 Azeite de Oliva

O azeite de oliva é a maior fonte natural de ácidos graxos monoinsaturados na dieta humana (Pimentel; Magnoni; Costa, 2007).

A legislação brasileira caracteriza o azeite de oliva como o "produto obtido somente dos frutos da oliveira (*Olea europaea L.*), excluídos os óleos obtidos através de solventes ou processos de reesterificação e ou qualquer mistura de outros óleos", e o azeite de oliva virgem como o "produto obtido do fruto da oliveira (*Olea europaea L.*), somente por processos mecânicos ou outros meios físicos, em condições térmicas, que não produzam alteração do azeite, e que não tenha sido submetido a outros tratamentos além da lavagem, decantação, centrifugação e filtração. Sua acidez máxima deve ser de no máximo 2,0 g / 100 g em ácido oléico. Para o azeite de oliva extra-virgem, a acidez deve ser de no máximo 0,8 g / 100 g em ácido oléico (Brasil, 2005).

A oliveira pertence á família *Oleaceae*, ao gênero *Olea* e à família *Olea europaea*, e é a única que possui fruto comestível (Quiles; Ramírez-Tortosa; Yaqoob, 2006). O azeite de oliva é o único óleo vegetal obtido da fruta – a azeitona – um suco verde-oliva, transparente e aromático, utilizado desde a pré-história como ingrediente na cozinha (Quiles; Ramírez-Tortosa; Yaqoob, 2006).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

A Figura 4 mostra as estruturas químicas e a composição de ácidos graxos presentes no azeite de oliva.

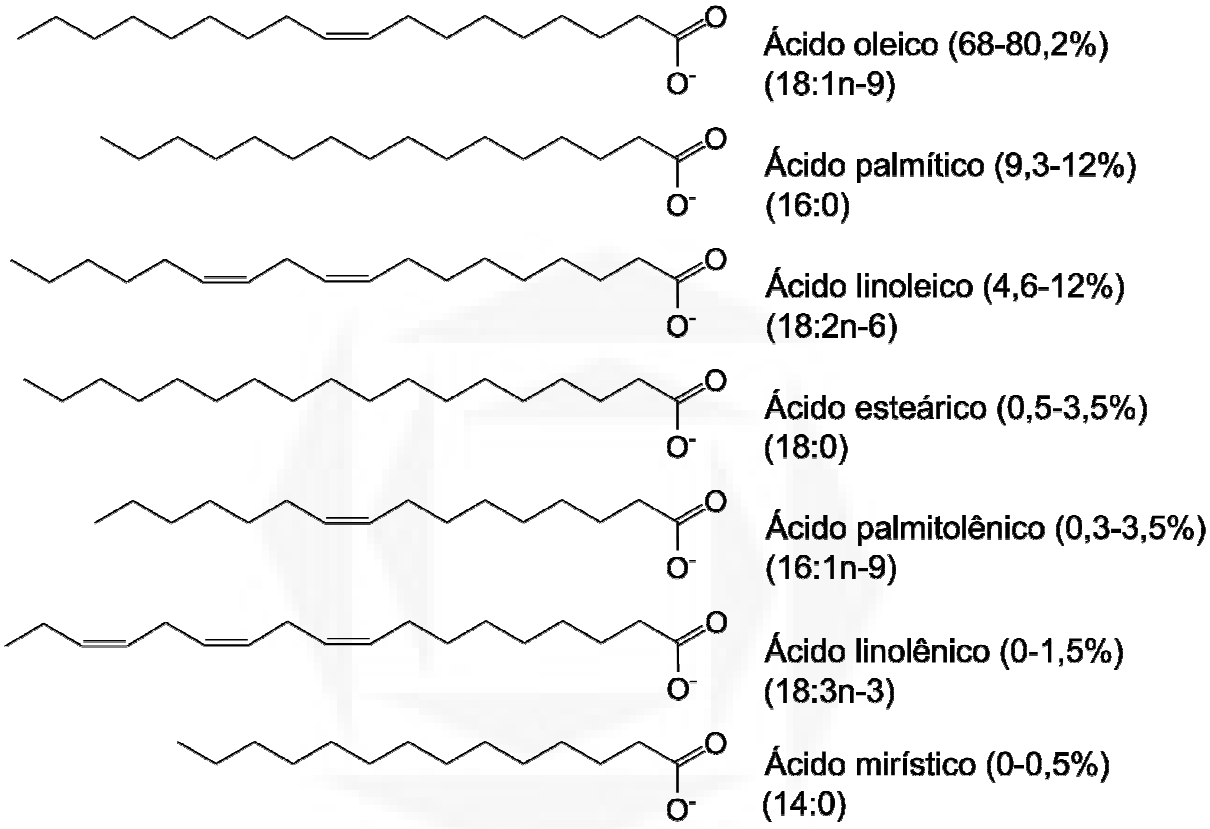


FIGURA 4 – Alguns ácidos graxos presentes no azeite de oliva com sua respectiva concentração.

O azeite de oliva possui aproximadamente 98% de triglicerídeos (Quiles; Ramírez-Tortosa; Yaqoob, 2006).

Os 2% restantes incluem mais de 230 compostos químicos, como os alcoóis, esteróis, hidrocarbonetos, diversos compostos orgânicos voláteis, antioxidantes alifáticos e triterpenos (carotenoides e compostos fenólicos) (Quiles; Ramírez-Tortosa; Yaqoob, 2006). Incluídos nestes 2% de substâncias presentes, o azeite de oliva possui uma fração insaponificável composta por 2,8 – 3,5% de hidrocarbonetos, 32 – 50% de esqualeno, 0,5% de alcoóis alifáticos, 20 – 26% de alcoóis terpênicos e 20 – 30% de esteróis (Bobbio & Bobbio, 2003).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

O ácido oleico, um MUFA, está presente em uma concentração bastante elevada (68 – 81,5%), seguido de outros ácidos monoinsaturados (palmítico, linoleico, esteárico, palmitoleico, linolênico e mirístico), presentes em quantidades bastante inferiores (Quiles; Ramírez-Tortosa; Yaqoob, 2006).

Mais de 750 milhões de oliveiras são cultivadas em todo o mundo, sendo que cerca de 95% encontra-se na Bacia do Mediterrâneo. Aproximadamente 73% da produção mundial de azeite de oliva provém de países da União Européia. Da produção européia, 97% vem da Espanha, Itália e Grécia. Somente a Espanha responde por mais de 40% da produção mundial de azeite. Em Portugal, *O. europaea* tem uma ampla distribuição, com uma área cultivada de 430 mil hectares, principalmente em áreas do centro e do sul do país. Estes dados tornam Portugal o oitavo maior país produtor de azeite do mundo, correspondendo a 280 mil toneladas de azeitona de mesa e 40 mil toneladas de produção de azeite por ano (Conde, Delrot, Gerós, 2008).

Nos últimos anos, inúmeros estudos têm apresentado evidências de que nutrientes e substâncias não-nutrientes contidas em diferentes alimentos, como o azeite de oliva, podem interferir de modo positivo na prevenção de enfermidades (Pimentel; Magnoni; Costa, 2007). Estudos experimentais e epidemiológicos sugerem que o azeite de oliva extra-virgem, com alto teor de compostos fenólicos, exerce papel protetor contra doenças crônico-degenerativas, inclusive a aterosclerose, pelo alto conteúdo de gorduras monoinsaturadas (ácido oleico) e poder antioxidante (Pimentel; Magnoni; Costa, 2007).

Em 1999, Linos *et al*. concluíram que o consumo de vegetais cozidos em azeite de oliva exerceram um efeito protetor conta a artrite reumatóide em uma população estudada na Grécia.

Aylon (2003) afirma que o azeite de oliva é o mais seguro para a realização de frituras, porém, seu uso é pouco difundido na maioria dos países, em função de seu alto custo. Por este motivo, os outros óleos vegetais são mais utilizados.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

1.2 Rancidez Lipídica

Segundo Andrade (2006), a rancidez hidrolítica caracteriza-se pela quebra dos triglicerídeos com a consequente liberação dos ácidos graxos. Este processo pode ser causado por microrganismos ou enzimas presentes nos alimentos. Sob ação de calor, a reação é favorecida, e pode levar à desidratação do glicerol formando acroleína (2-propenal). Para Bobbio & Bobbio (2003), a acroleína é um composto de cheiro desagradável e irritante para os olhos, as mucosas e a pele. A reação de formação de acroleína a partir da desidratação do glicerol é ilustrada na Figura 5.

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável, com uma implicação direta no valor comercial quer dos corpos graxos, quer de todos os produtos que a partir deles são formulados, como alimentos, cosméticos e medicamentos (Silva; Borges; Ferreira, 1999).

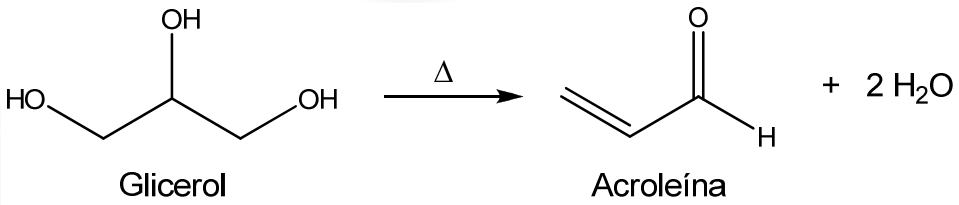


FIGURA 5 – Reação de formação de acroleína a partir da desidratação do glicerol.

Para Ziller (1994), a velocidade de oxidação é acelerada à medida que a temperatura aumenta, e as reações oxidativas nestes casos, não seguirão as mesmas rotas e mecanismos que aqueles produzidos à temperatura ambiente. Essas reações têm uma elevada energia de ativação, por isso, é necessário que haja uma intervenção externa: calor, luz e presença de alguns metais (Ordóñez *et al.*, 2005).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Os lipídeos possuem apenas alguns pontos reativos na molécula – os grupamentos éster, formados entre a carboxila (-COOH) do ácido graxo e a hidroxila (-OH) do glicerol ou de outros alcoóis, pertencem à classe de relativa reatividade das moléculas lipídicas, hidrolisando-se a ácidos graxos na maioria das vezes (Oetterer; Regitano-D'Arce; Spoto, 2006).

As reações de oxidação lipídica e os compostos formados acontecem em três etapas: iniciação, propagação e término.

Segundo Ribeiro & Seravalli (2004), a etapa de iniciação ocorre quando um átomo de hidrogênio (H) é retirado de um grupo metileno (CH_2) de um ácido graxo insaturado (RH), levando à formação de um radical livre (R•):

$$RH \rightarrow R\bullet + H\bullet$$

A fase de iniciação caracteriza-se por baixo consumo de oxigênio, mas que tende a aumentar progressivamente, baixa concentração de peróxidos, aumento da concentração de radicais livres e ausência de alterações organolépticas (Bobbio & Bobbio, 2001).

Na etapa de propagação, ainda de acordo com Ribeiro & Seravalli (2004), o oxigênio adiciona-se ao radical livre e forma um radical peroxila (ROO•). Para Oetterer; Regitano-D'Arce e Spoto (2006), cada radical peroxila reage com os lipídeos insaturados, retirando-lhes uma molécula de hidrogênio e convertendo-o a hidroperóxido (ROOH), que também é decomposto:

$$R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet$$
$$ROO\bullet + RH \rightarrow R\bullet + ROOH$$
$$ROOH \rightarrow RO\bullet + OH\bullet$$
$$2\ ROOH \rightarrow ROO\bullet + RO\bullet + H_2O$$
$$RO\bullet + RH \rightarrow R\bullet + ROH$$

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

As reações de propagação são muito rápidas, já que os radicais livres formados são bastante reativos. Em média, cada radical livre provoca a formação de 10 a 100 moléculas de peróxidos, quando reage com lipídeos puros (Ordóñez *et al*., 2005).

Esses peróxidos formados podem participar de reações que levam à decomposição e formação de novos radicais livres (Ribeiro & Seravalli, 2004). Para Coultate (1984), a proporção de hidroperóxidos formada inicialmente é extremamente pequena, e é a posterior decomposição dos mesmos que origina diferentes espécies de radicais livres, capazes de propagar uma reação em cadeia. À medida que a reação avança, a quantidade de peróxidos aumenta e tem início a sua decomposição (Ordóñez *et al*., 2005).

Os radicais alcoxila (RO•) também colaboram na formação de novos compostos, como aldeídos, cetonas e alcoóis, bem como um contínuo aporte de radicais livres que mantêm a reação em cadeia (Coultate, 1984).

A reação de formação dos aldeídos pode ser visualizada na Figura 6.

Segundo Bobbio & Bobbio (2001), a fase de propagação tem alto consumo de oxigênio, grande concentração e decomposição dos peróxidos, causando as alterações organolépticas com o aparecimento de odores característicos.

A etapa final de oxidação ocorre conforme Jorge & Ramalho (2006), formando produtos estáveis a partir de radicais livres:

$$ROO\bullet + R\bullet \rightarrow ROOR$$
$$ROO\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR + O_2$$
$$R\bullet + R\bullet \rightarrow RR$$

Para Ribeiro & Seravalli (2004), a etapa de terminação ocorre quando dois radicais livres reagem entre si formando substâncias diversas, não desempenhando mais o papel de propagadores de reação.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

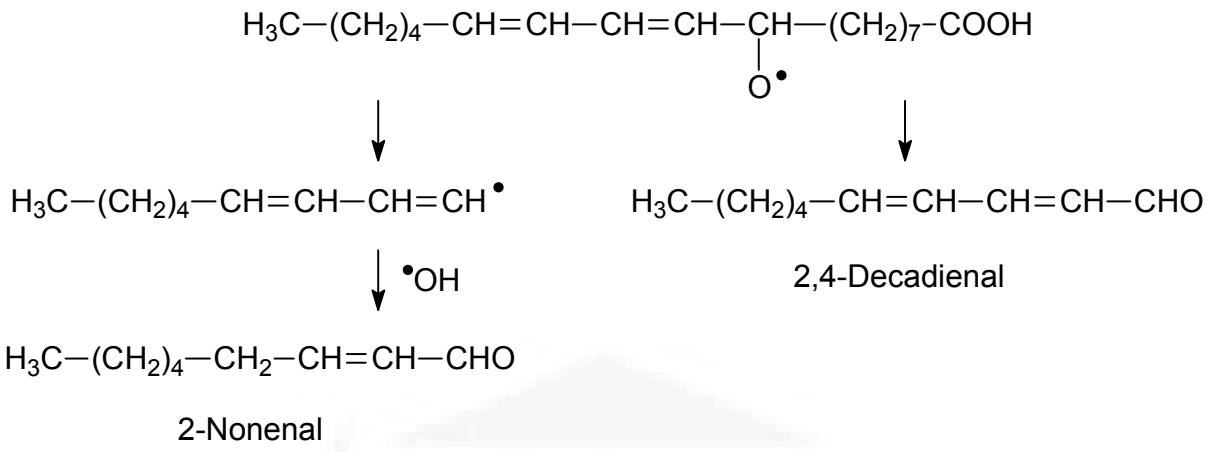


FIGURA 6 – Reação de formação de aldeídos a partir da oxidação de lipídeos.

Esta etapa caracteriza-se pela diminuição do consumo de oxigênio e pela redução da concentração de peróxidos (Ribeiro & Seravalli, 2004). Se não houver mais radicais livres para reagir com o oxigênio, o processo está concluído, sendo necessário o início de nova reação para que a oxidação continue (Ordóñez *et al*., 2005).

Além das alterações já citadas, a rancificação oxidativa pode causar alterações em outros componentes do alimento, através da ação oxidante dos peróxidos sobre as vitaminas, carotenoides, proteínas e outros componentes oxidáveis presentes, alterando o seu valor nutricional (Bobbio & Bobbio, 2001).

A oxidação lipídica pode ser inibida pela ação de antioxidantes, como os tocoferóis. O tocoferol é um dos melhores antioxidantes naturais, e é amplamente aplicado para inibir a oxidação dos óleos e gorduras comestíveis, prevenindo a oxidação dos ácidos graxos insaturados (Ramalho, 2006). Os tocoferóis são degradados pelas reações de oxidação e são rapidamente destruídos quando submetidos a condições de fritura (Kim; Lee; Min, 2007).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Coni; Podestá; Catone (2004), em estudos de oxidação de óleos utilizando análises termo-gravimétricas, relatam que o azeite de oliva submetido a processo térmico, em temperaturas nas faixas de 70 °C e 160 °C apesar de apresentar reações de oxidação, demonstra ainda uma resistência a este fenômeno, indicando que nesta fase ocorre predominantemente, perda de água e compostos voláteis; porém, acima dessa temperatura a taxa de oxidação aumenta rapidamente.

1.3 Riscos Ambientais e à Saúde

Além das questões citadas, também existem as relacionadas aos problemas vinculados à saúde que podem ser causados pelo consumo de compostos indesejáveis formados por reações químicas nos lipídeos e também à degradação do meio ambiente.

Estudos também indicam possíveis riscos de saúde em função do consumo de óleos que foram aquecidos como no caso de predisposição à aterosclerose, ação mutagênica ou carcinogênica. Além disso, o efeito cumulativo da ingestão contínua e prolongada de compostos tóxicos, como monômeros cíclicos e hidrocarbonetos poliaromáticos formados durante a exposição do lipídeo ao aquecimento e o não-descarte quando este encontra-se muito degradado, deveria ser melhor investigado em razão de suas propriedades carcinogênicas (Jorge & Lunardi, 2005; Costa Neto *et al*, 2000).

De acordo com Hocevar (2005), a produção industrial atingiu os patamares mais elevados de sua história e os efeitos podem ser percebidos nos produtos consumidos e no conforto que nos trazem, mas também podem ser sentidos negativamente quando do descarte destes no meio ambiente, poluindo ar, corpos hídricos e solos. O aumento do consumo traz consigo o aumento dos dejetos e de embalagens, resíduos que são fruto de uma mentalidade produtiva voltada para o consumismo imediato, sem preocupação com as consequências para o meio ambiente ou para o futuro do planeta.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Quanto antes for necessário o descarte de um óleo utilizado em processo de fritura, maior será a quantidade deste tipo de material que deverá ser recolhida e submetida a tratamento ou ainda, aumenta a possibilidade de que este seja lançado na rede de esgotos, por desconhecimento de que esta seja uma prática prejudicial ao meio ambiente.

Hoje no Brasil, parte do óleo vegetal residual do consumo humano é destinado à fabricação de sabões, entretanto, a maior parte é descartado na rede de esgotos. A pequena solubilidade dos óleos vegetais na água constitui um fator negativo no que se refere à sua degradação em unidades de tratamento de despejos por processos biológicos e, quando presentes em mananciais utilizados para abastecimento público, causam problemas no tratamento da água (Dabdoub, 2006).

A presença deste material, além de acarretar problemas de origem estética, é responsável pela poluição de rios e solos, uma vez que interfere na passagem de luz na água, retarda o crescimento vegetal, impermeabiliza o solo aumentando os problemas de enchentes, entre outros, devido ao alto teor de matéria orgânica destes produtos (azeite de oliva – 16.000 $mg.L^{-1}$ de lipídeos – concentração em água residuária), diminui a área de contato entre a superfície da água e o ar atmosférico impedindo a transferência do oxigênio da atmosfera para a água, e também os óleos e graxas em seu processo de decomposição, reduzem o oxigênio dissolvido elevando a DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), causando alteração no ecossistema aquático (Mendes *et al*., 2005; Dabdoub, 2006).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o comportamento físico-químico do azeite de oliva em seu estado bruto e após ser submetido a processo térmico em temperaturas de 60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C por 30 minutos.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o perfil lipídico do azeite de oliva em seu estado bruto e após o seu aquecimento, através de ensaios de fitosteróis, gorduras saturadas, polinsaturadas, monoinsaturadas e *trans*.
- Conhecer os potenciais de oxidação/redução do azeite de oliva em seu estado bruto e após o seu aquecimento em diferentes temperaturas, através de ensaios de voltametria cíclica e de pulso diferencial.
- Verificar os índices de peróxidos e de acidez e o potencial hidrogeniônico (pH) do azeite de oliva em seu estado bruto e após o seu aquecimento.
- Verificar as melhores possibilidades de utilização do lipídeo estudado em processos de aquecimento.
- Discutir a possibilidade de utilização do azeite de oliva quando submetido a processo térmico.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

3 JUSTIFICATIVA

A química de alimentos e seus processos ainda não são totalmente conhecidos cientificamente. Não se sabe se hábitos tidos como comuns durante o preparo de um alimento podem causar algum mal a quem o consome. Dependendo do alimento e do tipo de preparação, as mais variadas substâncias tóxicas podem ser formadas, em quantidades variados, assim como cada organismo reage de uma forma, tolerando maior ou menor ingestão, causando ou agravando doenças (Marques; Valente; Rosa, 2009).

Existem vários métodos de cozimento que, em muitos casos, podem produzir mudanças significativas na salubridade dos gêneros alimentícios. Um processo de cozimento inadequado ocorre quando um óleo alterado é utilizado, ou seja, um óleo utilizado para muitas frituras sucessivas. Infelizmente, apenas regras genéricas existem sobre as precauções que devem ser tomadas para manter um nível de qualidade satisfatória para os óleos utilizados para cozinhar ou fritar (Amatti *et al*., 2008).

Em pesquisa realizada por Ans; Mattos; Jorge (1999) concluiu-se que deve haver uma preocupação em se manter um baixo nível de alteração em óleos e gorduras de fritura. Esse pressuposto depende do controle das condições do processo de fritura, envolvendo as principais variáveis: tipos de lipídeos e de alimento, tempo e temperatura de fritura, utensílios utilizados, etc.

Para Corsini *et al*. (2008), entender as alterações que os óleos vegetais sofrem quando submetidos ao aquecimento, pode levar à otimização dos processos de cozimento e, consequentemente, garantir um produto de melhor qualidade nutricional.

Para Katragadda, *et al.*, (2010), a temperatura é o fator mais importante a ser considerado na avaliação da estabilidade oxidativa de gorduras, especialmente as insaturadas, pois os mecanismos de oxidação provocados pelo aumento da temperatura atuam como precursores de aromas voláteis, que decompõem-se em diferentes temperaturas.

No trabalho de Daskalaki *et al*. (2009), a oxidação térmica dos óleos a 180 °C (fritura) causou uma diminuição significativa nos derivados hidroxitirosol (60% de redução após 30 minutos e redução de 90% após 60 minutos) e, em menor grau, nos derivados tirosol. Também houve oxidação térmica dos óleos a 100 °C (ebulição) por 2 horas, o que causou uma diminuição em todas as classes de compostos fenólicos (perdas de menos de 20%). Amati *et al*. (2008) descrevem a degradação de compostos fenólicos em azeite de oliva extra-virgem em 180 °C.

Sánchez-Gimeno *et al*. (2008) compararam o comportamento do azeite de oliva extra-virgem *Bajo Aragon* e do óleo de girassol em processos de fritura, e concluíram que o uso do azeite de oliva em processos de fritura é mais interessante que o óleo de girassol, devido à sua rica composição em ácido oleico e a sua estabilidade à oxidação, apesar das mudanças físicas sofridas durante o processo. Já Sánchez-Muniz & Bastida (2006) relatam que o azeite de oliva extra-virgem é o óleo mais adequado para fritura, devido á sua resistência à oxidação térmica, contribuindo assim, para a produção de um alimento nutritivo e cardio-saudável.

Já Philippi (2003) recomenda o seu uso como tempero de saladas e molhos e como componente de emulsões, como maionese. A autora não recomenda a utilização do azeite de oliva em preparações aquecidas, pois além de possuir um baixo ponto de fumaça, quando submetido a altas temperaturas, perde o odor e o sabor.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Hoje, ele ocupa sexto no mundo da produção de óleos vegetais. Devido à sua qualidade nutricional, o azeite de oliva tem um alto valor comercial em comparação com a maioria dos outros óleos vegetais (Conde; Delrot; Gerós, 2008). Em se tratando de um produto de alto valor comercial, a sua utilização em processo de cozimento pode ser questionada, pois como todos os lipídeos, também é suscetível a reações químicas, mesmo que seja um composto rico em ácido oleico - monoinsturado, o que o torna mais estável que aqueles predominantemente polinsaturados.

Considerando a possibilidade de conhecer as modificações físico-químicas provenientes de processos de aquecimento com azeite de oliva – sabidamente uma gordura com propriedades diferenciadas, e também à falta de um consenso quanto à utilização ou não do azeite de oliva em processos de cozimento, justifica-se a realização desta pesquisa.

Para tanto, serão utilizados métodos de análise quantitativa e qualitativa (espectrofotometria UV/Vis e cromatografia gasosa para caracterização do perfil lipídico, índices de peróxidos e acidez, pH, voltametria cíclica e de pulso diferencial), com o intuito de avaliar o comportamento deste lipídeo, em seu estado bruto e após submetidos a processo térmico.

As temperaturas a serem testadas serão de 60 °C, 100 °C e 180 °C. A temperatura de 60 °C indica o início do processo de perda de compostos voláteis e água, segundo Coni; Podestá; Catone (2004). A temperatura de 100 °C simula o cozimento do alimento, junto com a água, enquanto as de 180 °C simulam o processo de fritura adequado (uma das amostras será mantida em 180 °C durante um intervalo de 30 minutos), seguindo informações constantes na literatura (Procida *et al*. 2009; Marques; Valente; Rosa, 2009; Amatti *et al*., 2008; Carrasco-Pancorbo *et* al., 2007; Allouche *et al*., 2007; Gertz; Klostermann; Kochhar, 2000).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de Pesquisa

Trata-se de uma pesquisa com abordagem qualitativa, do tipo experimental, realizada nos Laboratórios do Núcleo de Eletrofotoquímica e Materiais Poliméricos (NEMP) e da Central Analítica da UNIVATES, que busca investigar o efeito térmico sobre o azeite de oliva, para determinação do seu perfil lipídico antes e após o aquecimento em diferentes temperaturas, através dos métodos de espectrofotometria UV/Vis, cromatografia gasosa, voltametria cíclica e de pulso diferencial, além da determinação dos índices de peróxidos, acidez e pH.

4.2 Amostragem

Obteve-se as amostras utilizadas para a análise em supermercado, sendo duas amostras do lipídeo a ser estudado (azeite de oliva extra-virgem espanhol marca Monde, lote 005/2220, data de fabricação maio/2008).

4.3 Preparo das Amostras

Primeiramente, separou-se uma alíquota de azeite em estado bruto, que foi mantido à temperatura ambiente até a realização dos procedimentos analíticos.

Dentro de copos de béquer, aqueceram-se alíquotas do azeite de oliva em uma chapa aquecedora, até que fossem atingidas as temperaturas desejadas de 60 °C, 100 °C ou 180 °C. Após, cada alíquota foi retirada da chapa aquecedora e deixada em repouso até que atingisse a temperatura ambiente. Outra alíquota foi aquecida na chapa aquecedora até atingir 180 °C, e assim permaneceu durante 30 minutos. Também foi deixada em repouso até que atingisse a temperatura ambiente. Para essas medições, utilizou-se um termômetro (escala de 1 °C), com tolerância de ± 5 °C.

As amostras foram analisadas em triplicatas para todos os ensaios.

4.4 Análise Instrumental

Segundo Jeffery *et al*. (1992), os métodos que dependem de medição de propriedades elétricas, e os que estão baseados na absorção de irradiação, ou na medida da intensidade de radiação emitida, exigem o emprego de um instrumento e por isso, são denominados “métodos instrumentais”. Os métodos instrumentais são normalmente mais rápidos que os procedimentos puramente químicos. Normalmente servem para determinação de pequenas quantidades de compostos. Muitas vezes, pode-se utilizar um computador como interface do equipamento, permitindo assim, o registro automático dos resultados analíticos (curvas, polarogramas, etc.).

4.4.1 Métodos Eletroquímicos

De acordo com Jeffery *et al*., (1992), os ensaios eletroquímicos estudam as relações entre a voltagem, a corrente e o tempo, durante a eletrólise em uma célula eletroquímica. Estes ensaios tem se mostrado promissores, proporcionando a obtenção de picos bem definidos de reações de redução e oxidação, que permitem identificar e estimar a capacidade antioxidante de matérias vegetais, bem como

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

detectar compostos orgânicos (Gil; Gonçalves; Lucio, 2007; Stülp; Silva; Marmitt, 2008).

A principal vantagem dos métodos eletroquímicos é a possibilidade, na maioria das vezes, de análise direta da amostra, sem a necessidade de etapa de separação ou pré-tratamento. A análise direta é analiticamente conveniente, já que o uso de técnicas espectroscópicas e métodos ópticos, na maioria das vezes, requerem etapas de separação preliminares (Galli, 2006), aumentando o tempo de análise e encarecendo o processo. Os métodos eletroquímicos também apresentam a vantagem de terem baixo custo, facilidade e rapidez na sua aplicação, além de ser bastante adequados para a detecção de pequenas quantidades de espécies reativas (Gandra *et al*., 2004).

Com o uso de um potenciostato-galvanostato, consegue-se um adequado controle do potencial de eletrodo, pois além de impor ao eletrodo o potencial que se deseja em relação ao contra-eletrodo (auxiliar), também se pode medir a corrente de polarização. Os resultados dos ensaios podem ser extrapolados para curvas de polarização, que representam a relação entre o potencial do eletrodo e a corrente correspondente medida no potenciostato (Wolinec, 2003).

De acordo com Jeffery *et al.*, (1992), a voltametria estuda as relações entre a voltagem, a corrente e o tempo, durante a eletrólise em uma célula eletroquímica. Esta técnica envolve o estudo da influência das variações da voltagem aplicada sobre a corrente que passa pela célula. Normalmente, o procedimento envolve o uso de uma célula e três eletrodos: (1) um eletrodo de trabalho, no qual ocorre a eletrólise que se está investigando; (2) um eletrodo de referência, que é utilizado para medir o potencial do eletrodo de trabalho; e (3) um eletrodo auxiliar que, junto com o eletrodo de trabalho, permite a passagem da corrente proveniente da eletrólise.

A Figura 7 ilustra o potenciostato-galvanostato ligado a um computador e a uma gaiola de metal isolada (Gaiola de Faraday), utilizada para evitar interferências

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

externas, e a Figura 8, a célula eletroquímica e seus eletrodos – todos utilizados nos experimentos.

FIGURA 7 – Potenciostato-Galvanostato, acoplado a um computador e a uma gaiola de Faraday, utilizados nos experimentos eletroquímicos.

Em um experimento eletroquímico, pode-se medir até quatro parâmetros: potencial, corrente elétrica, carga e tempo. O potencial mede a quantidade de força eletroquímica (energia) do sistema, e a corrente mede o fluxo de elétrons que atua sobre o sistema. Quando o potencial aumenta, maior é a força disponível para que as reações aconteçam. As unidades de medida para o potencial é o volt (V), e para corrente, o Ampére (A), mas em experimentos eletroquímicos, normalmente utiliza-se o microampére (10^{-6} A) (Raymundo, 2007).

As técnicas permitirão uma análise qualitativa nas amostras.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

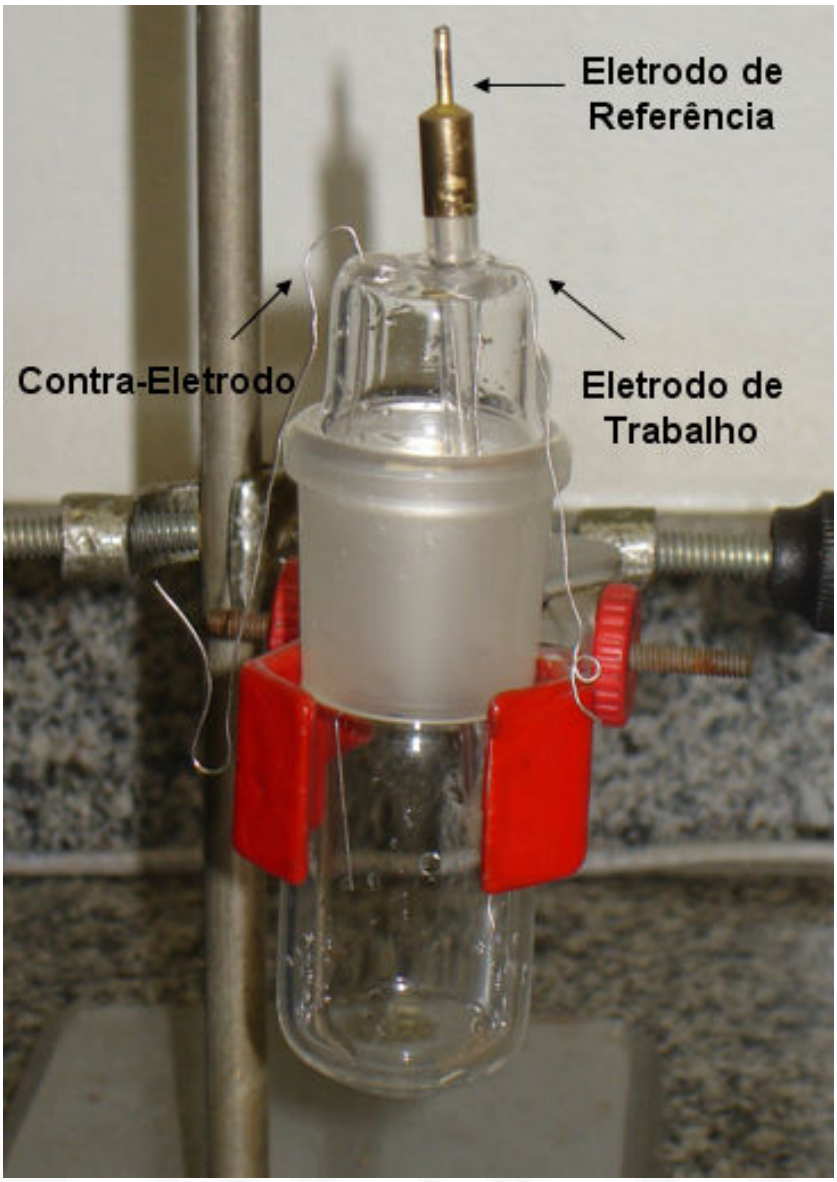


FIGURA 8 – Célula eletroquímica e eletrodos utilizados nos experimentos eletroquímicos.

4.4.1.1 Voltametria Cíclica (VC)

Uma maneira de quantificar a capacidade antioxidante de uma substância é a Voltametria Cíclica (VC), que é utilizada normalmente para estudar a transferência de elétrons entre moléculas ou íons e eletrodos (Gandra, *et al.*, 2004), ou seja, permitem a determinação de componentes eletroativos – que podem ser oxidados ou reduzidos (Falcão, 2008), a detecção de intermediários de reação ou a

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

observação e acompanhamento de reações envolvendo produtos formados em seus eletrodos (Skoog; Holler; Nieman, 2002).

Os eletrodos são conectados a um potenciostato, que é controlado por um microcomputador, que aplica uma diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, a uma taxa constante. O eletrodo auxiliar provê a corrente para o eletrodo de trabalho, de forma que praticamente não passe nenhuma corrente pelo eletrodo de referência, fazendo com que o seu potencial seja constante. Na VC, aplica-se um potencial inicial, que varia linearmente até um potencial limite, no qual o sentido da varredura se inverte para a direção do potencial inicial. A curva obtida pela variação da corrente (eixo y) em relação à variação de potencial (eixo x) forma o voltamograma (Mabbott, 1983; Kissinger & Heineman, 1983 *apud* Gandra, 2004). O software utilizado foi o GPES3 (*General Purpose for Electrochemical Systems*), da Autolab®.

A avaliação do comportamento da solução eletrolítica se dá através da análise dos picos de corrente, presentes no intervalo de varredura de potenciais frente ao eletrodo de trabalho utilizado. Cabe destacar que a VC, não é somente uma técnica qualitativa, podendo ser classificada também como uma técnica semi-quantitativa (Stülp; Silva; Marmitt, 2008).

Procedimento Analítico

Para as análises de VC, diluiram-se as amostras em uma concentração 1:10 com álcool etílico P. A., em balão volumétrico de 25 mL. Homogeneizou-se (Marmitt; Penz; Stülp, 2009).

Transferiu-se o conteúdo para a célula eletroquímica.

Utilizou-se uma janela eletroquímica entre + 2.000 mV e – 2.000 mV, com velocidade de varredura 50 $mV.s^{-1}$.

Procedeu-se as leituras no Potenciostato-Galvanostato Autolab® PGSTAT 128N, acoplado à célula eletroquímica composta por um eletrodo de trabalho e um auxiliar (ambos de fio de platina, com área de 0,0314 cm^2) e um de referência (de Ag/AgCl, saturado com KCl 3 M – Analion).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

A cada nova leitura, esterilizou-se os eletrodos de platina em bico de bunsen; limpou-se o eletrodo de Ag/AgCl e a célula eletroquímica com etanol P. A. e secou-se com papel absorvente.

4.4.1.2 Voltametria de Pulso Diferencial (VPD)

As técnicas voltamétricas de pulsos baseiam-se na medida da corrente ao longo do tempo após a aplicação de um degrau de potencial. A corrente é medida em intervalos de tempo predefinidos. A voltametria de pulso diferencial (VPD) é uma técnica bastante útil na medição de concentrações vestigiais de espécies orgânicas e inorgânicas. Entre as diferentes técnicas de voltametria de pulso, a principal diferença reside na forma dos picos e modo como se faz a análise da corrente (Falcão, 2008).

Nesta técnica, os eletrodos também são conectados a um potenciostato, que é controlado por um microcomputador, através do software GPES3 (*General Purpose for Electrochemical Systems*), da Autolab®.

Procedimento Analítico

Para as análises de VPD, diluiu-se as amostras em uma concentração 1:10 com álcool etílico P. A., em balão volumétrico de 25 mL. Homogeneizou-se (Marmitt; Penz; Stülp, 2009).

Transferiu-se o conteúdo para a célula eletroquímica.

Utilizou-se intervalo entre 0 a 1 V, velocidade de varredura 30 $mV.s^{-1}$ e amplitude de pulso 0,06 V.

Adicionou-se eletrólito-suporte 215 µL/25 mL (KCl 3 M – Analion).

Procedeu-se as leituras no Potenciostato-Galvanostato Autolab® PGSTAT 128N, acoplado à célula eletroquímica composta por um eletrodo de trabalho e um auxiliar (ambos de fio de platina, com área de 0,0314 cm^2) e um de referência (de Ag/AgCl, saturado com KCl 3 M – Analion).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

A cada nova leitura, esterilizou-se os eletrodos de platina em bico de bunsen; limpou-se o eletrodo de Ag/AgCl e a célula eletroquímica com etanol P. A. e secou-se com papel absorvente.

4.4.2 Espectrofotometria

Quando a luz monocromática ou heterogênea incide sobre um meio homogêneo, uma parcela desta luz incidente é refletida, uma outra parcela é absorvida e o restante é transmitido (Jeffery *et al*., 1992). O tratamento quantitativo da absorção de energia radiante pela matéria depende do princípio geral conhecido como Lei de Beer, onde, numa solução que é atravessada por uma radiação monocromática, a potência desta radiação será menor quanto mais ela penetrar no líquido e quanto maior for a concentração do material absorvente (Ewing, 2006).

Dessa forma, pode-se considerar que o método permite avaliar o efeito do calor sobre os lipídeos, pois no momento em que ocorrer degradação das substâncias quando submetidas à alta temperatura, tem-se modificações na energia radiante absorvida.

Para as verificações de degradação térmica dos lipídeos (varredura de grupos funcionais orgânicos presentes), foi utilizado um espectrofotômetro (*Cary* 100 Bio Varian UV *Visible Spectrophotometer*) acoplado a um microcomputador. O equipamento está ilustrado na Figura 9.

Procedimento Analítico

Transferiu-se uma alíquota de cada amostra para a cubeta de quartzo.

Programou-se o software para a faixa de varredura entre 900 e 190 nm.

Procedeu-se as leituras no espectrofotômetro (*Cary* 100 Bio Varian UV *Visible Spectrophotometer*). Realizou-se as leituras nas porções do espectro correspondentes ao ultravioleta (UV) e visível (Vis), medindo-se a energia radiante absorvida.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

FIGURA 9 – Espectrofotômetro utilizado nos ensaios espectrofotométricos.

4.4.3 Cromatografia Gasosa

Para as verificações de degradação térmica dos lipídeos (gorduras saturadas, monoinsaturadas, polinsaturadas, *trans* e fitosteróis), foi utilizado cromatógrafo Agilent Technologies 6890N, com detector FID, Coluna DB-1, com gás de arraste H_2. O equipamento está ilustrado na Figura 10.

Na determinação de fitosteróis, o método (ISO, *Method* 12228:1999) baseia-se na separação da matéria saponificável da matéria insaponificável (fitosteróis) da amostra, seguido da detecção e quantificação de fitosteróis por cromatografia gasosa (CG) com separação em coluna DB-1 e detecção em detector de ionização em chama (FID).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

FIGURA 10 – Cromatógrafo gasoso, utilizado nos ensaios de gorduras saturadas, monoinsaturadas, polinsaturadas, *trans* e fitosteróis.

4.4.3.1 Determinação de Gorduras Saturadas, Insaturadas e Trans

Procedimento Analítico

Pesou-se uma porção (que continha cerca de 100-200 mg de gordura) das amostras homogeneizadas diretamente aos frascos de Mojonnier.

Adicionou-se 100 mg de ácido pirogálico e 2 mL do padrão interno.

Acrescentou-se 2 mL de etanol e homogeneizou-se. Adicionou-se 10 mL de HCl 8,3 M e homogeneizou-se.

Colocou-se os frascos em banho-maria (70-80 °C) por 40 minutos, agitando-os a cada 10 minutos.

Adicionou-se etanol suficiente para preencher o fundo dos frascos de Mojonnier e agitou-se lentamente para homogeneizar.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Extração

Adicionou-se 25 mL de éter etílico aos frascos de Mojonnier. Fechou-se os frascos com as rolhas e agitou-se suavemente por 1 minuto.

Acrescentou-se 25 mL de éter de petróleo, fechou-se os frascos e centrifugou-se por 10 minuto em centrifuga para tubos de Mojonnier .

Verteu-se a camada superior para béqueres de 100 mL.

Evaporou-se lentamente o éter na capela com a exaustão ligada (pode-se usar banho-maria para auxiliar a evaporação), após secou-se com fluxo de gás N_2.

Metilação (Derivatização)

Transferiu-se a gordura extraída para frascos de vidro de 22 mL dissolvendo-se a gordura em 2-3 mL de clorofórmio e 2-3 mL de éter etílico.

Evaporou-se os solventes em banho-maria a 40 °C até a secura (se necessário usar fluxo de N_2).

Adicionou-se 2 mL do reagente BF_3 a 7% e 1 mL de tolueno.

Selou-se os frascos com a tampa (com septo teflon/silicone).

Aqueceu-se os frascos em estufa a 100 °C durante 45 minutos, agitar a cada 10 minutos os frascos.

Deixou-se os frascos resfriarem até temperatura ambiente.

Acrescentou-se 5 mL de água e 1 mL de n-hexano.

Tampou-se os frascos e agitar por 1 minuto. Deixou-se os frascos em repouso para a separação das fases (caso haja emulsão, centrifugar para acelerar a separação).

Com auxílio de uma pipeta de Pasteur, transferiu-se a fase superior para frascos (mesmo modelo de frasco da reação).

Adicionou-se aos frascos um pouco (em torno de 1 g) de sulfato de sódio anidro e agitou-se.

Leitura

Injetou-se no cromatógrafo a amostra e o padrão AGEM.

Calculou-se o percentual de gordura.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

4.4.3.2 Determinação de Fitosteróis

Procedimento Analítico

Primeiramente, homogeneizou-se as amostras.

Pesou-se, em balança analítica, aproximadamente 75 mg das amostra frascos vials reacional e adicionou-se 200 µL de padrão interno (solução de β-colestanol 30.000 ppm).

Em seguida, adicionou-se 1 mL da solução etanólica de KOH 2 mol/L.

Fechou-se os frascos com a tampa rosca munidas de septo de silicone/teflon e agitou-se os vials em vortex durante aproximadamente 10 s.

Colocou-se os vials em estufa a 70 °C e agitou-se a cada 5 minutos em vortex até a completa solubilização da amostra.

Resfriou-se as amostras em temperatura ambiente e adicionar 1 mL de água ultra-pura e 5 mL de n-heptano e em seguida, agitou-se em vortex durante aproximadamente 30 s.

Aguardou-se a separação das fases, e transferiu-se a camada superior (n-heptano) com auxílio de uma pipeta de Pasteur para tubos de ensaio com tampa rosca.

Repetiu-se mais duas vezes a extração do item anterior com 3 mL de n-heptano em cada extração.

Adicionou-se cerca de 0,5 g de sulfato de sódio anidro ao tubo e agitou-se em vortex.

Injetou-se 1 µL da amostra seca com Na_2SO_4 anidro e injetou-se 1 µL do padrão MIX.

Identificou-se o pico do PI (tempo de retenção ≈ 11 minutos) e os picos dos esteróis (tempo de retenção ≈ 9 a 13 minutos), anotou-se a área dos picos correspondentes e calculou-se.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

4.4.3.3 Determinação do pH

A definição operacional de pH endossada pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST), por organizações similares de outros países e pela IUPAC está baseada na calibração direta do medidor com tampões-padrão cuidadosamente prescritos seguido de determinação potenciométrica de pH de soluções desconhecidas (Skoog; Holler; Nieman, 2002). O pH caracteriza-se como medida de acidez (cálculo da concentração do íon-hidrogênio). Determina-se o pH de uma solução aquosa como o logaritmo negativo da atividade de íons-hidrogênio expressos em íons-grama por litro: pH = - log (H+) (Ewing,2006).

Pode-se considerar que o método permite avaliar o efeito do calor sobre os lipídeos, pois no momento em que ocorrer degradação das substâncias quando submetidas à alta temperatura, pode-se modificações na concentração de íons-hidrogênio.

Para estas determinações, foi utilizada a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005) e um pHmetro (Digimed DM-20).

Procedimento Analítico

Calibração do Equipamento

Deixou-se o aparelho ligado no mínimo por 15 minutos, na posição *stand by*, para estabilização dos componentes eletrônicos.

Lavou-se bem o eletrodo com água destilada/deionizada e enxugou-se o mesmo com papel absorvente.

Com auxílio das teclas “entra” e “seleção, selecionou-se a função pH, leitura, calibração. Aguardou-se a solicitação da solução pH 6,86 ou 7,00 (conforme opção). Mergulhou-se o eletrodo e o compensador de temperatura na solução 6,86 ou 7,00 (conforme solução disponível). Aguardou-se estabilização.

Retirou-se o eletrodo da solução, lavou-se e enxugou-de. Acionou-se a tecla “entra”, repetiu-se a operação com a solução de pH 4,00.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Lavou-se bem o eletrodo com água destilada/deionizada e enxugou-se o mesmo com papel absorvente.

Ao término da calibração, manteve-se o equipamento em *stand by* e o eletrodo imerso em KCl 3 M.

Verificou-se se a sensibilidade do eletrodo informada pelo equipamento correspondia a valor maior ou igual a 92%.

Leitura

Lavou-se bem o eletrodo com água destilada/deionizada e enxugou-se o mesmo com papel absorvente.

Introduziu-se o eletrodo e o compensador de temperatura na amostra e acionou-se a tecla “entra”.

Teve-se o cuidado de não encostar o eletrodo medidor no fundo do frasco com a amostra. Qualquer dano na membrana pode afetar o desempenho da medição.

Registrou-se o valor que aparecer no visor, após bip/seta, este é o pH da amostra.

Ao término da operação, lavou-se e enxugou-se o eletrodo. Manteve-se o equipamento em *stand by*, com o eletrodo imerso em KCl 3 M.

4.5 Análise Química

A deterioração da gordura constitui um dos mais importantes problemas técnicos na produção de alimentos. A deterioração pode ocorrer de duas formas: (1) rancidez hidrolítica – hidrólise da ligação éster por lipase e umidade; (2) rancidez oxidativa – auto-oxidação dos acilgliceróis com ácidos graxos insaturados por oxigênio atmosférico da amostra. A decomposição hidrolítica é acelerada por luz e calor, com formação de ácidos graxos livres que causam um sabor-odor desagradável. A rancidez oxidativa é mais importante, porque todas as gorduras apresentam triacilgliceróis insaturados. A deterioração oxidativa tem como consequência a destruição das vitaminas lipossolúveis e dos ácidos graxos essenciais (Cecchi, 2003).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

4.5.1 Determinação do Índice de Acidez

O índice de acidez é uma importante avaliação do estado de conservação do óleo. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons hidrogênio. A decomposição dos glicerídeos é acelerada por aquecimento e pela luz, sendo a rancidez quase sempre acompanhada pela formação de ácidos graxos livres (Mendonça *et al*., 2008). Para Cella; Regitano D'Arce; Spoto (2002), o aumento da acidez indica o desenvolvimento de reações hidrolíticas, com a produção de ácidos graxos livres, e consequentemente, de diglicerídeos, que ocorreu devido à presença de água e da alta temperatura, pois, quanto maior o percentual de água no alimento, mais rapidamente ela ocorre. O índice de acidez é definido como o número de miligramas de KOH requerido para neutralizar os ácidos graxos livres em 1 g de amostra. Os ensaios serão efetuados de acordo com a o procedimento da Instrução Normativa nº 20, 1999 - MAPA, p. 24. Fundamenta-se na neutralização com solução alcalina padrão dos ácidos graxos livres, extraídos por um solvente.

Procedimento Analítico

Pesou-se aproximadamente 5g de amostra em erlenmeyer de 250 mL.

Adicionou-se 40 mL da mistura éter-álcool 2:1, previamente neutralizada, ao erlenmeyer contendo a amostra. Homogeneizou-se.

Adicionou-se 4 a 5 gotas de fenolftaleína 1%.

Titulou-se com hidróxido de sódio 0,1 M até atingir coloração rósea persistente por 30 segundos.

Calcular:

$$\% \text{ Acidez como ácido oleico} = V \times M \times 0{,}28245 \times 100 / P$$

Onde:

V = volume de NaOH 0,1 M gasto na titulação

M = molaridade da solução de NaOH

P = peso da amostra em gramas da alíquota

0,28245 = fator de conversão do ácido oleico

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

4.5.2 Determinação do Índice de Peróxidos

É um dos métodos mais utilizados para medir o estado de oxidação dos óleos e gorduras. Como os peróxidos são os primeiros compostos formados quando da deterioração de uma gordura, toda a gordura oxidada apresenta resultado positivo para o ensaio de peróxidos (Cecchi, 2003). De acordo com Galeano *et al*. (2003), este constitui-se de um dos parâmetros mais importantes para a determinação da qualidade do óleo de oliva. Os ensaios serão efetuados de acordo com a o procedimento da Instrução Normativa nº 20, 1999 - MAPA, p. 29, cujo método baseia-se na ação fortemente oxidante dos peróxidos orgânicos formados no início da rancificação, que atuam sobre o iodeto de potássio liberando iodo, que será titulado com tiossulfato de sódio em presença de amido como indicador.

Procedimento Analítico

Pesou-se aproximadamente 5g de amostra em erlenmeyer de 250 mL.

Adicionou-se 30 mL de solução ácido acético-clorofórmio (3:2) e agitou-se até completa dissolução.

Adicionou-se 0,5 mL solução de iodeto de potássio e deixou-se em repouso no escuro por 1 minuto.

Adicionou-se 30 mL de água e titulou-se com solução de tiossulfato de sódio 0,01 M até quase o desaparecimento da coloração amarela.

Adicionou-se 0,5 mL de solução de amido a 1% e seguiu-se titulando até que a coloração azul tenha completamente desaparecido.

Preparou-se uma prova em branco nas mesmas condições.

Cálculo:

$$\text{Índice de Peróxidos em mEq/kg} = (Va - Vb) \times M \times 1.000$$

Onde:

Va = mL de tiossulfato de sódio 0,01M gastos na titulação

Vb = mL de tiossulfato de sódio 0,01M gastos para titular branco

M = molaridade do tiossulfato de sódio 0,01M

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

4.6 Análise Estatística

Para todos os resultados, realizou-se análises estatísticas de variância (ANOVA). Estas análises foram utilizadas para testar a influência da temperatura nos parâmetros analíticos considerados. Avaliou-se Desvio-Padrão (DP), Probabilidade (P) e Valor da Análise de Variância (F).

Foram também realizados testes de correlação (Pearson), para avaliação de associações entre resultados analíticos de valores de carga (VC) com índices de acidez, peróxidos e pH, onde Pearson (r) e Probabilidade (P). Optou-se por correlacionar estes parâmetros, pois através destes ensaios químicos, é possível avaliar as modificações químicas oriundas do processo térmico.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Procedeu-se a comparação entre o comportamento do azeite de oliva em estado bruto e após a submissão deste a processo térmico, em diferentes temperaturas, através de ensaios de voltametria cíclica e de pulso diferencial, espectrofotométricos, de cromatografia gasosa (perfil lipídico e fitosteróis) e químicos (pH, índices de acidez em ácido oleico e peróxidos).

Utilizando-se as técnicas de voltametria cíclica e de pulso diferencial, foi possível avaliar as modificações ocorridas por este lipídeo por meio das reações de oxi-redução ocorridas no sistema.

Na Figura 11, tem-se o voltamograma cíclico do azeite de oliva antes e após a degradação térmica. Pode-se observar a ocorrência de uma onda de oxidação em torno de 0,500 V, o que se assemelha ao dado obtido por Falcão em relação ao α-tocoferol (0,600 V), sendo que neste estudo foram utilizados eletrodos de trabalho de carbono vítreo. Na avaliação do voltamograma (Figura 11), verifica-se o decréscimo do pico de oxidação após o aquecimento das amostras em todas as temperaturas testadas.

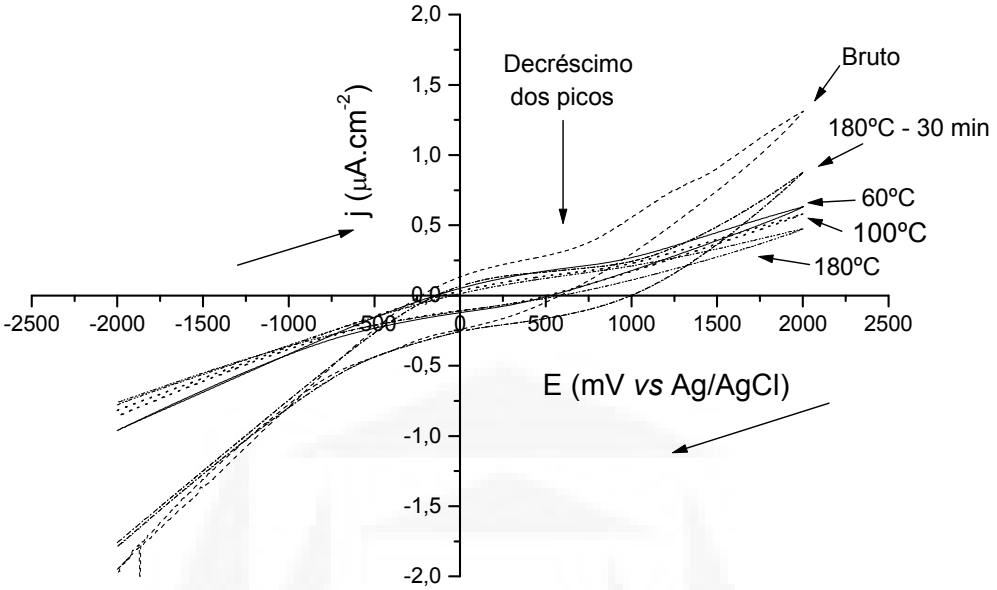


FIGURA 11 – Voltamograma Cíclico do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). v = 50 $mV.s^{-1}$.

Verifica-se que o aquecimento do óleo promove alteração da Reação de Desprendimento de Oxigênio (RDO), demonstrando a ocorrência de alterações no azeite de oliva quando submetido a tratamento térmico. Com o aquecimento do óleo, uma série extremamente complexa de reações produz alguns compostos de degradação (Corsini & Jorge, 2006).

Na Tabela 1, é possível visualizar-se as médias das triplicatas dos valores das cargas para cada amostra, obtidos nos ensaios de VC. Estes valores foram calculados em função da área do voltamograma.

Quanto à avaliação estatística, a mesma mostrou-se não significativa (F = 0,1829 e P = 0,9420), embora haja uma tendência à diminuição dos valores de carga dos voltamogramas antes e após a ação térmica.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

O maior valor de carga verificado quando se mantém a amostra a 180°C durante 30 minutos deve-se ao aumento da Reação de Desprendimento de Oxigênio, que se deve ao fato de que, por ter sido submetido durante mais tempo a esta temperatura, as reações de oxidação do sistema se mostram mais vigorosas.

TABELA 1 – Valores de Carga (em Coulombs – C) do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).

AMOSTRA	Valor de Carga (C)
Bruta	$6{,}47 \times 10^{-5} (\pm\ 5{,}67 \times 10^{-5})$
Após tratamento térmico (60 °C)	$6{,}10 \times 10^{-5} (\pm\ 8{,}32 \times 10^{-6})$
Após tratamento térmico (100 °C)	$5{,}86 \times 10^{-5} (\pm\ 6{,}91 \times 10^{-6})$
Após tratamento térmico (180 °C)	$4{,}97 \times 10^{-5} (\pm\ 2{,}28 \times 10^{-6})$
Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min.	$6{,}57 \times 10^{-5} (\pm\ 2{,}34 \times 10^{-6})$

Ainda, observou-se, na amostra de azeite de oliva bruto com eletrólito-suporte 215 µL/25 mL (KCl 3 M – Analion), a presença de três picos, conforme Figura 12. O valor de carga do pico 1 é $5{,}68 \times 10^{-7}$ C e do pico 3, $1{,}45 \times 10^{-5}$ C.

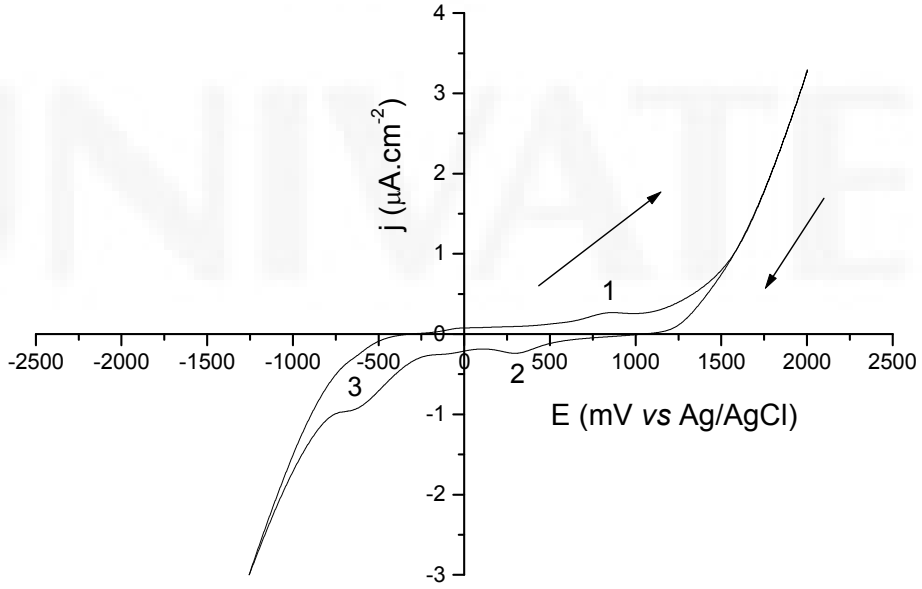


FIGURA 12 – Voltamograma Cíclico do azeite de oliva antes do tratamento térmico. v = 50 mV.s^{-1}.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Uma aparente reversibilidade do sistema pode ser vista nos picos 1 e 2 da Figura 12, e confirma dados da literatura que mencionam que, a baixas temperaturas, as reações de oxidação em óleos tendem a ser reversíveis (Malheiro *et al.*, 2009). Como a região de 0,500 V é característica para α-tocoferol, é possível que esta degradação refira-se a este composto. Já a região do pico 3, em torno de -0,600 V, onde pode-se verificar uma onda irreversível, é característica de pigmentos, evidenciando a possibilidade de degradação da clorofila.

Em experimentos com substratos de *Arnica Montana* e rutina, que também contêm em sua composição substâncias antioxidantes, foi possível demonstrar a possibilidade de detecção da degradação de estruturas químicas através do emprego da voltametria cíclica e/ou da cronoamperometria, técnicas que podem fornecem uma possibilidade para a determinação semiquantitativa da alteração ou modificação estrutural de moléculas (Bianchetti *et al*., 2009; Cerutti, 2009).

Em estudo que comparou comportamento do azeite de oliva extra-virgem bruto e aquecido através de VC, verificou-se que igualmente houve alterações nos valores de carga dos voltamogramas nas amostras submetidas ao tratamento térmico (Marmitt; Penz; Stülp, 2009).

Outro estudo também evidenciou que o azeite de oliva modificou-se após ser submetido ao tratamento térmico, ocasionando a ocorrência de processos oxidativos e possível perda de compostos antioxidantes e, através da avaliação eletroquímica por VC foi possível detectar desta degradação (Stülp; Penz; Bianchetti, 2009).

Além da VC, também foram realizados ensaios de Voltametria de Pulso Diferencial (VPD), para complementar e confirmar os resultados encontrados. Na Figura 13, tem-se o resultado dos ensaios de voltametria de pulso diferencial do azeite de oliva antes e após a degradação térmica. Pode ser observado um pico na região de 0,500 V na amostra de azeite de oliva bruta, mas o mesmo desaparece após o processo de aquecimento. Quanto maior a temperatura aplicada e o tempo de exposição à mesma, o pico diminui, indicando uma possibilidade de oxidação de

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

compostos. Um composto cujo comportamento eletroquímico, característico de reações de oxidação, fica em torno de 0,500 V, é o antioxidante α-tocoferol (Malheiro *et al*., 2009), conforme já verificado nos ensaios de VC.

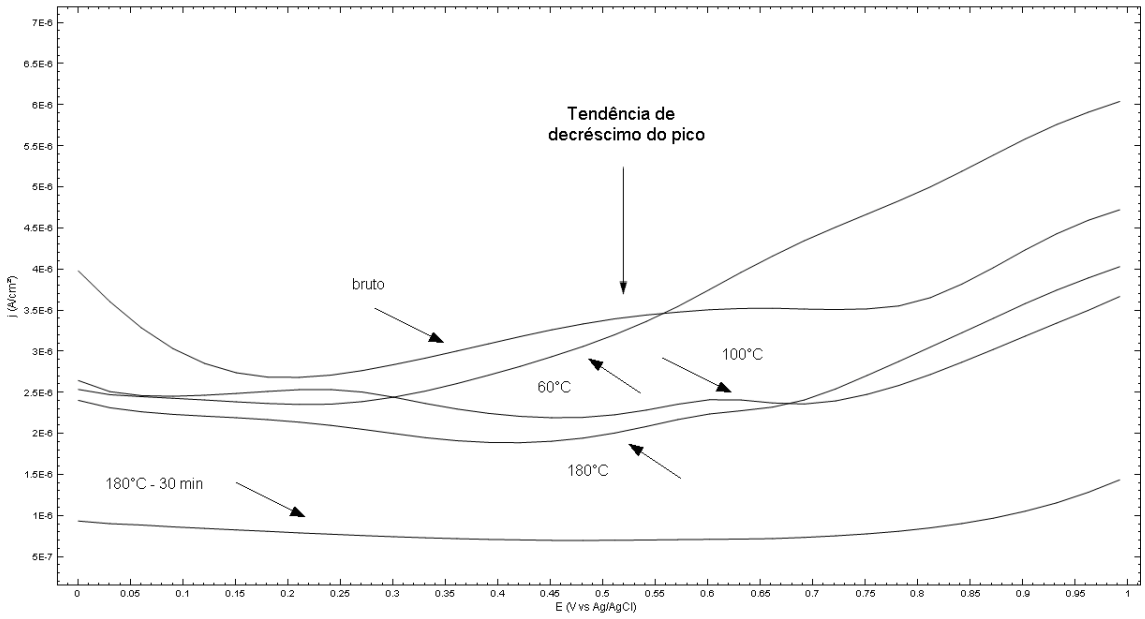


FIGURA 13 – Voltamograma de Pulso Diferencial do azeite de oliva com adição de eletrólito-suporte KCl 3M, antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). v = 30 mV.s^{-1}, amplitude de pulso = 0,06 V.

Este dado está de acordo com o estudo de Malheiro *et al*., 2009, que após aquecimento das amostras de azeite de oliva em forno micro-ondas, observaram pico na mesma região (0,5600 V) nas amostras brutas, porém, após o aquecimento, estes picos desapareceram, em ensaios de VPD. Os autores relatam que este comportamento corresponde a uma oxidação irreversível deste composto na superfície do eletrodo. No ensaio com adição de padrão de α-tocoferol através de VPD, este desaparece completamente no voltamograma após 1 minuto de aquecimento. Esse desempenho permite a utilização desta técnica eletroquímica para acessar o conteúdo desta vitamina na matriz alimentar.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Ainda, de acordo com Malheiro *et al*. (2009), concluiu-se que o aquecimento em forno de micro-ondas produz perdas significativas na qualidade do azeite e em seu valor nutritivo. A extensão das perdas é maior quando o tempo de exposição aumenta. No que diz respeito ao conteúdo de pigmentos (clorofilas e carotenoides), os autores concluíram que estes são termolábeis, uma vez que a sua quantidade diminui à medida que o tempo de exposição aumenta.

Alguns dos mais importantes parâmetros de qualidade do azeite são os valores de peróxido (A232 e A270). Estes nos informam sobre o estado de oxidação do azeite (Galeano *et al*., 2003). A232 está relacionada com a formação de peróxidos, hidroperóxidos e dienos conjugados. A270 depende de produtos de oxidação secundária formados por compostos de iniciação de oxidação detectados em 232 nm (Allouche *et al*., 2007).

Na Figura 14, tem-se a avaliação por espectrofotometria UV/Vis, na faixa entre 190 e 900 nm para as amostras de azeite de oliva estudadas.

Na Figura 15, tem-se a avaliação por espectrofotometria UV/Vis, na faixa entre 200 e 300 nm para as amostras de azeite de oliva estudadas.

Os compostos primários da oxidação apresentam valores máximos de absortividade na faixa entre 220 nm e 234 nm (Shahidi, 1995). Na região próxima a 232 nm (Figura 14), observa-se um incremento do pico quando a amostra foi submetida a 60 °C, indicando a formação de compostos primários. Já nas outras temperaturas, verifica-se o decréscimo à medida que a temperatura aumenta, e na temperatura de 180 °C com permanência de 30 minutos de exposição, o decréscimo deste pico é mais acentuado, devido à instabilidade dos compostos formados.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

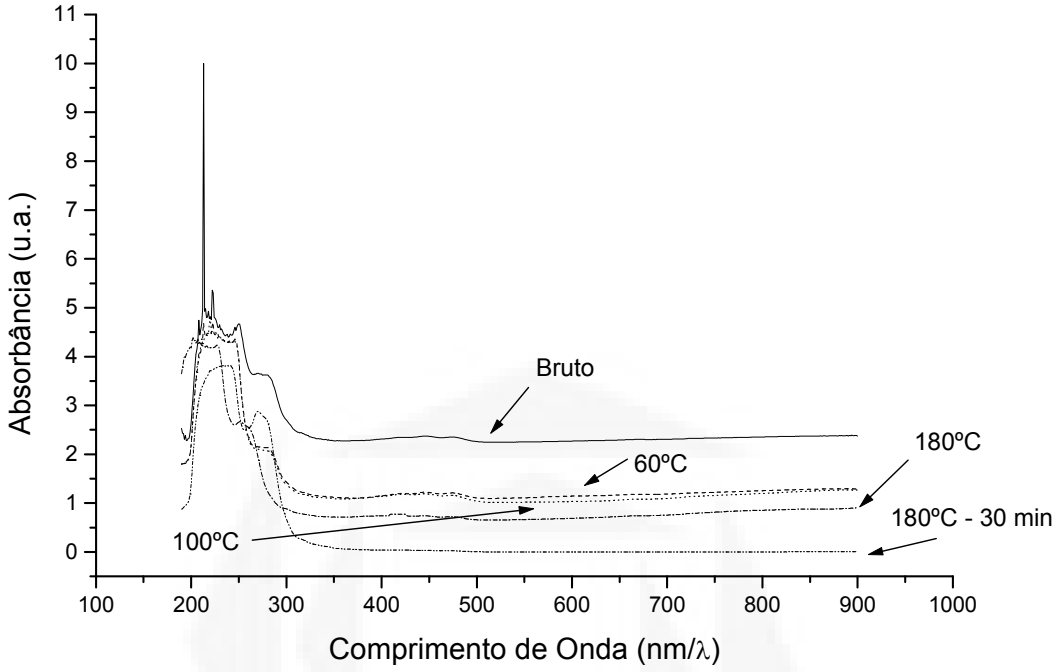


FIGURA 14 – Zoom do espectro UV/Vis do azeite de oliva, antes e após tratamento térmico (190 – 900 nm).

A partir de 265 nm são os compostos secundários da oxidação (trienos, aldeídos, cetonas) que apresentam maior absorção (Shahidi, 1995). Na região próxima a 270 nm, há uma diminuição dos compostos secundários até a temperatura de 100 °C. Quando submetido a 180 °C e a 180 °C durante 30 minutos verifica-se um aumento do pico, que indica a formação de dienos ou trienos conjugados, aldeídos e cetonas insaturados, e está de acordo com os resultados encontrados por Allouche *et al*., 2007).

Cheikhousman; Zude; Bouveresse (2005) analisaram dois tipos de azeite de oliva extra-virgem, e observaram quantidades de hidroperóxidos pré-formadas (ROOH), que diminuíram exponencialmente durante o processo de aquecimento, como resultado da sua degradação em produtos secundários da peroxidação.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

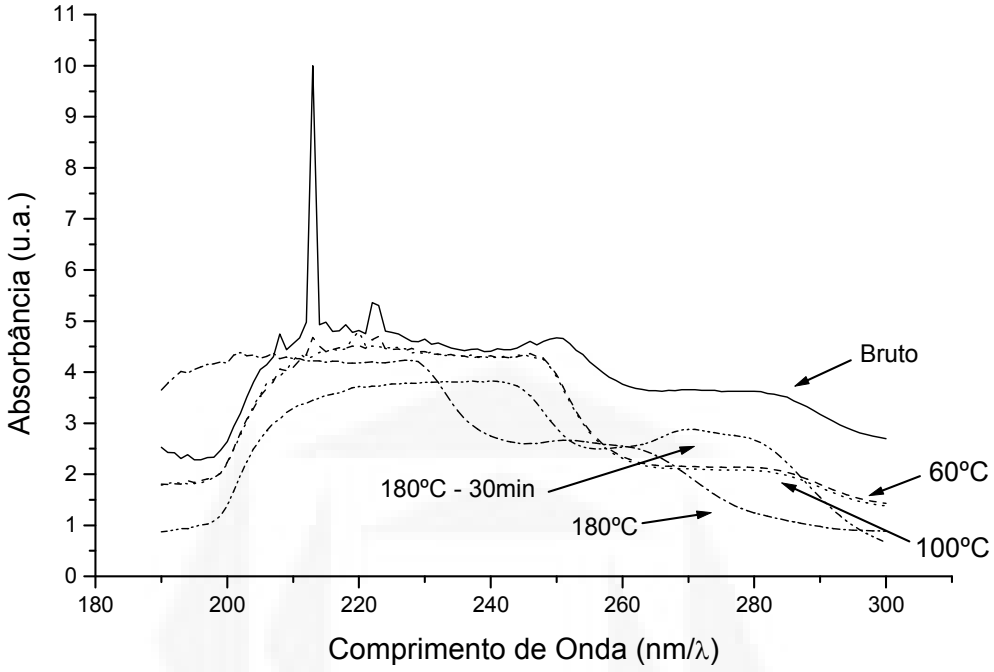


FIGURA 15 – Zoom do espectro UV/Vis do azeite de oliva, antes e após tratamento térmico (200 – 300 nm).

Na segunda etapa de oxidação, a de propagação, o oxigênio adiciona-se ao radical livre e forma um radical peroxila (ROO•) (Ribeiro & Seravalli, 2004). Para Oetterer; Regitano D'Arce; Spoto (2006), cada radical peroxila reage com os lipídeos insaturados, retirando-lhes uma molécula de hidrogênio e convertendo-o a hidroperóxido (ROOH):

$R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet$

$ROO\bullet + RH \rightarrow R\bullet + ROOH$

$RO\bullet + RH \rightarrow R\bullet + ROH$

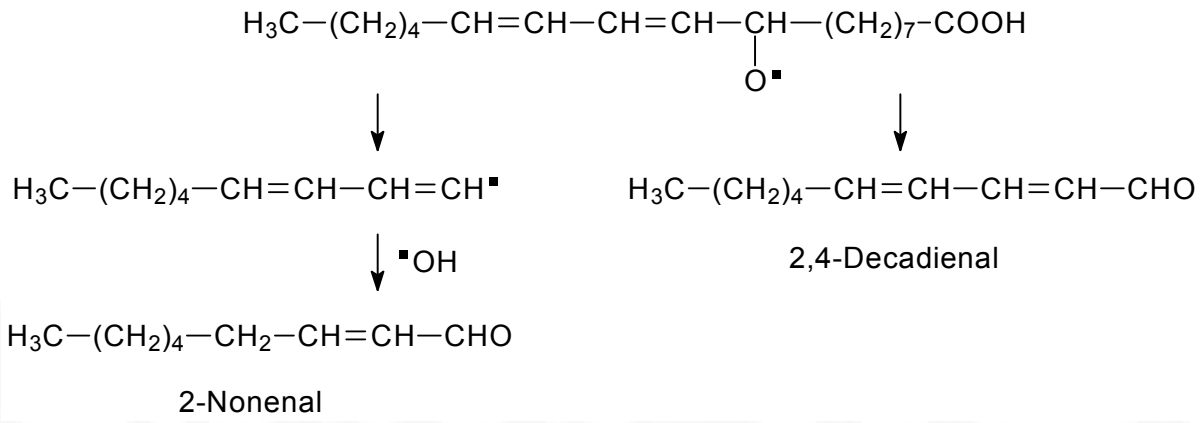
Os peróxidos, quando se convertem em hidroperóxidos, normalmente são insípidos e inodoros, além de não serem tóxicos ao organismo humano, e sim os seus derivados. Devido à sua instabilidade, os peróxidos são rapidamente formados e quebrados em compostos menores, porém os dienos conjugados que se formam

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

concomitantemente, permanecem. Por reações de degradação, formam compostos secundários caracterizados principalmente por aldeídos e cetonas, que têm forte impacto sobre o aroma. O índice de peróxido não pode ser utilizado por não refletir o aumento da degradação do óleo com o tempo de fritura (Oetterer; Regitano D'Arce; Spoto, 2006; Andrade, 2006; Marques; Valente; Rosa, 2009; Cella; Regitano D'Arce; Spoto, 2002).

Os aldeídos resultantes das reações de oxidação são os maiores responsáveis pelo odor característico dos lipídeos rançosos, mas normalmente não se percebe um pronunciado odor até que a reação esteja bastante estabelecida (Coultate, 1984).

A reação de formação de um aldeído a partir da oxidação de um lipídeo é mostrada abaixo:



Na figura 15, também é possível visualizar a faixa de espectro UV/Vis de 280 nm. Segundo Tasioula-Margari & Okogeri (2001), o α-tocoferol e os fenóis podem ser detectados em 280 nm em espectrofotômetro UV/Vis. No presente estudo, há uma diminuição do pico nesta faixa à medida que o azeite é aquecido até 100°C, indicando possível perda destes componentes antioxidantes no processo. Mas quando a amostra é submetida a 180 °C e 180 °C durante 30 minutos, observa-se o incremento do pico, indicando uma possível perda de água e compostos voláteis, conforme observação já feita também por Coni; Podestà; Catone (2004). Para Brenes *et al*. (2002) e Bendini *et al*. (2009), tratamentos térmicos causam depleção

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

em compostos antioxidantes, como compostos fenólicos e α-tocoferol. Comparando-se métodos de cocção de azeite de oliva extra-virgem (forno micro-ondas e frigideira), Ruiz-Lopez *et al*. (1995) detectaram que há perda de α-tocoferol, sendo esta maior quando o processo de aquecimento foi realizado em frigideira.

Este resultado também está de acordo com o estudo de Cheikhousman; Zude; Bouveresse (2005), que observaram que a vitamina E teve uma diminuição exponencial em sua quantidade após a exposição ao calor.

Em outro trabalho, verificou-se que, após o tratamento térmico nas amostras de azeite oliva, há a diminuição nos picos entre 200 e 300 nm, demonstrando que houve alterações no sistema em estudo, podendo ser devido à degradação térmica (Marmitt; Penz; Stülp, 2009).

A partir da faixa entre 400 e 500 nm, conforme Figura 16, é possível verificar-se que, após o tratamento térmico, há a diminuição de picos, demonstrando a ocorrência de alterações no sistema em estudo, podendo ser devido à degradação térmica.

A 470 nm do espectro UV/Vis, observa-se a detecção dos carotenos, e a 670 nm, a de clorofila (Malheiro *et al*. 2009). Clorofilas são pigmentos responsáveis pela coloração esverdeada de certos azeites, e os carotenos, a coloração amarela, e ambos são igualmente importantes para a estabilidade do azeite (Ayadi; Grati-Kamoun; Attia, 2009).

Neste estudo, há diminuição progressiva destes à medida que o azeite foi aquecido. Ayadi; Grati-Kamoun; Attia (2003) também observaram a diminuição da quantidade destes pigmentos após exposição do azeite a diferentes temperaturas. Observou-se também, por inspeção visual, que a amostra submetida a 180 °C durante 30 minutos teve perda da cor característica do azeite, provavelmente devido à maior degradação destes compostos nesta situação. O estudo de Malheiro *et al*. (2009) também mostrou esta constatação.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

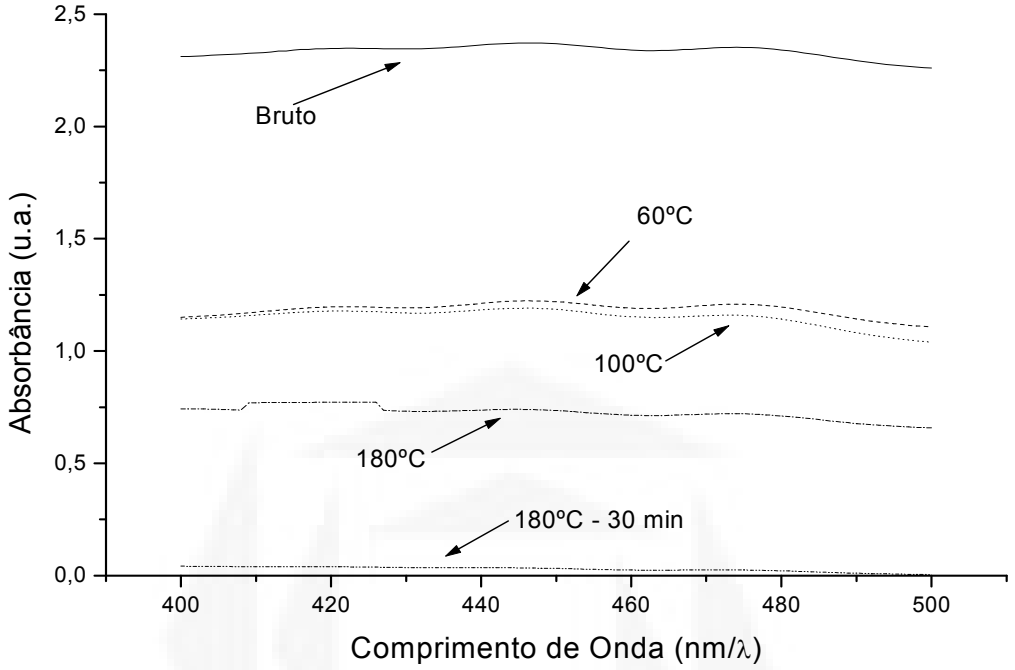


FIGURA 16 – *Zoom* do espectro UV/Vis do azeite de oliva, antes e após tratamento térmico (faixa e varredura 400 – 500 nm).

Nissiotis & Tasioula-Margari (2002), em experimentos com azeite de oliva aquecido, relatam que com a oxidação térmica, os derivados do hidroxitirosol são os primeiros antioxidantes que são perdidos (na presença de quantidade de peróxido entre 20-30 meq/kg).

No estudo de Procida *et al*. (2009), que avaliou a influência da composição química do azeite de oliva sobre o desenvolvimento de compostos voláteis durante a fritura, observaram que não houve nenhum efeito positivo para os pigmentos (clorofilas e carotenoides), confirmando que, quando a alta temperatura foi aplicada, o efeito antioxidante destas moléculas termolábeis foi suprimido.

Em virtude da complexidade da amostra (azeite de oliva), e mesmo diluída em álcool etílico P. A. (que apresenta uma pequena quantidade de água em sua composição – 0,7 %), não foi possível fazer uma homogeneização completa desta.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

De acordo com Araújo (2007), esta pode ser a causa da variação na linha base dos espectros, e se deve à diferença de intensidade no espalhamento de luz causado pela variação do tamanho de gotas de água na emulsão. Quando se coletam espectros de óleos com diferentes teores de água, observa-se uma pequena mudança de linha base do espectro. Este crescimento das absorbâncias se mostra praticamente linear com a quantidade de água; isso ocorre devido ao aumento da absortividade molar do meio, quando do aumento na quantidade de água na amostra.

Na Tabela 2, é possível verificar o perfil lipídico das amostras, antes e após a submissão às diferentes temperaturas e o desvio-padrão entre as triplicatas.

TABELA 2 – Perfil lipídico do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). MUFA's = Ácidos Graxos Monoinsaturados; PUFA's = Ácidos Graxos Polinsaturados; *Trans* = Ácidos Graxos *Trans*.

AMOSTRA	MUFA's	PUFA's	*Trans*	Saturadas
Bruta	71,15% (± 1,9545)	5,83% (± 0,0200)	0%	14,31% (± 0,2830)
Após tratamento térmico (60 °C)	72,29% (± 0,1050)	5,84% (± 0,0088)	0%	14,23% (± 0,1126)
Após tratamento térmico (100 °C)	72,70% (± 0,2694)	5,78% (± 0,0123)	0%	13,89% (± 0,2534)
Após tratamento térmico (180 °C)	74,10% (± 1,8537)	5,73% (± 0,3953)	0%	12,54% (± 1,6398)
Após tratamento térmico (180 °C) 30 min.	72,27% (± 0,1146)	5,51% (± 0,0070)	0%	14,58% (± 0,1117)

O perfil lipídico das amostras está de acordo com dados encontrados na literatura. A velocidade de oxidação depende do grau de insaturação do ácido graxo, ou seja, quanto maior o número de duplas ligações, maior a suscetibilidade à reação. Allouche *et al*. (2007) detectaram que o ácido oleico (MUFA) não diminuiu com o aquecimento. Este dado também está de acordo com a literatura encontrada (Sánchez-Gimeno *et al*., 2008; Sánchez-Muniz & Bastida, 2006; Kaskoos *et al*., 2009). Quanto à composição química, a literatura mostra valores de ácido oleico (MUFA) atingindo 70% (podendo variar entre 68 – 81,5%) e as gorduras saturadas

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

em torno de 15% dos lipídeos totais (Conde; Delrot; Gerós, 2008; Quiles; Ramírez-Tortosa; Yaqoob, 2006; Pinelli *et al*., 2003; Caponio; Pasqualone; Gomes, 2002).

A Tabela 3 mostra o percentual de fitosteróis nas amostras antes e após o seu aquecimento e o desvio-padrão entre as triplicatas.

A quantidade de fitosteróis permaneceu dentro dos níveis esperados para azeite de oliva. Estes resultados são muito interessantes, visto que estes compostos apresentam benefícios à saúde. Estes resultados estão de acordo com o estudo de Allouche *et al*., (2007), que submeteram amostras de azeite de oliva extra-virgem à temperatura de 180 °C por tempos diversos e concluíram que, apesar das condições de aquecimento, o azeite mantém a maioria de seus compostos menores e, portanto, grande parte de suas propriedades nutricionais.

TABELA 3 – % de Fitosteróis do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).

AMOSTRA	Fitosteróis
Bruta	0,28% (+ 0,0440)
Após tratamento térmico (60 °C)	0,55% (+ 0,0127)
Após tratamento térmico (100 °C)	0,57% (+ 0,0264)
(Após tratamento térmico 180 °C)	0,56% (+ 0,0410)
Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min.	0,40% (+ 0,0110)

A maioria dos óleos vegetais crus contém entre 0,1 e 0,5 g de fitosteróis por 100 g de óleo (Costa, 2007). Durante o experimento de aquecimento, estes compostos mostraram uma alta estabilidade, conforme dados de Allouche *et al*. (2007).

Segundo Costa (2007), a maioria dos esteróis vegetais é sólida, apresentando ponto de fusão entre 140 e 170 °C, o que poderia explicar este aumento na quantidade após processo térmico, pois à medida que a temperatura

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

aumenta, colabora com a solubilidade dos mesmos (60 °C, 100 °C e 180 °C). Pestana; Mendonça; Zambiazi (2008) relatam que os esteróis vegetais promovem aumento da estabilidade térmica de óleos. Já em 180 °C durante 30 minutos, estes apresentaram-se em menor quantidade, provavelmente em função do maior tempo de exposição ao tratamento térmico acima do ponto de fusão.

Na Tabela 4, pode-se observar os resultados dos ensaios de índice de peróxidos (em mEq/kg) e o desvio-padrão entre as triplicatas.

De acordo com as legislações que estabelecem os padrões de qualidade para azeite de oliva extra-virgem, a amostra bruta encontra-se dentro do parâmetro máximo estabelecido para o índice de peróxidos (máximo 20 meq/kg) (Brasil, 2005; *Codex Alimentarius*, 2003), e mesmo as amostras aquecidas até 180 °C pouco se alteraram.

TABELA 4 – Índice de Peróxidos (mEq/kg) do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).

AMOSTRA	Índice de Peróxidos (mEq/kg)
Bruta	15,560 (± 0,5133)
Após tratamento térmico (60 °C)	15,370 (± 0,2641)
Após tratamento térmico (100 °C)	15,720 (± 0,9721)
Após tratamento térmico (180 °C)	15,910 (± 0,5239)
Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min.	6,470 (± 0,2100)

Na Tabela 5, pode-se observar os resultados dos ensaios de índice de acidez (em% de ácido oleico) e o desvio-padrão entre as triplicatas.

A quantidade de ácidos graxos livres nas amostras está de acordo a legislação, que estabelece valor máximo de 0,8 g/100 g em ácido oleico (Brasil, 2005; *Codex Alimentarius*, 2003). Os dados também estão de acordo com os trabalhos de Ruiz-Lopez *et al*. (1995) e Malheiro *et al*. (2009).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

TABELA 5 – Índice de Acidez do azeite de oliva (como ácido oleico, em %) antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).

AMOSTRA	Índice de Acidez (como ácido oléico)
Bruta	0,44 % (± 0,034)
Após tratamento térmico (60 °C)	0,50 % (± 0,005)
Após tratamento térmico (100 °C)	0,50 % (± 0,028)
Após tratamento térmico (180 °C)	0,50 % (± 0,030)
Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min.	0,49 % (± 0,032)

Malheiro *et al*. (2009) também afirmam que a acidez resulta da ocorrência de hidrólise em ácidos graxos, onde ocorrem reações de enzimas hidrolíticas. Normalmente, estas enzimas estão presentes no fruto da oliveira ou em microrganismos. Neste trabalho e também no de Malheiro *et al*., 2009, usou-se azeite de alta qualidade, logo, a probabilidade de ocorrência de enzimas é baixa ou inexistente.

Na Tabela 6, pode-se verificar as medições de pH em cada uma das amostras e o desvio-padrão entre as triplicatas.

TABELA 6 – pH do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).

AMOSTRA	pH
Bruta	5,95 (± 0,1750)
Após tratamento térmico (60 °C)	6,04 (± 0,1205)
Após tratamento térmico (100 °C)	5,97 (± 0,0776)
Após tratamento térmico (180 °C)	6,02 (± 0,1250)
Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min.	6,09 (± 0,0850)

A oxidação pode afetar o valor nutricional dos alimentos através da decomposição de vitaminas, de ácidos graxos insaturados e também pela geração de compostos tóxicos (Ansorena *et al*., 2004).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Estabilidade à oxidação é uma importante propriedade do azeite, que ocorre por interações sinérgicas entre os vários antioxidantes presentes e a composição lipídica (Youssef *et al*., 2010).

Quanto maior o ponto de fumaça, mais adequado será uma gordura para fritar; gorduras com o ponto de fumaça abaixo de 200 °C não são adequadas para fritura (Katragadda *et al.*, 2010). Uma vez que o azeite de oliva tem o seu ponto de fumaça em 195 °C, este não é adequado para operações de fritura de alimentos.

A acroleína presente no estudo de Katragadda *et al.* (2010) foi formada ainda na temperatura mais baixa estudada, de 180 °C (ideal para fritar), para os quatro óleos de cozinha testados.

Os mesmos autores não recomendam reaquecimento dos óleos, pois os mesmos irão conter maior teor de ácidos graxos livres, o que, consequentemente, diminuirá o seu ponto de fumaça original, resultando no aumento das emissões de compostos voláteis em temperaturas mais baixas. Marques; Valente; Rosa (2009) orientam quanto ao cuidado para que, durante os processos de aquecimento de óleos, a temperatura não ultrapasse 170 °C, já que em temperaturas mais elevadas, passam a ocorrer emissões de fumaça e início de processos oxidativos.

No entanto, de acordo com alguns autores, o uso do azeite de oliva em frituras é interessante, devido à sua composição em ácido oleico e estabilidade à oxidação, apesar das mudanças físicas sofridas durante o processo. Seu uso é pouco difundido, devido ao seu alto custo (Aylon, 2003; Sánchez-Muniz & Bastida, 2006; Sánchez-Gimeno et al., 2008).

5.1 Análise Estatística dos Resultados

Em relação aos resultados de desvios-padrões, verifica-se que este tem valores maiores nas amostras brutas para os Valores de Carga (VC) e ensaios de fitosteróis, acidez e pH quando comparados aos resultados das amostras

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

submetidas a tratamento térmico. Supõe-se que este resultado tenha relação com a complexidade da amostra, pois a mesma é de difícil solubilização e homogeneização. Então, quando submetida ao processo térmico, essa solubilização acontece com maior facilidade.

Utilizando-se a análise de Variância (ANOVA), entre as amostras brutas e submetidas a processo térmico, obteve-se os resultados que seguem nas Tabelas 7, 8, 9, 10 e 11.

Em termos estatísticos, as diferenças de cargas para VC não são significativas, conforme Tabela 7.

TABELA 7 – Análise de Variância para ensaios de Voltametria Cíclica – Valores de Carga (C) do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico. F = Valor da Análise de Variância; P = Probabilidade.

ENSAIO	F	P
Voltametria Cíclica (VC)	0,1829	0,9420

Para as MUFA's e PUFA's, a análise de variância não foi significativa; para as gorduras saturadas, a mesma análise não foi significativa, tendendo a significância (Tabela 8).

TABELA 8 – Análise de Variância para ensaio de Gorduras Monoinsaturadas, Polinsaturadas e Saturadas do azeite de oliva bruto e para cada um dos tratamentos térmicos aplicados. F = Valor da Análise de Variância; P = Probabilidade.

ENSAIO	F	P
Gorduras Monoinsaturadas (MUFA's)	2,2820	0,1322
Gorduras Polinsaturadas (PUFA's)	1,6140	0,2450
Gorduras Saturadas	3,3620	0,0544

Embora os resultados dos ensaios de fitosteróis estejam dentro do valor esperado para a amostra, a variabilidade deste é grande (0,1 – 0,5%). Observa-se

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

que a análise de variância foi significativa estatisticamente, quando compara-se a amostra bruta com aquelas que sofreram processo térmico. Da mesma forma, observa-se quando compara-se a amostra aquecida com a bruta e as aquecidas nas outras temperaturas (Tabela 9).

TABELA 9 – Análise de Variância para ensaio de Fitosteróis do azeite de oliva bruto e para cada um dos tratamentos térmicos aplicados. F = Valor da Análise de Variância; P = Probabilidade.

AMOSTRA	F	P
Bruta x Após tratamento térmico (60 °C)	50,561	< 0,001
Bruta x Após tratamento térmico (100 °C)	50,561	< 0,001
Bruta x Após tratamento térmico (180 °C)	50,561	< 0,001
Bruta x Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min.	50,561	< 0,01
Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min. x Após tratamento térmico (60 °C)	50,561	< 0,001
Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min. x Após tratamento térmico (100 °C)	50,561	< 0,001
Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min. x Após tratamento térmico (180 °C)	50,561	< 0,01

Mesmo após aquecimento, não houve alteração significativa no pH e no índice de acidez entre as amostras (Tabela 10), evidenciando que com a utilização de azeite de alta qualidade, a probabilidade de ocorrência de enzimas é baixa ou inexistente.

TABELA 10 – Análise de Variância para ensaios de pH e acidez do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico. F = Valor da Análise de Variância; P = Probabilidade.

ENSAIO	F	P
pH	0,6397	0,6461
Acidez	0,6085	0,6658

A diferença entre os valores de peróxidos foi significativa (porque P > 0,0001) quando compara-se a amostra bruta e as aquecidas a 60 °C, 100 °C, 180 °C com a amostra aquecida a 180 °C durante 30 minutos (F = 161,47; P > 0,0001) (Tabela

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

11). Este comportamento dos peróxidos pode ser explicado em função da formação de novos compostos de oxidação secundários, a partir da decomposição dos peróxidos presentes (Malheiro *et al*., 2009).

TABELA 11 – Análise de Variância para ensaio de Índice de Peróxidos do azeite de oliva bruto e para cada um dos tratamentos térmicos aplicados. F = Valor da Análise de Variância; P = Probabilidade.

AMOSTRA	F	P
Bruta x Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min.	161,47	> 0,001
Após tratamento térmico (60 °C) x Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min.	161,47	> 0,001
Após tratamento térmico (100 °C) x Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min.	161,47	> 0,001
Após tratamento térmico (180 °C) x Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min.	161,47	> 0,001

Na Tabela 12, foram realizados testes de correlação de Pearson, onde P = Probabilidade e r = Pearson.

TABELA 12 – Correlações de Pearson no azeite de oliva bruto e para cada um dos tratamentos térmicos aplicados. r = Pearson; P = Probabilidade.

CORRELAÇÃO	r	P
Valores de carga (VC) x Índice de Peróxidos	- 0,5366	0,3511
Valores de carga (VC) x Índice de Acidez	- 0,5145	0,3751
Valores de carga (VC) x pH	0,1105	0,8595
Acidez x pH	0,5278	0,3606

Quanto mais próximo os valores estiverem de 1 ou -1, mais forte será a associação entre as duas variáveis. De acordo com a classificação de Santos (2007), os dados calculados têm as seguintes correlações:

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

- Valores de carga (VC) x Índice de Peróxidos, moderada negativa, pois - 0,8 < r ≤ - 0,5;

- Valores de carga (VC) x Índice de Acidez, moderada negativa, pois - 0,8 < r ≤ - 0,5;

- Valores de carga (VC) x pH, fraca positiva, pois 0,1 ≤ r < 0,5;

- Acidez x pH, moderada positiva, pois 0,5 ≤ r < 0,8.

Não verifica-se correlação forte (positiva ou negativa), somente fraca e moderada. As correlações positivas se mostram diretamente proporcionais quando da comparação entre seus valores, e as negativas, inversamente proporcionais quando da comparação entre seus valores.

As Figuras 17, 18, 19, 20 e 21 mostram em gráficos os resultados dos valores de carga da VC e dos ensaios de fitosteróis, índice de peróxidos, índice de acidez e pH.

Quanto aos valores de cargas, verifica-se um decréscimo até a temperatura de 180 °C, mas um acréscimo após tratamento térmico de 180 °C durante 30 minutos, em função da Reação de Desprendimento de Oxigênio devido ao maior tempo de exposição ao tratamento térmico, conforme Figura 17.

Nas amostras brutas, verifica-se menores valores de fitosteróis, índices de acidez e pH, conforme Figuras 18, 20 e 21.

Os índices de peróxidos apresentaram pouca alteração até o tratamento térmico de 180°C, mas houve decréscimo após tratamento térmico de 180 °C durante 30 minutos, conforme Figuras 19. Onde há menor quantidade de peróxidos, verificou-se maior quantidade corrente na VC, conforme Figura 17, evidenciando degradação destes compostos e formação de compostos secundários.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

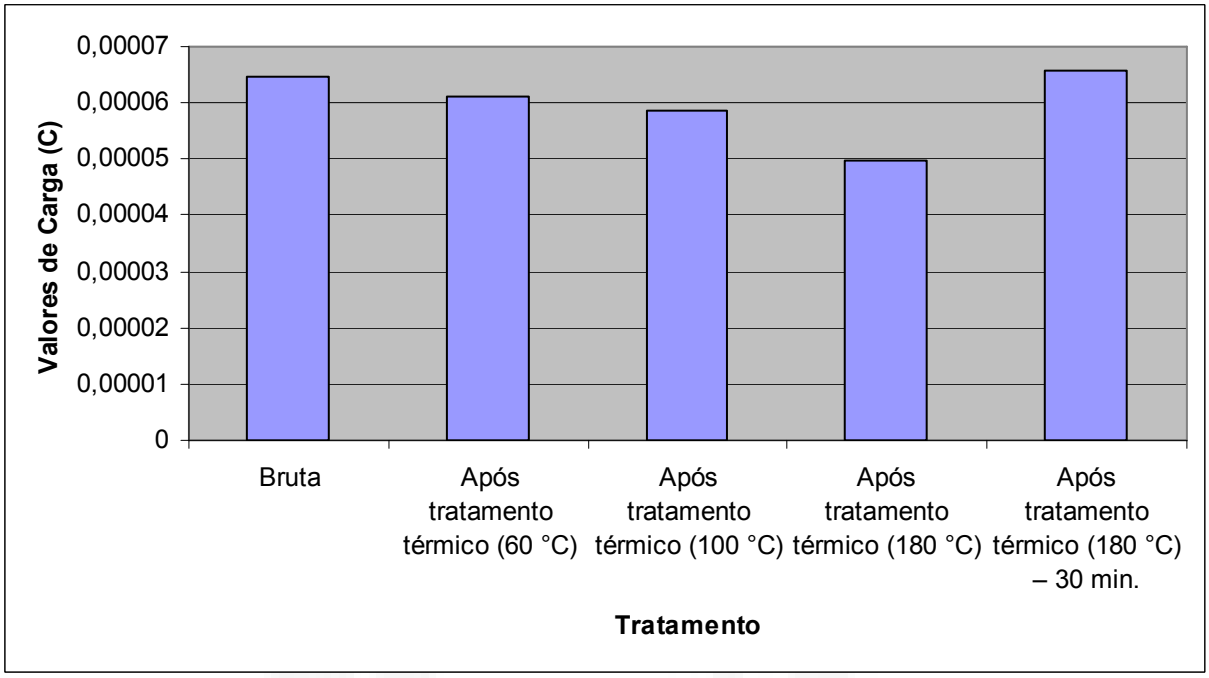


FIGURA 17 – Valores de Cargas da VC (C) antes e após tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).

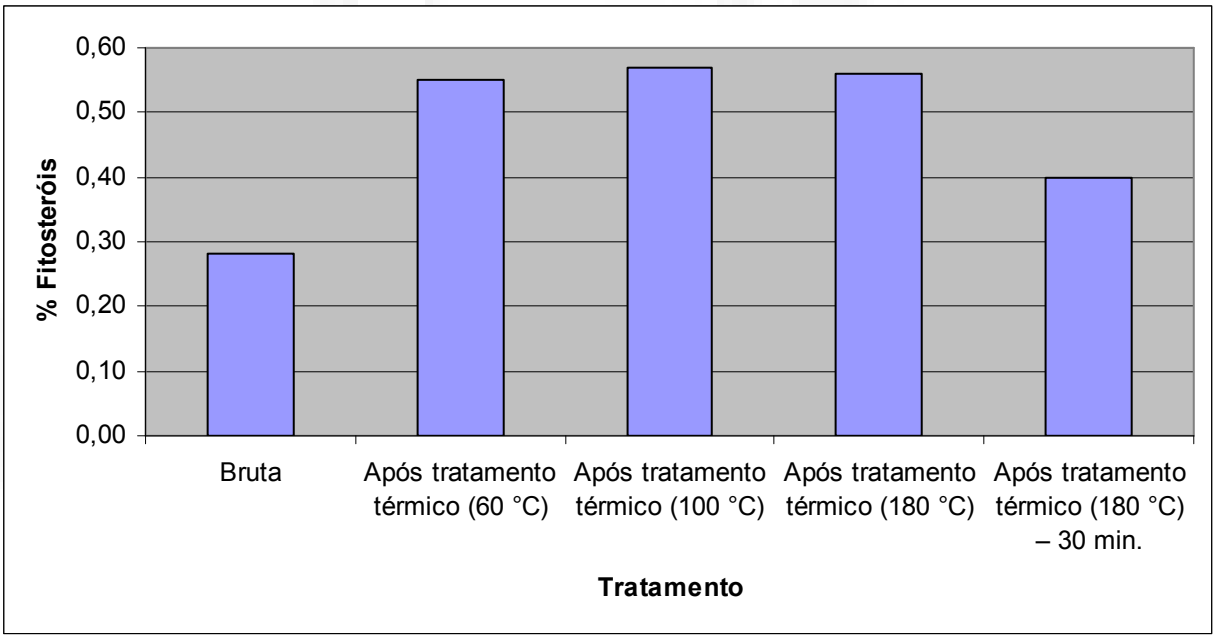


FIGURA 18 – % de Fitosteróis antes e após tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

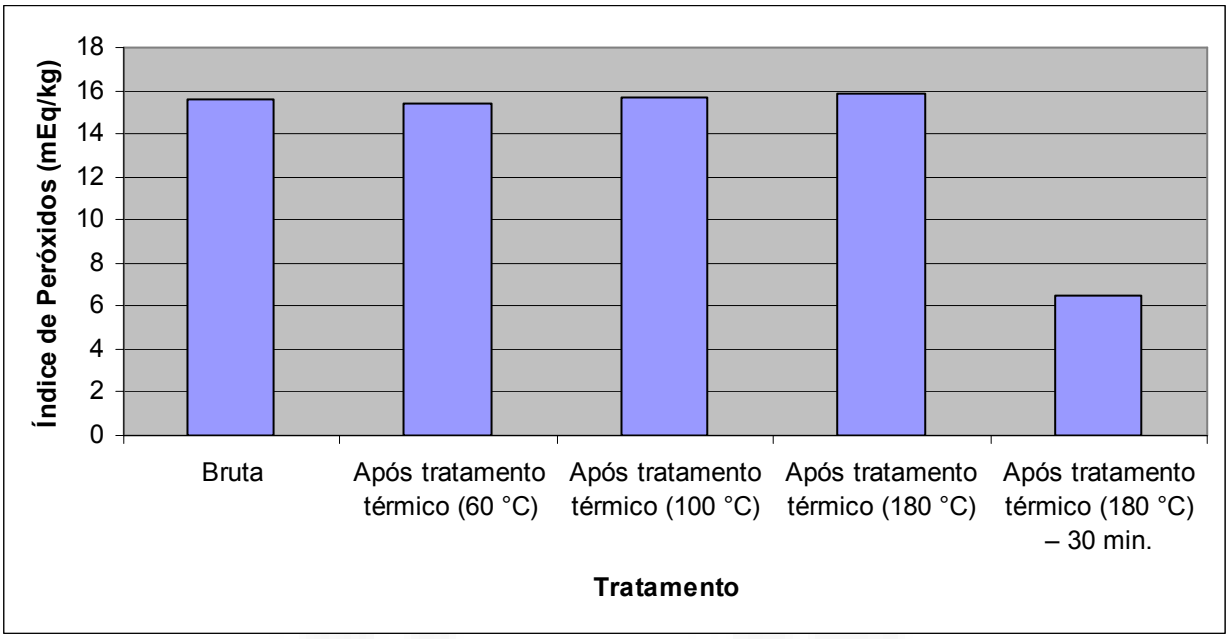


FIGURA 19 – Índice de Peróxidos antes e após tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).

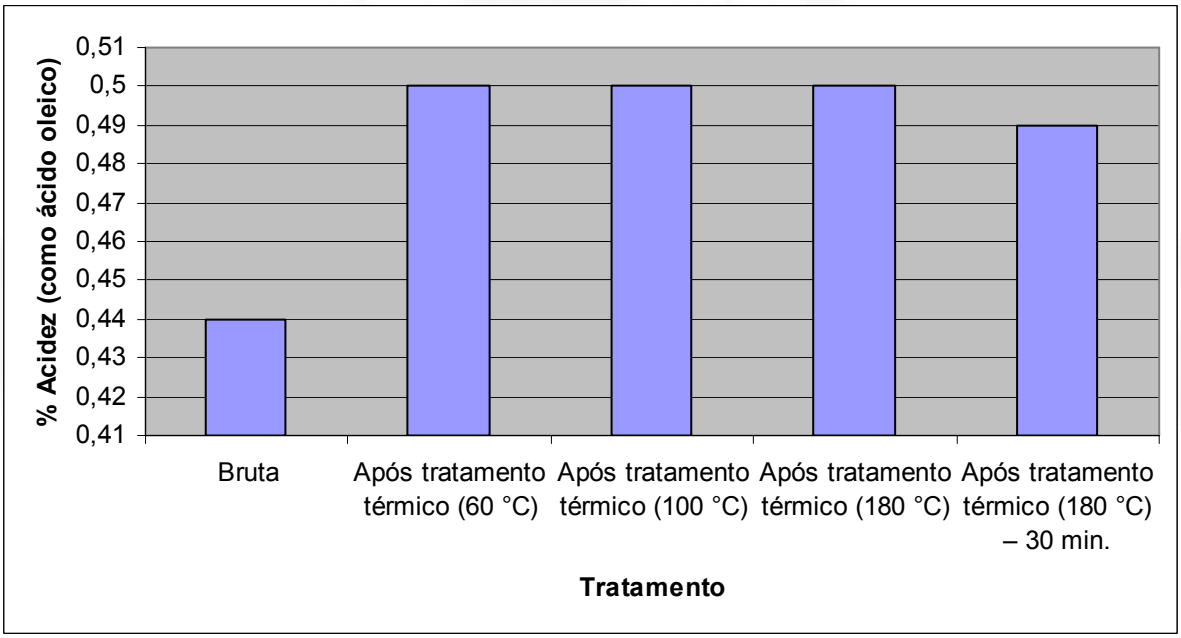


FIGURA 20 – Índice de Acidez antes e após tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

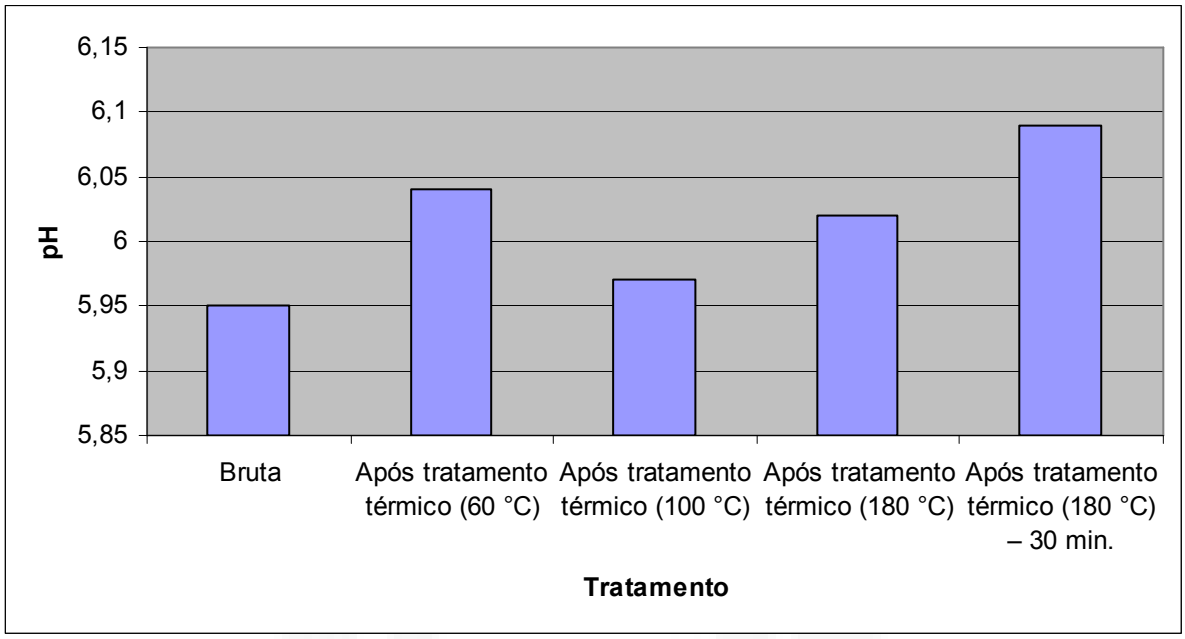


FIGURA 21 – pH antes e após tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).

Através dos resultados destes ensaios, foi possível verificar que o azeite de oliva sofre alterações quando submetido a processo térmico, porém, nas condições estudadas, estes não foram significativos estatisticamente quando avaliados pela análise de Variância. Desta forma, de modo sintético, na Figura 22, tem-se o demonstrativo da tendência dos resultados obtidos após a aplicação de tratamento térmico a amostras de azeite de oliva.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

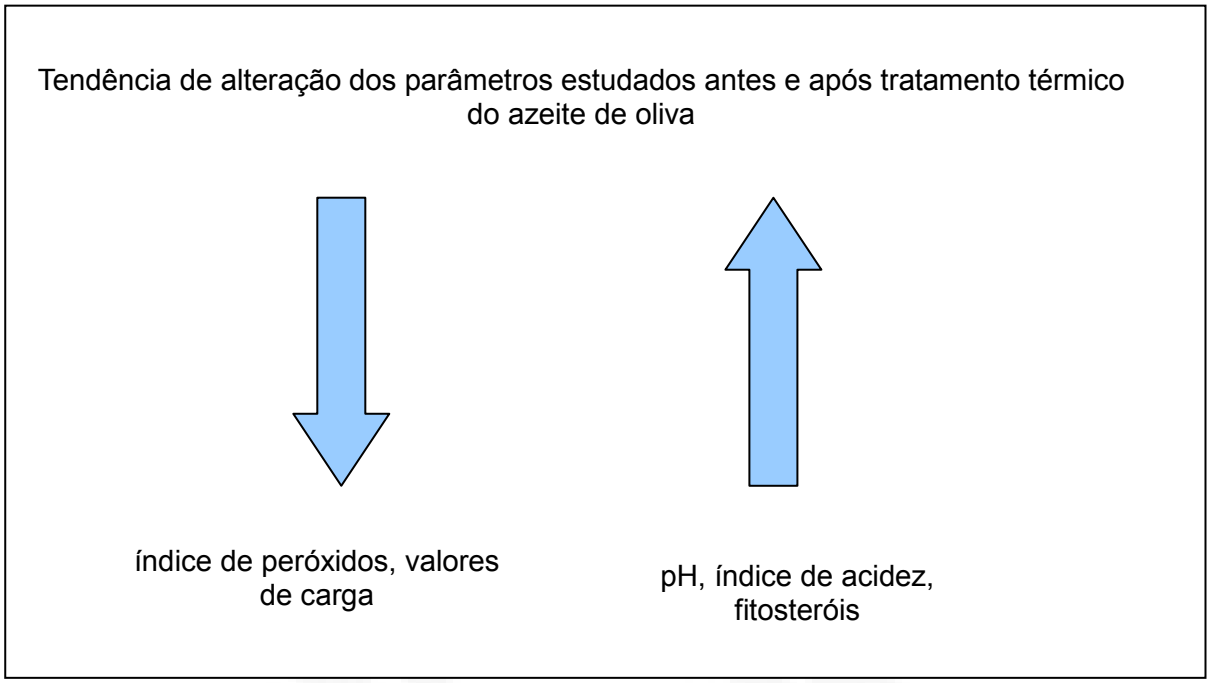


FIGURA 22 – Demonstrativo da tendência de alteração dos parâmetros avaliados antes e após aplicação de tratamento térmico em amostras de azeite de oliva.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

6 CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos, pode-se concluir que o azeite de oliva modificou-se após ser submetido ao calor, ocasionando a ocorrência de processos oxidativos. As avaliações eletroquímicas e espectrofotométricas UV/Vis permitem a detecção destas alterações. Através dos ensaios de Voltametria Cíclica e de Pulso Diferencial, pôde-se observar alterações em determinados valores de potenciais, típicos para o antioxidante α-tocoferol e para pigmentos, como a clorofila. Quanto mais tempo exposta ao tratamento térmico, verifica-se uma tendência de diminuição das suas quantidades nas amostras.

Nos ensaios cromatográficos, os resultados para fitosteróis indicaram que nas temperaturas de 60 °C, 100 °C e 180 °C ocorreu um aumento destes nas amostras, mas o mesmo não ocorreu a 180 °C durante 30 minutos. Já o perfil lipídico apresentou resultados dentro do esperado, pois sabe-se que o azeite de oliva possui uma alta estabilidade térmica quanto a este critério.

As análises de acidez e pH não apresentaram variação significativa. Atribui-se estes resultados ao fato de que o azeite utilizado foi de alta qualidade, onde a probabilidade de ocorrência de enzimas que o degradariam é baixa ou inexistente.

O ensaio de peróxidos apresentou variação significativa apenas na temperatura de 180 °C, quando a amostra foi submetida a tratamento térmico durante 30 minutos.

A definição de métodos de análise da degradação de óleos possibilita uma maior utilização dos mesmos, com o aumento do tempo de vida útil e consequente geração de menor descarte. Métodos rápidos e mais acessíveis devem ser estudados e divulgados para facilitar estas práticas.

Estudos adicionais são necessários, mas estes ensaios mostram que, em função do alto custo do azeite de oliva extra-virgem e das perdas de compostos antioxidantes verificadas, deve-se dar preferência ao seu uso na forma bruta, como tempero de saladas e outros pratos.

No Brasil, onde o azeite de oliva é um produto de alto valor comercial, e apesar de sua estabilidade quanto ao perfil lipídico mesmo após aquecido, a sua utilização em processos de fritura (onde utiliza-se uma quantidade maior), não se mostra vantajosa. Também, à medida que a temperatura aumenta, a perda de compostos antioxidantes voláteis aumenta, trazendo prejuízo ao consumidor.

Ainda assim, se o consumidor deseja utilizar este lipídeo em processo térmico, e principalmente, de fritura, recomenda-se que a temperatura aplicada não seja superior a 180 °C e que não haja um reaproveitamento deste em processos térmicos posteriores, devido às perdas de compostos desejáveis, responsáveis por agirem positivamente no nosso organismo.

Considera-se a melhor forma de utilização do azeite de oliva como complemento de saladas e outros pratos, onde a possibilidade de integridade das suas estruturas químicas é maior até o momento do consumo (desde que adequadamente armazenado).

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Testar a fritura em frigideira de um alimento com azeite de oliva, em tempos e temperaturas diferentes.

- Testar a fritura em forno micro-ondas de um alimento com azeite de oliva, em tempos e potências diferentes.

- Utilizar padrões de compostos orgânicos (fenóis, hidroxitirosol, carotenos, clorofila, α-tocoferol) para complementar o estudo eletroquímico e através deste, verificar as modificações ocorridas após estes processos térmicos.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

REFERÊNCIAS

ALLOUCHE, Y. *et al*. How Heating Affects Extra Virgin Olive Oil Quality Indexes and Chemical Composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.23, p.9646-9654, 2007.

AMATI, L.; *et al*. New Investigation of the Isothermal Oxidation of Extra Virgin Olive Oil: Determination of Free Radicals, Total Polyphenols, Total Antioxidant Capacity, and Kinetic Data. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.18, p.8287-8295, 2008.

ANDRADE, E. C. B. **Análise de Alimentos – Uma Visão Química da Nutrição**. São Paulo: Varela, 2006.

ANS, V. G.; MATTOS, E. S.; JORGE, N. Avaliação da qualidade dos óleos de fritura usados em restaurantes, lanchonetes e similares. **Ciência e Tecnologia de**. **Alimentos**, v.19, n.3, Campinas Sept./Dec.1999.

ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Effect of storage and packaging on fatty acid composition and oxidation in dry fermented sausages made with added olive oil and antioxidants. **Meat Science**, v.67, p.237–244, 2004.

AOAC Official Method 996.06. Fat (Total, Saturated and Unsaturated) in foods, hydrolytic extraction gas chromatographic method, revised 2001. In: **Official Methods of Analysis of AOAC International**,18 th Edition (Horwitz, W. , ed.)

ARAÚJO, A. M. Monitoramento de processos em tempo real via especrofotometria o infravermelho próximo. **Dissertação** apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos da Universidade Tiradentes, Aracaju/SE, 2007.

AYADI, M. A.; GRATI-KAMOUN, N.; ATTIA, H. Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. **Food and Chemical Toxicology**., v.47, n.10, p.2613-2619, 2009.

AYLON, M. A. Y. **Estudio de utilización de aceites para fritura en estabelecimientos alimentarios de comidas preparadas.** Observatori de La Seguretat Alimentaria – Escola de Prevenció i Seguretat Integral. UAB, Belaterra, Setembre de 2003.

BENDINI, A. *et al.* Study on the effects on virgin olive oil blended with mildly deodorized olive oil: focus on the hydrolytic and oxidative state. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.57, v.21, p.10055-10062, 2009.

BIANCHETTI, P. *et al.* Avaliação eletroquímica e espectrofotométrica de soluções de rutina submetidas a ultrassom terapêutico. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v.10, n. 14, p.139-148, 2009.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do Processamento de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2001.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à Química de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 108, de 04 de setembro de 1991. Métodos Analíticos para Controle de Alimentos para Uso Animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 17 set. 1991. Seção 1, p. 19814.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. Método A. Método A, p. 29. Produtos ou Sub-produtos de Origem Vegetal, Rações e Concentrados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 set. 1999. Seção 1, p. 24 e 29.

BRASIL. Resolução RDC nº 270, de 23 de set. 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Aprova o Regulamento Técnico referente a Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 set. 2005. Seção 1, nº 184, p. 372-3. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 08 nov. 2008.

BRENES, et al. Influence of Thermal Treatments Simulating Cooking Processes on the Polyphenol Content in Virgin Olive Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.21, p.5962-5967, 2002.

CAPONIO, F.; PASQUALONE, A.; GOMES, T. Effects of conventional and microwave heating on the degradation of olive oil**. European Food Research and Technology**, v.215, n.2, p.114-117, 2002.

CARRASCO-PANCORBO, A. *et al.* Evaluation of the Influence of Thermal Oxidation on the Phenolic Composition and on the Antioxidant Activity of Extra-Virgin Olive Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.12, p.4771-4780, 2007.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

CECCHI, H. M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análises de Alimentos**. 2.a ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2003.

CELLA, R. C. F., REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. Comportamento do óleo de soja refinado utilizado em fritura por imersão com alimentos de origem vegetal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** v.22, n.2, p.111-116, 2002.

CERT, A. Normativa International sobre el aceites de oliva y otras grasas vegetales - posible utilidad de nuevos métodos analíticos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, p. 175-189, jun., 1995.

CERUTTI, D. G. U. Estudo dos efeitos do ultrassom na veiculação de fitoterápicos através da análise da degradação da *Arnica montana*. **Dissertação** apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento (PPGAD) do Centro Universitário Univates, Lajeado/RS, 2009. Disponível em: <http://www.univates.br/edu>

CHEIKHOUSMAN, R.; ZUDE, R.; BOUVERESSE, D. J. R. Fluorescence spectroscopy for monitoring deterioration of extra virgin olive oil during heating. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.382, n.6, p.1438-1443, 2005.

CODEX ALIMENTARIUS (FAO/WHO). Codex Standard for Olive Oils, and Olive Pomace Oils, **CODEX STAN 33 -1981. Codex Alimentarius**. Roma, Itália, rev. 2. 2003.

CONDE, C.; DELROT, S.; GERÓS, H. Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. **Journal of Plant Physiology,** v.165, n.15, p.1545-1562, 2008.

CONI, E.; PODESTÁ, E.; CATONE, E. Oxidizability of different vegetables oils evaluated by thermogravimetric analysis. **Thermochimica Acta**, v.418, n.1-2, p.11-15, 2004.

CORSINI, M. S.; JORGE, N. Estabilidade oxidativa de óleos vegetais utilizados em frituras de mandioca palito congelada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 26 (1): 27-32, jan.-mar. 2006.

CORSINI, M. S. *et al*. Perfil de ácidos graxos e avaliação da alteração em óleos de fritura. **Química Nova**, v.31, n.5, São Paulo, 2008.

COSTA, P. A. Caracterização de ácidos graxos, tocoferóis e fitosteróis em frutas e castanhas das regiões Norte e Nordeste do Brasil. 2007. 200 p. **Tese** apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 2007.

COSTA NETO, P. R. C. et al. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Química Nova**, v.23, n.4, p.531-537, 2000.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

COULTATE, T. P. **Alimentos: Química de sus componentes**. Zaragoza: Acribia, 1984.

DABDOUB, M. J. *et al.* Biodiesel em casa e nas escolas: iniciativa paulista pelo biodiesel / Programa de Coleta de Óleos de Fritura / Projeto Biodiesel na Educação Ambiental – Coletando óleo e salvando o meio ambiente. Ribeirão Preto: Laboratório de Desenvolvimento de Tecnologias Limpas, 2006.

DASKALAKI, D. *et al*. Evaluation of phenolic compounds degradation in virgin olive oil during storage and heating. **Journal of Food and Nutrition Research**, v.48, n.1, p.31-41, 2009.

EWING, G. W. **Métodos Instrumentais de Análise Química – vol. 1,** 10.a ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

FALCÃO, S. I. D. Avaliação da actividade electroquímica em cogumelos silvestres. 2008. 91 p. **Tese** apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 2008.

FENNEMA, O. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993.

GALEANO, D. T. *et al*. Spectrophotometric and Adsortive Stripping Square Wave Voltammetric Determination of Iron in Olive Oils, as Complex with 5,5-Dimethylcyclohexane-1,2,3-trione, 1,2-Dioxime 3-Thiosemicarbazone (DCDT), **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.13, p.3743-3747, 2003.

GALLI, A. et al. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, v.29, n.1, p.105-112, 2006.

GANDRA, P. G. *et al*. Determinação Eletroquímica da Capacidade Antioxidante para Avaliação do Exercício Físico. **Química Nova**, v.27, n.6, p.980-985, 2004.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 3.a ed. Barueri: Manole, 2008.

GERTZ, C.; KLOSTERMANN, S.; KOCHHAR, S. P. Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.102, n.8-9, p.543–551, 2000.

GIL, E. S.; GONÇALVES, A. L. S.; LUCIO, T. C. Determinação do potencial anódico em estado sólido: uma ferramenta preditiva para determinação do potencial antioxidante de fitoterápicos. In: Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica (SIBEE), Águas de Lindóia/SP, 2007. **Anais**... Águas de Lindóia/SP: SIBEE, 2007.

HOCEVAR, L. Biocombustível de óleos e gorduras residuais – a realidade do sonho. In: II Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, Varginha/MG, 2005. **Anais**... Varginha/MG, 2005.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Instituto Adolfo Lutz. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. Edição IV. Método 17/IV, pH, p. 104, 2005.

ISO. Method 12228:1999. Animal and vegetable fats and oils – Determination of individual and total sterols contents – Gas chromatographic method. **International Organization for Standardization**, 1999.

JEFFERY, G.H. *et a*l. **Vogel: Análise Química Quantitativa**. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 1992.

JORGE, N.; LUNARDI, V. M. Influência dos tipos de óleos e tempos de fritura na perda de umidade e absorção de óleo em batatas fritas. **Ciência e Agrotecnologia,** v.29, n.3, p. 635-641, 2005.

JORGE, N; RAMALHO, V. C. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, n.4, p.755-760, 2006.

KASKOOS, R. A. et al. Chemical composition of fixed oil of Olea europaea drupes from Iraq. **Research Journal of Medicinal Plant**, v.3, n.4, p.146-150, 2009.

KATRAGADDA, H. R. *et al*. Emissions of volatile aldehydes from heated cooking oils. **Food Chemistry**, v.120, n.1, p.59-65, 2010.

KIM, H. J.; LEE, O. H.; MIN, D. B. Effects and prooxidant mechanisms of oxidized α-tocopherol on the oxidative stability of soybean oil. **Journal of Food Science**, v.72, n. (4), p.C223-C230, 2007.

LINOS, A. *et al*. Dietary factors in relation to rheumatoid arthritis: a role for olive oil and cooked vegetables? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.70, n.6, p.1077–82, 1999.

MALHEIRO, R. *et a*l. Effect of microwave heating with different exposure times on physical and chemical parameters of olive oil. **Food and Chemical Toxicology**, v.47, n.1, p.92-97, 2009.

MARMITT, S.; PENZ, L. R.; STÜLP, S. Avaliação eletroquímica da degradação térmica do azeite de oliva. In: Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica (SIBEE), 2009, Fortaleza/CE. **Anais**... Fortaleza/CE, SIBEE, 2009, p. 187.

MARQUES, A. C.; VALENTE, T. B.; ROSA, C. S. Formação de toxinas durante o processamento de alimentos e as possíveis consequências para o organismo humano. **Revista de Nutrição**, v.22, n.2, p.283-293, 2009.

MENDES, A. A. et al. Aplicação de lipases no tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos. **Química Nova**, v.28, n.2, p.296-305, 2005.

MENDONÇA, M. A. et al. Alterações físico-químicas em óleos de soja submetidos ao processo de fritura em unidades de produção de refeição no Distrito Federal. **Comunicação em Ciências da Saúde**, v.19, n.2, p.115-122, 2008.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

NISSIOTIS, M.; TASIOULA-MARGARI, M. Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. **Food Chemistry**, v.77, n.3, p.371-376, 2002.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri: Manole, 2006.

ORDÓÑEZ, J. A. *et al*. **Tecnologia de Alimentos**. Vol. 1. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PESTANA, V. R.; MENDONÇA, C. R. B.; ZAMBIAZI, R. C. Farelo de arroz: características, benefícios à saúde e aplicações. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.26, n.1, p. 29-40, 2008.

PHILIPPI, S. T. Nutrição e Técnica Dietética. 2.a Ed. Barueri: Manole, 2003.

PIMENTEL, I. C.; MAGNONI, C. D.; COSTA, R. P. Utilização do azeite de oliva na prevenção e no tratamento das doenças cardiovasculares. **Departamentos da SOCESP,** v.17, n.1, 2007.

PINELLI, P. *et al*. Minor polar compound and fatty acid analyses in monocultivar virgin olive oils from Tuscany. **Food Chemistry**, 80: 331–336, 2003.

PLAZA, I. *et al*. Control de la colesterolemia en España. Un instrumento para la prevención cardiovascular. **Revista Española de Cardiololgia**, v.53, n.6, p.815-837, 2000.

PROCIDA, G. *et al*. Influence of chemical composition of olive oil on the development of volatile compounds during frying. **European Food Research and Technology**, v.230, n.2, p.217-229, 2009.

QUILES, J. L.; RAMÍREZ-TORTOSA, C.; YAQOOB, P. Chemical composition, Types and Characteristics of Olive Oil. **Olive Oil and Health**. London: CABI, 2006.

QUINTAES, K. D. ***Trans*: A gordura do mal.** Vida e Saúde, Tatuí – SP, n.11, p.10-15, Nov. 2005.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova,** v.29, n.4, p.755-760, 2006.

RAYMUNDO, M. S. Avaliação da quantificação de nitritos e antioxidantes em alimentos por técnicas voltamétricas. 2007. 215 p. **Tese** apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blucher: Instituto Mauá de Tecnologia, 2004.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

RIEGEL, R. E. **Bioquímica**. 3.a ed. São Leopoldo: Unisinos, 2002.

SABARENSE, C. M.; MANCINI FILHO, J. Ácidos graxos *trans* em alimentos: formação, consumo e métodos de análise. **Food Ingredients**, São Paulo, n.25, p.80-83, 2003.

SÁNCHEZ-GIMENO, A. C. *et al*. Some physical changes in Bajo Aragón extra virgin olive oil during the frying process. **Food Chemistry,** v.110, n.3, p.654-658, 2008.

SÁNCHEZ-MUNIZ, F. J.; BASTIDA, S. Effect on Frying and Thermal Oxidation on Olive Oil and Food Quality. **Olive Oil and Health**. London: CABI, 2006.

SANTOS, C. **Estatística Descritiva - Manual de Auto-aprendizagem**. Lisboa, Edições Silabo, 2007.

SGARBIERI, V. C.; PACHECO, M. T. B. Revisão: Alimentos Funcionais Fisiológicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.2, n.1-2, p.7-19, 1999.

SHAHIDI, F. Stability of fats and olis. In: Latin American Congress and Exhibit on Fats and Oils Processings, 6, Campinas, 1995. Proceedings. Campinas: **Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras**, p.47-54, 1995.

SIGMA-ALDRICH. Acesso em 10 mar. 2010. Disponível em: <www.sigmaaldrich.com>

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v.22, n.1, p.94-103, 1999.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5.a ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

STÜLP, S., PENZ, L. R., BIANCHETTI, P. Avaliação eletroquímica das alterações do azeite de oliva após tratamento térmico. In: XVII Encontro de Química da Região Sul (17SBQSul), 2009, Rio Grande/RS. **Anais**... Rio Grande/RS: FURG, 2009, p. FQ401-1-FQ401-2.

STÜLP, S., SILVA, C. P., MARMITT, S. Avaliação eletroquímica e degradação fotoquímica do pesticida Malathion. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v.9, n.12, p.7-12, 2008.

TASIOULA-MARGARI, M.; OKOGERI, O. Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection. **Food Chemistry**, v.74, n.3, p.377-383, 2001.

TIRAPEGUI, J. **Nutrição – Fundamentos e Aspectos Atuais**. 2.a ed. São Paulo: Atheneu, 2006.

WOLINEC, S. **Técnicas Eletroquímicas em Corrosão**. São Paulo: Edusp, 2003.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

YOUSSEF, N. B. et al. Effect of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of ch´etoui virgin olive oil**. Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.90. n.2, p.199-204, 2010.

YÚFERA, E. P. **Química de los Alimentos**. Madrid: Editorial Síntesis, 1998.

ZILLER, S. **Grasas e Aceites Alimentarios**. Zaragoza: Acribia, 1994.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

ANEXOS

UNIVATES

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

ANEXO 1

Artigo submetido à Revista Alimentos e Nutrição – UNESP – Araraquara/SP

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

AVALIAÇÃO ELETROQUÍMICA E ESPECTROFOTOMÉTRICA DO AZEITE DE OLIVA APÓS TRATAMENTO TÉRMICO

Lisângela Rita PENZ *
Simone STÜLP **
Paula BIANCHETTI **
Eduardo Miranda ETHUR ***

RESUMO: Durante o processo de aquecimento, os óleos passam por modificações em sua estrutura química, o que pode torná-los inadequados para consumo. O azeite de oliva, por ser a maior fonte de gordura monoinsaturada da dieta, tem sido alvo de muitas pesquisas na área da saúde, indicando que o seu consumo regular é benéfico à saúde. Por ser um óleo de valor comercial mais alto, é interessante conhecer o seu comportamento quando submetido a processos de aquecimento em diferentes temperaturas, para avaliar as modificações físico-químicas, e orientar o consumidor quanto a esta prática. O objetivo deste trabalho é avaliar o comportamento físico-químico do azeite de oliva, em seus estados bruto e após o processo térmico em três diferentes temperaturas (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). Para tanto, foram utilizados métodos eletroquímicos de análise (voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial) e ainda, ensaios espectrofotométricos. Através destes ensaios, foi possível avaliar as modificações ocorridas neste lipídeo por meio das reações de oxi-redução ocorridas no sistema. Estudos adicionais são necessários, mas, em função do alto custo do azeite de oliva extra-virgem e das perdas de compostos antioxidantes verificadas, deve-se dar preferência ao seu uso na forma bruta, como tempero de saladas e outras preparações.

PALAVRAS-CHAVE: Gorduras Vegetais, Tratamento Térmico, Propriedades Químicas.

INTRODUÇÃO

O hábito alimentar representa um dos mais importantes fatores ambientais associados ao desenvolvimento das doenças crônico-degenerativas da modernidade, [31] sendo que, os lipídeos têm sido um dos principais pontos de interesse da pesquisa em nutrição. [36]

O azeite de oliva, por ser a maior fonte de gordura monoinsaturada da dieta, tem sido alvo de muitas pesquisas na área da saúde, indicando que o seu consumo regular é benéfico à saúde. [24, 31] A legislação brasileira caracteriza o azeite de oliva como o "produto obtido somente dos frutos da oliveira (*Olea europaea L.*), excluídos os óleos obtidos através de solventes ou processos de reesterificação e ou qualquer mistura de outros óleos", e o azeite de oliva virgem como o "produto obtido do fruto da oliveira (*Olea europaea L.*), somente por processos mecânicos ou outros meios físicos, em condições térmicas, que não produzam alteração do azeite, e que não tenha sido submetido a outros tratamentos além da lavagem, decantação, centrifugação e filtração". [8] O ácido oléico está presente em uma concentração bastante elevada (68 – 81,5%), seguido de outros ácidos monoinsaturados (palmítico, linoléico, esteárico, palmitoléico, linolênico e miristico), presentes em quantidades bastante inferiores. [33]

Quanto à sua utilização, ainda discute-se muito se pode ou não ser utilizado em processos de cozimento, ou apenas cru, como complemento.

Sánchez-Gimeno *et al.* compararam o comportamento do azeite de oliva extra-virgem *Bajo Aragon* e do óleo de girassol em processos de fritura, e concluíram que o uso do azeite de oliva em processos de fritura é mais interessante que o óleo de girassol, devido à sua rica composição em ácido oléico e a sua estabilidade à

* Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento – Curso de Mestrado. Centro Universitário Univates - Av. Avelino Tallini, 171 – Bairro Universitário - Caixa Postal 155 – Lajeado/RS – 95900-000.
lisangela@bewnet.com.br

** Núcleo de Eletrofotoquímica e Materiais Poliméricos - NEMP - Centro Universitário Univates.

*** Curso de Química Industrial - Centro Universitário Univates.

oxidação, apesar das mudanças físicas sofridas durante o processo. [37] Já Sánchez-Muniz & Bastida relatam que o azeite de oliva extra-virgem é o óleo mais adequado para fritura, devido a sua resistência à oxidação térmica, contribuindo assim, para a produção de um alimento nutritivo e cardio-saudável. [38]

Philippi recomenda o seu uso apenas como tempero de saladas e molhos e como componente de emulsões, como maionese. A autora não recomenda a utilização do azeite de oliva em preparações aquecidas, pois além de possuir um baixo ponto de fumaça, quando submetido a altas temperaturas, perde o odor e o sabor. [30]

A química de alimentos e seus processos ainda não são totalmente conhecidos cientificamente. Não se sabe se hábitos tidos como comuns durante o preparo de um alimento podem causar algum mal a quem o consome. Dependendo do alimento e do tipo de preparação, as mais variadas substâncias tóxicas podem ser formadas, em quantidades variadas, assim como cada organismo reage de uma forma, tolerando maior ou menor ingestão, causando ou agravando doenças, [27] ou ainda, degradando compostos importantes nos alimentos. [5, 11, 25, 32, 40]

Existem vários métodos de cozimento que, em muitos casos, podem produzir mudanças significativas na salubridade dos gêneros alimentícios. Diversos autores relatam a importância de realizar processos de cozimento em temperaturas adequadas, visando conservar ao máximo as propriedades dos alimentos. [2, 4, 14, 16, 23]

E para realizar a avaliação das alterações do azeite de oliva submetido a processo térmico, optou-se por métodos instrumentais eletroquímicos, que estudam as relações entre a voltagem, a corrente e o tempo, durante a eletrólise em uma célula eletroquímica. Os métodos instrumentais são normalmente mais rápidos que os procedimentos puramente químicos. [22] A principal vantagem dos métodos eletroquímicos é a possibilidade, na maioria das vezes, de análise direta da amostra, o que é analiticamente conveniente, pois também apresentam a vantagem de terem baixo custo, facilidade e rapidez na sua aplicação, além de ser bastante adequados para a detecção de pequenas quantidades de espécies reativas. [20] Cabe destacar que a Voltametria Cíclica (VC) pode ser considerada uma técnica semi-quantitativa, [7] enquanto que a Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) é mais sensível, facilitando a detecção de espécies presentes no sistema em estudo.

Já na análise espectrofotométrica, quando a luz monocromática ou heterogênea incide sobre um meio homogêneo, uma parcela desta luz incidente é refletida, uma outra parcela é absorvida e o restante é transmitido. [22] O tratamento quantitativo da absorção de energia radiante pela matéria depende do princípio geral conhecido como Lei de Beer, onde, numa solução que é atravessada por uma radiação monocromática, a potência desta radiação será menor quanto mais ela penetrar no líquido e quanto maior for a concentração do material absorvente. [17]

Dessa forma, pode-se considerar que o método permite avaliar o efeito do calor sobre os lipídeos, pois no momento em que ocorrer degradação das substâncias quando submetidas à alta temperatura, tem-se modificações na energia radiante absorvida.

O objetivo deste trabalho é conhecer as modificações físico-químicas provenientes de processos de aquecimento com azeite de oliva extra-virgem – sabidamente uma gordura com propriedades diferenciadas, e também devido à falta de um consenso quanto à utilização ou não do azeite de oliva em processos de cozimento.

As temperaturas a serem testadas serão de 60 °C, 100 °C e 180 °C. A temperatura de 60 °C indica o início do processo de perda de compostos voláteis e água. [12] A temperatura de 100 °C simula o cozimento do alimento, junto com a água, enquanto as de 180 °C simulam o processo de fritura adequado (uma das amostras será mantida em 180 °C durante um intervalo de 30 minutos), seguindo informações constantes na literatura. [1, 2, 9, 21, 27, 32]

Cabe ainda destacar que, a importância deste estudo também está relacionado com o fato de que hoje no Brasil, parte do óleo vegetal residual do consumo humano é destinado à fabricação de sabões, entretanto, a maior parte é descartado na rede de esgotos. A pequena solubilidade dos óleos vegetais na água constitui um fator negativo no que se refere à sua degradação em unidades

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

de tratamento de despejos por processos biológicos e, quando presentes em mananciais utilizados para abastecimento público, causam problemas no tratamento da água, [15] portanto, conhecer as propriedades dos óleos frente aos tratamentos utilizados em processos de cozimento é de suma importância.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo das Amostras

As amostras de azeite de oliva extra-virgem (marca Monde, lote 005/2220, data de fabricação maio/2008) foram adquiridas em supermercado.

Primeiramente, foi separada uma alíquota de azeite em estado bruto, que foi mantido à temperatura ambiente até a realização dos procedimentos analíticos.

Após o aquecimento do azeite de oliva em uma chapa aquecedora, controlando-se as temperaturas em 60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos (todos com tolerância de ± 5 °C), com o uso de um termômetro, o azeite de oliva foi retirado e permaneceu nos copos de béquer até atingir temperatura ambiente.

As amostras foram analisadas em triplicatas para todos os ensaios.

Procedimento Analítico

Voltametrias

Diluiu-se as amostras em uma concentração 1:10 com álcool etílico P. A., em balão volumétrico de 25 mL e homogeneizou-se. [26] Transferiu-se o conteúdo para a célula eletroquímica. Para os ensaios de VC (Potenciostato-Galvanostato Autolab® PGSTAT 128N), utilizou-se uma janela eletroquímica entre - 2.000 mV a 2.000 mV, com velocidade de varredura: 50 mV. s^{-1}, sendo o eletrodo de referência um eletrodo de Ag/AgCl, o de trabalho, de platina (com área de 0,0314 cm^2) e como eletrodo auxiliar um fio de platina. Nos ensaios de VPD, procedeu-se as leituras no Potenciostato-Galvanostato Autolab® PGSTAT 128N, acoplado a uma célula eletroquímica com iguais característica à utilizada nos experimentos de VC, porém nestes experimentos foi utilizado eletrólito suporte (KCl 3 M), como parâmetros foram utilizados intervalo de 0 a 1 V, v = 30 $mV.s^{-1}$ e amplitude de pulso = 0,06 V. Todos os ensaios foram realizados em uma Gaiola de Faraday, e o software utilizado foi o GPES3 (*General Purpose for Electrochemical Systems*), da Autolab®.

Espectrofotometria

Transferiu-se uma alíquota de cada amostra para a cubeta de quartzo. Programou-se, no software, a faixa de varredura entre 900 e 190 nm. Procedeu-se as leituras no espectrofotômetro (*Cary* 100 Bio Varian UV *Visible Spectrophotometer*). As medições foram realizadas nas porções do espectro correspondentes ao ultravioleta (UV) e visível (Vis), medindo-se a energia radiante absorvida.

Análise Estatística

Para todos os resultados, foram realizadas análises estatísticas de variância (ANOVA). Estas análises foram utilizadas para testar a influência da temperatura nos parâmetros analíticos considerados. Avaliou-se a Probabilidade (P) e Valor da Análise de Variância (F).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1, tem-se o voltamograma cíclico do azeite de oliva antes e após a degradação térmica. Pode-se observar a ocorrência de uma onda de oxidação em torno de 0,500 V, o que se assemelha ao dado obtido em estudo anterior em relação ao α-tocoferol (0,600 V), [18] sendo que neste estudo foram utilizados eletrodos de trabalho de carbono vítreo. Na avaliação do voltamograma (Figura 1), verifica-se o decréscimo do pico de oxidação após o aquecimento das amostras em todas as temperaturas testadas.

Verifica-se que o aquecimento do óleo promove alteração da Reação de Evolução de Oxigênio (RDO), demonstrando a ocorrência de alterações no azeite de oliva quando submetido a tratamento térmico. Com o aquecimento do óleo, uma série extremamente complexa de reações produz alguns compostos de degradação. [13]

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

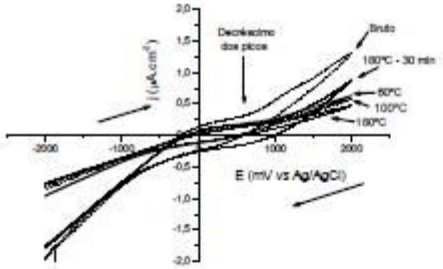


FIGURA 1 – Voltamograma Cíclico do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos). Potencial inicial = - 2.000 mV; primeiro potencial vertex = + 2.000 mV; segundo potencial vertex = - 2.000 mV; step potencial = 0,00195 V; v = 0,05 mV.s^{-1}.

Na Tabela 1, é possível visualizar os valores das cargas para cada amostra, obtidos nos ensaios de Voltametria Cíclica. Há a ocorrência de uma diminuição da carga do voltamograma de uma ordem de grandeza, devido à ação da degradação térmica, indicando que as espécies que estavam no sistema não mais estão presentes.

TABELA 1 – Valores de Carga (em Coulombs – C) do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos).

AMOSTRA	Valor de Carga (C)
Bruta	$1,30 \times 10^{-4}$
Após tratamento térmico (60 °C)	$5,97 \times 10^{-5}$
Após tratamento térmico (100 °C)	$6,65 \times 10^{-5}$
Após tratamento térmico (180 °C)	$4,77 \times 10^{-5}$
Após tratamento térmico (180 °C) – 30 min.	$6,72 \times 10^{-5}$

Em termos estatísticos, as diferenças de cargas não são significativas, sendo (p = 0,9420 e f = 0,1829).

Além da Voltametria Cíclica, também foram realizados ensaios de Voltametria de Pulso Diferencial, para complementar e confirmar os resultados encontrados. Na Figura 2, tem-se o resultado dos ensaios de voltametria de pulso diferencial do azeite de oliva antes e após a degradação térmica. Pode ser observado um pico na região de 0,500 V na amostra de azeite de oliva bruta, porém ocorre um decréscimo do mesmo após o processo de aquecimento. Quanto maior a temperatura aplicada e o tempo de exposição à mesma, o pico diminui, indicando uma possibilidade de oxidação de compostos. Um composto cuja característica de pico em torno de 0,500 V é o antioxidante α-tocoferol, [25] conforme já verificado nos ensaios de Voltametria Cíclica.

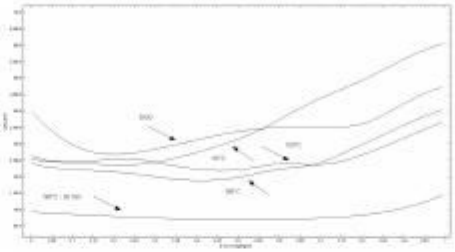


FIGURA 2 – Voltamograma de Pulso Diferencial do azeite de oliva com adição de eletrólito suporte KCl 3M, antes e após o tratamento térmico (60 °C, 100 °C, 180 °C e 180 °C durante 30 minutos), v = 30 mV.s^{-1}, amplitude de pulso = 0,06 V.

Este dado está de acordo com o estudo de Malheiro *et al*., 2009, que após aquecimento das amostras de azeite de oliva em forno micro-ondas, observaram pico na mesma região (0,5600 V) nas amostras brutas, porém, após o aquecimento, estes picos desapareceram, em ensaios de voltametria de pulso diferencial. Os autores relatam que este comportamento corresponde a uma oxidação irreversível deste composto na superfície do eletrodo. No ensaio com adição de padrão de α-tocoferol através de voltametria de pulso diferencial, este desaparece completamente no voltamograma após 1 minuto de aquecimento. Esse desempenho permite a utilização desta técnica eletroquímica para detectar a presença deste composto na matriz alimentar. [25]

Na Figura 3, tem-se a avaliação por espectrofotometria UV/Vis, na faixa entre 900 e 190 nm para as amostras de azeite de oliva estudadas.

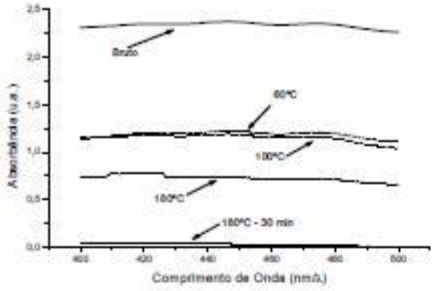


FIGURA 3 – Zoom do espectro UV/Vis do azeite de oliva, antes e após tratamento térmico (faixa e varredura 400 – 500 nm).

Alguns dos mais importantes parâmetros de qualidade do azeite são os valores de peróxido (A232 e A270). Estes nos informam sobre o estado de oxidação do azeite. [19] A232 está relacionada com a formação de peróxidos, hidroperóxidos e dienos conjugados. A270 depende de produtos de oxidação secundária formados por compostos de iniciação de oxidação detectados em 232 nm. [1]

Os compostos primários da oxidação apresentam valores máximos de absortividade na faixa entre 220 nm e 234 nm. [39] Na região próxima a 232 nm (Figura 3), observa-se um incremento do pico quando a amostra foi submetida a 60 °C, indicando a formação de compostos primários. Já nas outras temperaturas, verifica-se o decréscimo à medida que a temperatura aumenta, e na temperatura de 180 °C com permanência de 30 minutos de exposição, o decréscimo deste pico é mais acentuado, devido à instabilidade dos compostos formados.

A partir de 265 nm são os compostos secundários da oxidação (trienos, aldeídos, cetonas) que apresentam maior absorção. [39] Na região próxima a 270 nm, há uma diminuição dos compostos secundários até a temperatura de 100 °C. Quando submetido a 180 °C e a 180 °C durante 30 minutos verifica-se um aumento do pico, que indica a formação de dienos ou trienos conjugados, aldeídos e cetonas insaturados, e está de acordo com os resultados encontrados por Allouche *et al.* [1]

Cheikhousman; Zude; Bouveresse analisaram dois tipos de azeite de oliva extra-virgem, e observaram quantidades de hidroperóxidos pré-formados (ROOH), que diminuíram exponencialmente durante o processo de aquecimento, como resultado da sua degradação em produtos secundários da peroxidação. [11]

Na segunda etapa de oxidação, a de propagação, o oxigênio adiciona-se ao radical livre e forma um radical peroxila (ROO•). [34] Para Oetterer; Regitano D'Arce; Spoto, cada radical peroxila reage com os lipideos insaturados, retirando-lhes uma molécula de hidrogênio e convertendo-o a hidroperóxido (ROOH) [29]:

$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$

$ROO^{\bullet} + RH \rightarrow R^{\bullet} + ROOH$

$RO^{\bullet} + RH \rightarrow R^{\bullet} + ROH$

Os peróxidos, quando se convertem em hidroperóxidos, normalmente são insípidos e inodoros, além de não serem tóxicos ao organismo humano, e sim os seus derivados. Devido à sua instabilidade, os peróxidos são rapidamente formados e quebrados em compostos menores, porém os dienos conjugados que se formam concomitantemente, permanecem. Por reações de degradação, formam compostos secundários caracterizados principalmente por aldeídos e cetonas, que têm forte impacto sobre o aroma. O índice de peróxido não pode ser utilizado por não refletir o aumento da degradação do óleo com o tempo de fritura. [3, 10, 27, 29]

Segundo Tasioula-Margari & Okogeri (2001), o α-tocoferol e os fenóis podem ser detectados em 280 nm em espectrofotômetro UV/Vis. No presente estudo, há uma diminuição do pico nesta faixa à medida que o azeite é aquecido, indicando possível perda destes componentes antioxidantes no processo. [40] Para Bendini *et al.* (2009), tratamentos térmicos causam depleção em compostos antioxidantes, como compostos fenólicos e α-tocoferol. [6] Comparando-se métodos de cocção de azeite de oliva extra-virgem (forno micro-ondas e frigideira), Ruiz-Lopez *et al.* (1995) detectaram que há perda de α-tocoferol, sendo esta maior quando o processo de aquecimento foi realizado em frigideira. [35]

Em outro trabalho, verificou-se que, após o tratamento térmico nas amostras de azeite oliva, há a diminuição nos picos entre 200 e 300 nm, demonstrando

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

que houve alterações no sistema em estudo, podendo ser devido à degradação térmica. [26]

A partir da faixa entre 400 e 500 nm, conforme Figura 4, é possível verificar, que após o tratamento térmico, há a diminuição de picos, demonstrando a ocorrência de alterações no sistema em estudo, podendo ser devido à degradação térmica.

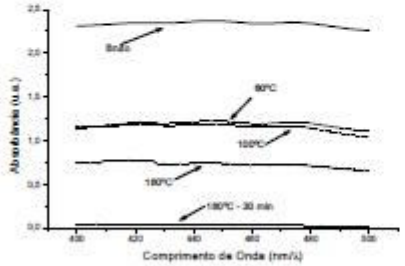


FIGURA 4 – Zoom do espectro UV/Vis do azeite de oliva, antes e após tratamento térmico (faixa e varredura 400 – 500 nm).

A 470 nm no espectro UV/Vis, observa-se a detecção dos carotenos, e a 670 nm, a de clorofila. [25] Clorofilas são pigmentos responsáveis pela coloração esverdeada de certos azeites, e os carotenos, à coloração amarela, e ambos são igualmente importantes para a estabilidade do azeite. [5] No presente estudo, há diminuição progressiva destes à medida que o azeite foi aquecido. Este resultado está de acordo com o estudo de Cheikhousman; Zude; Bouveresse, que observaram que a vitamina E teve uma diminuição exponencial em sua quantidade após a exposição ao calor. [11] Ayadi Grati-Kamoun; Attia também observaram a diminuição da quantidade destes pigmentos após exposição do azeite a diferentes temperaturas. [5]

Nissiotis & Tasioula-Margari, em experimentos com azeite de oliva aquecido, relatam que com a oxidação térmica, os derivados do hidroxitirosol são os primeiros antioxidantes que são perdidos (na presença de quantidade de peróxido entre 20-30 meq/kg). [28]

No estudo de Procida *et al.*, que avaliou a influência da composição química do azeite de oliva sobre o desenvolvimento de compostos voláteis durante a fritura, observaram que nenhum efeito positivo foi observado para os pigmentos (clorofilas e carotenóides), confirmando que, quando a alta temperatura foi aplicada, o efeito antioxidante destas moléculas termolábeis foram suprimidos. [32]

Estabilidade à oxidação é uma importante propriedade do azeite, que ocorre por interações sinérgicas entre os vários antioxidantes presentes e a composição lipídica. [41]

Katragadda *et al.* não recomendam reaquecimento dos óleos, pois os mesmos irão conter maior teor de ácidos graxos livres, o que, consequentemente, diminuirá o seu ponto de fumaça original, resultando no aumento das emissões de compostos voláteis em temperaturas mais baixas. [23] Para Marques; Valente; Rosa, deve-se também ter cuidado para que, durante os processos de aquecimento de óleos, a temperatura não ultrapasse 170 °C, já que em temperaturas mais elevadas, passam a ocorrer emissões de fumaça e início de processos oxidativos. [27]

CONCLUSÕES

Utilizando-se as técnicas eletroquímicas de voltametria cíclica e pulso diferencial, além da espectrofotométrica, foi possível avaliar as modificações ocorridas no azeite de oliva por meio das reações de oxi-redução ocorridas no sistema.

Estudos adicionais são necessários, mas estes ensaios mostram que, em função do alto custo do azeite de oliva extra-virgem e das perdas de compostos antioxidantes verificadas, deve-se dar preferência ao seu uso na forma bruta, como tempero de saladas e outros pratos.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Universitário Univates.

ABSTRACT: During the process of oil heating occur changes in its chemical structure, which may make them unsuitable for consumption. The olive oil as the main source of monounsaturated fats in the diet has been much research in health, indicating that their regular

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

consumption is health beneficial. Being an oil of high commercial value, it is interesting to know its behavior when subjected to heating processes at different temperatures to evaluate the physical and chemical changes, and guide the consumer on this practice. The aim of this study is to evaluate the physical and chemical behavior of the olive oil in its raw state and after thermal processing (60 °C, 100 °C, 180 °C and 180 °C for 30 minutes). Thus, electrochemical methods will be used (cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry) and, spectrophotometric UV/Vis in this investigation. Through these assays, it was possible to evaluate the changes in this lipid through the reactions of oxidation-reduction occurred in the system. Further studies are needed, but due to the high cost of extra-virgin olive oil and losses of antioxidant compounds found, should be preferred to its use in raw form, such as salad dressings and other preparations.

KEYWORDS: Vegetable Fats, Thermic Treatment, Chemical Properties.

REFERÊNCIAS

1. ALLOUCHE, Y. *et al.* How *Heating Affects Extra Virgin Olive Oil Quality Indexes and Chemical Composition. J Agr Food Chem*, v.55, n.23, p.9646-9654, 2007.

2. AMATTI, L. *et al. New Investigation of the Isothermal Oxidation of Extra Virgin Olive Oil: Determination of Free Radicals, Total Polyphenols, Total Antioxidant Capacity, and Kinetic Data. J Agr Food Chem*, v.56, n. 18, p.8287–8295, 2008.

3. ANDRADE, E. C. B. **Análise de Alimentos – Uma Visão Química da Nutrição**. São Paulo: Varela, 2006.

4. ANS, V. G.; MATTOS, E. S.; JORGE, N. Avaliação da qualidade dos óleos de fritura usados em restaurantes, lanchonetes e similares. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.19, n.3, Dez. 1999.

5. AYADI, M. A.; GRATI-KAMOUN, N. ; ATTIA, H. *Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. Food Chem Toxicol*, v.47, n.10, p.2613-2619, 2009.

6. BENDINI, A. *et al. Study on the effects on virgin olive oil blended with mildly deodorized olive oil: focus on the hydrolytic and oxidative state. J Agr Food Chem*, v. 57, n.21, p.10055-10062, 2009.

7. BIANCHETTI, P. *et al.* Avaliação eletroquímica e espectrofotométrica de soluções de rutina submetidas a ultrassom terapêutico. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, 10 (14): 139 – 148, 2009.

8. BRASIL. Resolução RDC nº 270, de 23 de set. 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Aprova o Regulamento Técnico referente a Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 set. 2005. Seção 1, nº 184, p. 372-3. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 08 nov. 2008.

9. CARRASCO-PANCORBO, A. *et al. Evaluation of the Influence of Thermal Oxidation on the Phenolic Composition and on the Antioxidant Activity of Extra-Virgin Olive Oils. J Agr Food Chem*, v.55, n.12, p.4771-4780, 2007.

10. CELLA, R. C. F., REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. Comportamento do óleo de soja refinado utilizado em fritura por imersão com alimentos de origem vegetal. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.22, n.2, p.111-116, 2002.

11. CHEIKHOUSMAN, R.; ZUDE, R.; BOUVERESSE, D. J. R. *Fluorescence spectroscopy for monitoring deterioration of extra virgin olive oil during heating. Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382 (6): 1438-1443, 2005.

12. CONI, E.; PODESTÁ, E.; CATONE, E. *Oxidizability of different vegetables oils evaluated by thermogravimetric analysis. Thermochim Acta*, v.418, n.1-2, p.11-15, 2004.

13. CORSINI, M. S.; JORGE, N. Estabilidade oxidativa de óleos vegetais utilizados em frituras de mandioca palito congelada. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26 (1): 27-32, 2006.

14. CORSINI, M. S. *et al.* Perfil de ácidos graxos e avaliação da alteração em óleos de fritura. **Quím. nova**, 31 (5), São Paulo, 2008.

15. DABDOUB, M. J. *et al.* Biodiesel em casa e nas escolas: iniciativa paulista pelo biodiesel / Programa de Coleta de Óleos de Fritura / Projeto Biodiesel na Educação Ambiental – Coletando óleo e salvando o meio

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

ambiente. Ribeirão Preto: Laboratório de Desenvolvimento de Tecnologias Limpas, 2006.

16. DASKALAKI, D. *et al. Evaluation of phenolic compounds degradation in virgin olive oil during storage and heating. J. Food Nutr Res*, v. 48, n.1, p.31-41, 2009.

17. EWING, G. W. **Métodos Instrumentais de Análise Química – vol. 1**, 10.a ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

18. FALCÃO, S. I. D. *Avaliação da actividade electroquímica em cogumelos silvestres*. 2008. 91 p. Tese apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 2008.

19. GALEANO, D. T. *et al. Spectrophotometric and Adsortive Stripping Square Wave Voltammetric Determination of Iron in Olive Oils, as Complex with 5,5-Dimethylcyclohexane-1,2,3-trione, 1,2-Dioxime 3-Thiosemicarbazone (DCDT). J Agr Food Chem*, 51: 3743-3747, 2003.

20. GANDRA, P. G. *et al.* Determinação Eletroquímica da Capacidade Antioxidante para Avaliação do Exercício Físico. **Quím. nova**, 27 (6): 980-985, 2004.

21. GERTZ, C.; KLOSTERMANN, S.; KOCHHAR, S. P. *Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, v.102, n.8-9, p.543-551, 2000.

22. JEFFERY, G. H. *et al.* **Vogel: Análise Química Quantitativa**. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 1992.

23. KATRAGADDA, H. R. *et al. Emissions of volatile aldehydes from heated cooking oils. Food Chem*, v.120, n.1, p.59-65, 2010.

24. LINOS, A. *et al. Dietary factors in relation to rheumatoid arthritis: a role for olive oil and cooked vegetables? Am J Clin Nutr*, v.70, p.1077-1082, 1999.

25. MALHEIRO, R. *et al. Effect of microwave heating with different exposure times on physical and chemical parameters of olive oil. Food Chem Toxicol*, v.47, n.1, p.92-97, 2009.

26. MARMITT, S; PENZ, L. R.; STÜLP, S. Avaliação eletroquímica da degradação térmica do azeite de oliva. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ELETROQUÍMICA E ELETROANALÍTICA (SIBEE), 2009, Fortaleza/CE. **Anais**... Fortaleza/CE, SIBEE, 2009, p. 187.

27. MARQUES, A. C.; VALENTE, T. B.; ROSA, C. S. Formação de toxinas durante o processamento de alimentos e as possíveis consequências para o organismo humano. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 22, n.2, p.283-293, 2009.

28. NISSIOTIS, M.; TASIOULA-MARGARI, M. *Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. Food Chem*, v.77, n.3, p.371-376, 2002.

29. OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri: Manole, 2006.

30. PHILIPPI, S. T. **Nutrição e Técnica Dietética**. 2.a ed. Barueri: Manole, 2003.

31. PIMENTEL, I. C.; MAGNONI, C. D.; COSTA, R. P. Utilização do azeite de oliva na prevenção e no tratamento das doenças cardiovasculares. **Departamentos da SOCESP**, v.17, n.1, 2007.

32. PROCIDA, G. *et al. Influence of chemical composition of olive oil on the development of volatile compounds during frying. Eur Food Res Technol*, v.230, p.217-229, 2009.

33. QUILES, J. L.; RAMÍREZ-TORTOSA, C.; YAQOOB, P. *Chemical composition, Types and Characteristics of Olive Oil. Olive Oil and Health. London*: CABI, 2006.

34. RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blucher: Instituto Mauá de Tecnologia, 2004.

35. RUIZ-LOPEZ, M. D. *et al. Stability of α-Tocopherol in Virgin Olive Oil during Microwave Heating. LWT - Food Science and Technology (Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie)*, v.28, n.6, p.644-646, 1995.

36. SABARENSE, C. M.; MANCINI FILHO, J. Ácidos graxos *trans* em alimentos: formação, consumo e métodos de análise. *Food Ingredients*, São Paulo, 25, 80-83, 2003.

37. SÁNCHEZ-GIMENO, A. C. *et al. Some physical changes in Bajo Aragón extra virgin olive oil during the frying process. Food Chem*, v.110, p.654-658, 2008.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

38. SÁNCHEZ-MUNIZ, F. J.; BASTIDA, S. *Effect on Frying and Thermal Oxidation on Olive Oil and Food Quality. Olive Oil and Health*. London: CABI, 2006.

39. SHAHIDI, F. *Stability of fats and oils. In: Latin American Congress and Exhibit on Fats and Oils Processings*, 6, Campinas, 1995. *Proceedings*. Campinas: Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras, p.47-54, 1995.

40. TASIOULA-MARGARI, M.; OKOGERI, O. *Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection. Food Chem*, v.74, n.3, p.377-383, 2001.

41. YOUSSEF, N. B. *et al. Effect of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of ch'etoui virgin olive oil. J Sci Food Agric*, v.90, p.199-204, 2010.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

ANEXO 2

Publicações em Anais de Eventos

UNIVATES

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

PG

Avaliação eletroquímica das alterações do azeite de oliva após tratamento térmico em diferentes temperaturas.

Lisângela R. Penz[1] (PG), Paula Bianchetti[2] (IC), Simone Stülp[1, 2] (PQ). *sstulp@univates.br*

[1] Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento (PPGAD). [2] Núcleo de Eletrofotoquímica e Materiais Poliméricos (NEMP). UNIVATES Centro Universitário – Lajeado/RS.

Palavras Chave: azeite de oliva, tratamento térmico, degradação.

Introdução

Durante o processo de aquecimento, os óleos passam por modificações em sua estrutura química, o que pode torná-los inadequados para consumo.
O azeite de oliva, por ser a maior fonte de gordura monoinsaturada da dieta, tem sido alvo de muitas pesquisas na área da saúde, indicando que o seu consumo regular é benéfico à saúde. Por ser um óleo de valor comercial mais alto, é interessante conhecer o seu comportamento quando submetido a processos de aquecimento em diferentes temperaturas, para avaliar as modificações ocorridas, e orientar o consumidor quanto a esta prática. O objetivo deste trabalho é avaliar o comportamento do azeite de oliva, em seus estados brutos e após o processo térmico (submetidos a 60°C, 100°C e 180°C), através de ensaios de voltametria cíclica.

Resultados e Discussão

Preparou-se quatro amostras de azeite de oliva, sendo que três foram submetidas a tratamento térmico em diferentes temperaturas (60 °C, 100 °C e 180 °C) e uma não. Em seguida, todas as amostras foram diluídas em álcool etílico P. A. (concentração 1:10).
Na caracterização das amostras de azeites, utilizou-se a técnica de voltametria cíclica, com velocidade de varredura de 50 $mV.s^{-1}$, com o auxílio de um potenciostato (Autolab 128 N), e uma célula convencional com três eletrodos - dois fios de platina (de trabalho e auxiliar) e um eletrodo de Ag/AgCl (referência). Procedeu-se os ensaios em triplicatas.
Na Figura 1, verifica-se que há um pico na região de 500 mV, característico desta amostra e a Reação de Evolução de Oxigênio (RDO) é mais vigorosa antes do processo térmico, evidenciando que há a degradação da amostra.
A oxidação pode afetar o valor nutricional dos alimentos através da decomposição de vitaminas, de ácidos graxos insaturados e também pela geração de compostos tóxicos[1].

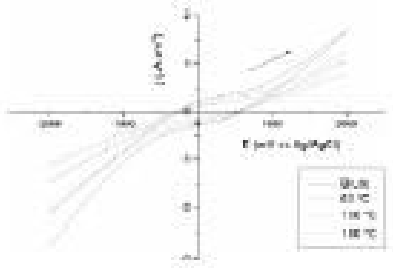


Figura 1. Voltamograma cíclico do azeite de oliva bruto e após processo térmico (60°C, 100°C e 180°C). v= 50 $mV.s^{-1}$

Estudos de oxidação de óleos relatam que o azeite de oliva submetido a processo térmico, em temperaturas entre 70°C e 160°C apesar de apresentar reações de oxidação, demonstra ainda uma resistência a este fenômeno, indicando que nesta fase ocorre predominantemente, perda de água e compostos voláteis; mas, acima dessa temperatura a taxa de oxidação aumenta rapidamente[2]. O conteúdo de pigmentos (clorofilas e carotenóides) é termo-lábil, pois a sua quantidade diminui à medida que o tempo de exposição aumenta. Esse fato é observável no ensaio de α-tocoferol por voltametria de pulso diferencial, que desaparece no voltamograma após 1 minuto de aquecimento[3], conforme literatura.

Conclusões

Evidenciou-se que o azeite de oliva modificou-se após ser submetido ao calor, ocasionando a ocorrência de processos oxidativos e possível perda de compostos antioxidantes. Através da avaliação eletroquímica é possível detectar desta degradação.

Agradecimentos

Ao Centro Universitário Univates.

[1] Ancorena, D.; Astiasaran, I. 2004, *Meat Science*, 67, 237–244.
[2] Coni, E.; Podesta, E.; Catone, E. *Thermochimica Acta*. 2004, 418, 11–15.
[3] Malheiro, R.; Oliveira, I.; Vilas-Boas, M.; Falcão, S.; Bento, A.; Pereira, J. A. *Food and Chemical Toxicology*. 2008, 47(1): 92-97.

FQ

XVII Encontro de Química da Região Sul (17-SBQSul)

Avaliação eletroquímica das alterações do azeite de oliva após tratamento térmico em diferentes temperaturas

NÃO PREENCHER

Lisângela R. Perz, Paula Bianchetti, Simone Stülp.
Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento (PPGAD). Núcleo de Eletrofotoquímica e Materiais Poliméricos (NEMP). UNIVATES Centro Universitário – Lajeado/RS.
Palavras Chave: azeite de oliva, tratamento térmico, degradação.

Resumo: Durante o processo de aquecimento, os óleos passam por modificações em sua estrutura química, o que pode torná-los inadequados para consumo. O azeite de oliva, por ser a maior fonte de gordura monoinsaturada da dieta, tem sido alvo de muitas pesquisas na área da saúde, indicando que o seu consumo regular é benéfico à saúde. Por ser um óleo de valor comercial mais alto, é interessante conhecer o seu comportamento quando submetido a processos de aquecimento em diferentes temperaturas, para avaliar as modificações ocorridas, e orientar o consumidor quanto a esta prática. O objetivo deste trabalho é avaliar o comportamento do azeite de oliva, em seus estados brutos e após o processo térmico (submetidos a 60 °C, 100 °C e 180 °C), através de ensaios de voltametria cíclica. Evidenciou-se que o azeite de oliva modificou-se após ser submetido ao calor, ocasionando a ocorrência de processos oxidativos e possível comprometimento de substâncias antioxidantes.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

Instituição: Univates
Financiador: Univates

NEUROCISTICERCOSE: FORMAS DE CONTAMINAÇÃO, MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E MEDIDAS PREVENTIVAS

Participante: Vanessa Sartori
vanessas@universo.univates.br
Orientadora: Magali Grave

Este trabalho tem como objetivo abordar as formas de contaminação, manifestações clínicas e medidas preventivas da neurocisticercose, doença relacionada à infecção do sistema nervoso central causada por um platelminto, a Taenia Solium. A alta incidência desta patologia está relacionada à precariedade das condições sanitárias e o baixo nível socioeconômico e cultural de países em desenvolvimento, cuja proliferação de hábitos deficientes de higiene e da ingesta de carne de porco e água contaminada aliam-se a sua disseminação. Após contaminação, a Taenia Solium se fixa através das ventosas e ganchos no intestino delgado do ser humano e ao alcançar a corrente sanguínea pode alojar-se em diferentes regiões encefálicas, onde sofre um processo de maturação e morte levando à formação de cisticercos, caracterizando desta forma a Neurocisticercose. As manifestações clínicas serão diferentes de pessoa para pessoa e dependerão da localização e da estrutura acometida pelo cisticerco, indo desde formas assintomáticas até lesões de estruturas importantes como o cérebro. É comum, nestes casos o aparecimento de cefaleia, crises epilépticas, lesão dos nervos óptico e abducente, distúrbios psíquicos, hipertensão intracraniana, dentre outras. O tratamento é diversificado e inclui o uso de medicamentos até a cirurgia. Conclui-se, a partir do exposto que esta doença não precisaria ser um problema de Saúde Pública Mundial e que medidas preventivas de saneamento básico, hábitos de higiene como lavar as mãos antes das refeições e após ir ao banheiro, aliados ao cozimento adequado da carne de boi e de porco e a correta lavagem de verduras e legumes, fariam diferença na quantidade de pessoas infectadas, visto que em torno de 500.000 pessoas morrem em decorrência desta doença a cada ano no cenário mundial.
Palavras-chave: Taenia Solium. Cisticerco. Higiene.

Instituição: Univates

ESTUDO DAS ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DO AZEITE DE OLIVA APÓS TRATAMENTO TÉRMICO

Participantes: Paula Bianchetti, Lisângela Penz, Sandro Marmitt
pbianchetti@gmail.com
Orientadora: Simone Stülp

O aquecimento de óleos vegetais é uma prática comum adotada por consumidores do mundo inteiro, sendo que o aquecimento pode torná-lo insalubre para o consumo humano. O azeite de oliva apresenta-se como a maior fonte natural de ácidos graxos monoinsaturados administrados na dieta humana. Os lipídeos, compostos neste produto, são constituídos

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

principalmente de glicerídeos, ácidos graxos e genericamente são chamados de óleos e gorduras, apresentam-se insolúveis em água e são representados principalmente por treacilgliceróis, fosfolipídeos e colesterol. O aquecimento ou não do óleo de oliva gera discussões e controvérsias, pois em vários países este óleo é utilizado aquecido a altas temperaturas para o preparo de alimentos, em contrapartida muitas vezes seu consumo é indicado preferencialmente na forma crua. O objetivo deste trabalho foi determinar o comportamento físico-químico do azeite de oliva após o seu aquecimento em diferentes temperaturas (60°C, 100°C e 180°C), para tanto foram realizadas análises espectrofotométricas, avaliação do índice de acidez e índice de peróxido assim como verificação do pH. Pode-se verificar através deste estudo que o azeite de oliva sofre alterações, demonstrando que os processos oxidativos gerados pelo aquecimento podem danificar a qualidade do azeite de oliva e assim gerar danos tanto à saúde humana, quanto ao meio ambiente quando este é descartado de forma incorreta após o uso.
Palavras-chave: Azeite de Oliva. Tratamento térmico. Óleos vegetais. NEMP. Núcleo de Eletrofotoquímica e materiais poliméricos.

Instituição: Univates

DOENÇA DE CHARCOT-MARIE-TOOTH

Participante: Fernanda Paula Trevisol
fernandatrevisol@universo.univates.br
Orientadora: Magali Grave

O objetivo deste trabalho é apresentar as principais características de uma doença genética denominada de Charcot-Marie-Tooth, que se caracteriza por acometimento dos nervos periféricos, levando gradativamente à atrofia e fraqueza dos músculos distais dos membros superiores e inferiores. Muitas vezes, causam deformidades das mãos e dos pés, alterações da sensibilidade e dos reflexos tendíneos. A neuropatia periférica de Charcot-Marie-Tooth é dos grupos mais comuns de neuropatias genéticas, afetando crianças e adultos com uma frequência relativamente alta (um caso para 2,5 mil pessoas). O mecanismo de herança pode ser autossômico dominante, recessivo ou ligado ao cromossomo X, com heterogeneidade genética, cujas mutações localizadas em diferentes cromossomos podem produzir quadros clínicos muito semelhantes. Em 97% dos indivíduos portadores da forma herdada, a primeira manifestação da doença acontece até os 27 anos de idade e um dado preocupante é que apenas uma pequena porcentagem desses pacientes chega a procurar a ajuda de médicos, pois geralmente os sintomas são leves e os pacientes se acostumam às limitações causadas pela evolução da doença. O diagnóstico da referida doença é dado através de exames clínicos, anamnese e realização de exames como eletroneuromiografia. É importante salientar que ainda não existe cura para a doença de Charcot-Marie-Tooth, mas pesquisas recentes apontam que o futuro do tratamento pode incluir o uso da terapia gênica de substituição, que pode envolver o uso de genes específicos para determinadas células, músculos e nervos utilizando fatores de crescimento, tais como os hormônios andrógenos, para evitar a deterioração causada pela doença de Charcot-Marie-Tooth. Enquanto os estudos de terapia gênica avançam, ressalta-se que a fisioterapia tem um papel fundamental nestes casos, pois exercícios de alongamento e fortalecimento muscular de baixo impacto podem evitar a perda muscular. Estes exercícios

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

XVII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ELETROQUÍMICA E ELETROANALÍTICA

Avaliação Eletroquímica da Degradação Térmica do Azeite de Oliva

Sandro Marmitt[1] (IC), Lisângela R. Penz[2] (PG), Simone Stülp[2] (PQ)

[1]Curso de Química Industrial, UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil;
[2]Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento (PPGAD), UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil.

RESUMO: Este trabalho apresenta a análise eletroquímica da degradação térmica de azeite de oliva. Quando submetidos a processo de aquecimento, os óleos sofrem processos de degradação, e portanto quando ocorrem modificações químicas, não há garantia de que as suas propriedades benéficas se mantenham após o aquecimento. Baseando-se nessa premissa, verificou-se as modificações eletroquímicas sofridas pelo azeite de oliva quando submetido a tratamento térmico, em três diferentes temperaturas (60°C, 80°C e 100°C) através de ensaios de voltametria cíclica. As amostras que sofreram aquecimento apresentaram aumento da carga do voltamograma devido à ação da temperatura.

***Palavras-Chaves**: degradação térmica, azeite de oliva, eletroquímica*

INTRODUÇÃO

Os óleos vegetais são amplamente empregados pela população nos processos de fritura, uma vez que esta desenvolve características de odor, sabor, cor e textura nos alimentos, tornando-os mais atrativos sensorialmente [1]. Estas características são dependentes de diferentes fatores, tais quais o equipamento utilizado, a temperatura, o tempo, o método de fritura, a relação superfície/volume e o tipo de óleo ou azeite [2, 3].

Entretanto, os óleos e azeites estão expostos a ação de agentes que diminuem sua qualidade e modificam sua estrutura durante o processo de fritura em si, sendo eles: rancidez hidrolítica, rancidez oxidativa e polimerização [2, 4]. Estes agentes são responsáveis pela formação de ácidos graxos livres, mono e diglicerídeos, glicerol, cetonas, aldeídos, éteres, polímeros, entre outros [1, 5, 6].

Além das questões citadas, também existem as relacionadas a degradação do meio ambiente. Tem-se consciência de que o lançamento de óleos de qualquer origem no meio ambiente é responsável pela poluição de rios e solos, uma vez que interfere na passagem de luz na água, retarda o crescimento vegetal, impede a transferência do oxigênio para a água, impermeabiliza o solo aumentando os problemas de enchentes, entre outros, devido ao alto teor de matéria orgânica destes produtos (azeite de oliva – 16000 mg.L^{-1} de lipídeos – concentração em água residuária) [7]. Estudos também indicam possíveis riscos de saúde em função do consumo de óleos que foram aquecidos como no caso de predisposição a arteriosclerose, ação mutagênica ou carcinogênica [8]. Portanto, a definição de métodos de análise da degradação de óleos possibilita uma maior utilização dos mesmos, com o aumento do tempo de vida útil e consequente geração de menor descarte.

O presente trabalho tem como objetivo a verificação das modificações eletroquímicas sofridas pelo azeite de oliva quando submetido a tratamento térmico, em três diferentes temperaturas (60°C, 80°C e 100°C) através de ensaios de voltametria cíclica.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Preparou-se duas amostras de azeite de oliva, sendo que uma parte foi submetida a tratamento térmico, e outra não. Uma amostra foi aquecida a 100°C em chapa aquecedora. No momento em que a amostra atingiu esta temperatura, uma alíquota foi retirada, e o processo de aquecimento foi mantido por mais 30 minutos. Após, a alíquota restante também foi retirada do processo térmico. O mesmo procedimento foi adotado nas temperaturas de 60°C e 80°C.

Em seguida, todas as amostras foram diluídas em álcool etílico P.A. (concentração 1:10) e submetidas à agitação magnética para homogeneização.

As amostras foram submetidas a ensaios de voltametria cíclica, cronopotenciométricos (+400mV) e espectrofotometria UV/Vis (Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis Spectrometer – faixa de comprimento de onda de 200 a 400 nm). Os ensaios foram feitos em triplicata.

Nos experimentos eletroquímicos foi utilizada uma célula eletroquímica convencional com três eletrodos, sendo o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo de platina e o eletrodo de referência Ag/AgCl, ao qual todos os potenciais são referidos. A janela eletroquímica foi de -1800mV a 1800mV, e a velocidade de varredura de 50mV.s^{-1}. O potenciostato utilizado é da Microquímica MQPG – 01.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 tem-se o voltamograma cíclico do azeite de oliva antes e após a degradação termica. Verifica-se que o aquecimento do óleo promove alteração da Reação de Evolução de Oxigênio (REO), demonstrando a ocorrência de alterações no azeite de oliva quando submetido a tratamento térmico. Estas alterações podem ser devido a aceleração da degradação de triglicerídeos, gerando produtos, tais como, ácidos graxos livres, ácidos graxos oxidados e polímeros [4].

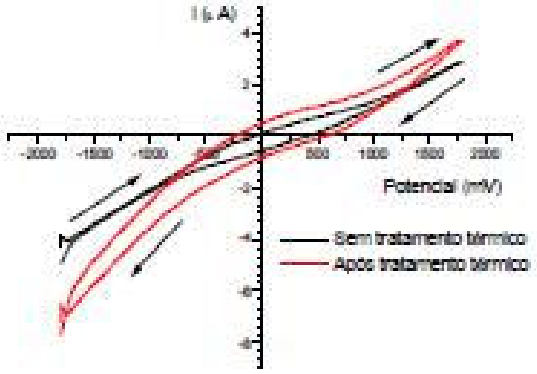


Figura 1: Voltamograma cíclico do azeite de oliva antes e após o tratamento térmico. v = 50 $mV.s^{-1}$

Avaliando-se a Figura 1 pode-se verificar a ocorrência de um aumento da carga do voltamograma devido a ação da degradação térmica. Sendo que os valores são 10,44 x 10^{-2} C e 35,91 X 10^{-2} C , respectivamente, antes e após o tratamento térmico.

Na Tabela 1, tem-se os valores relativos aos ensaios cronopotenciométricos (+ 400mV) em diferentes temperaturas (60°C, 80°C e 100°C).

Tabela 1: Valores de corrente antes e após tratamento térmico

Amostras	Temperatura (°C)	Densidade de corrente ($mA.cm^{-2}$)
Sem tratamento	-	0,38
Com tratamento	60	3,84
Com tratamento	80	4,79
Com tratamento	100	4,70

O azeite cru (sem tratamento) apresentou uma leitura de corrente elétrica muito baixa (0,38 mA) em relação ao aquecido a 60°C (3,84 mA), indicando que a esta temperatura já ocorrem alterações, ou seja, o óleo já sofre um processo de oxidação significativo.

Na Figura 2 verifica-se a presença de picos em regiões entre 200 e 300 nm [9]. Os picos presentes em regiões superiores a 265 nm representam compostos secundários de oxidação (trienos, aldeídos e cetonas), e em regiões próximas a 250 nm são referentes aos compostos primários de oxidação. Após o tratamento térmico há a diminuição destes picos, demonstrando a ocorrência de alterações no sistema em estudo, podendo ser devido à degradação térmica.

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)

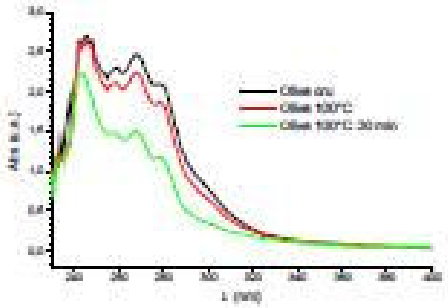


Figura 2: Espectro UV/Vis do azeite de oliva, antes e após tratamento térmico.

CONCLUSÕES

Por meio da avaliação dos resultados presentes neste trabalho, verifica-se que o aquecimento do azeite de oliva promove degradação térmica, ocasionando a ocorrência de processos oxidativos, bem como, verificou-se que a avaliação eletroquímica permite a detecção desta degradação.

AGRADECIMENTOS: UNIVATES.

REFERÊNCIAS

[1] Cella R. C. F., Regitano-D'Arce M. A. B. e Spoto M. H. F. "Comportamento do óleo de soja refinado utilizado em fritura por imersão com alimentos de origem vegetal". *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 22(2): 111-116, 2002.

[2] Corsini M. S. e Jorge N. "Estabilidade oxidativa de óleos vegetais utilizados em frituras de mandioca palito congelada". *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 26(1): 27-32, 2006.

[3] Malacrida C. R. e Jorge N. "Influência da relação superfície/volume e do tempo de fritura sobre as alterações da mistura azeite de dendê-óleo de soja". *Ciênc. Agrotec.* 30(4): 724-730, 2006.

[4] Jorge N., Soares B. B. P., Lunardi V. M. e Malacrida C. R. "Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho e soja em frituras". *Quim. Nova.* 28(6): 947-951, 2005.

[5] Neto P. R. C., Rossi L. F. S., Zagonel, G. F. e Ramos L. P. "Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras", *Quim. Nova.* 23(4): 531:537, 2000.

[6] Vergara P., Wally A. P., Pestana V. R., Bastos C. e Zambiazi R. C. "Estudo do comportamento de óleo de soja e de arroz reutilizados em frituras sucessivas de batata", *R. CEPPA.* 24(1): 207-220, 2006.

[7] Mendes, A.A.; Castro, H.F.; Pereira, E.B.; Furigo Junior, A.; Aplicação de Lipases no tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos, Quim. Nova, v. 28, n.2, 296-305, 2005.

[8] Jorge N. e Lunardi V. M. "Influência dos tipos de óleos e tempos de fritura na perda de umidade e absorção de óleo em batatas fritas". *Ciênc. Agrotec.* 29(3): 635-641, 2005.

[9] Galeano Díaz, T.; Guiberteau, A.; López Souto, M.D.; Ortiz, J.M.; Spectrophotometric and Adsortive Stripping Square Wave Voltammetric Determination of Iron in Olive Oils, as Complex with 5,5-Dimethylcyclohexane-1,2,3-trione, 1,2-Dioxime 3-Thiosemicarbazone (DCDT), J. Agric. Food Chem., 2003, 51, 3743-3747.

e-mail do autor principal: stulp@univates.br

BDU – Biblioteca Digital da UNIVATES (http://www.univates.br/bdu)