



Perda dos antioxidantes do azeite de dendê com aquecimento

Cristiane Lázaro¹, Felipe Mascarenhas², Núbia Moura Ribeiro³

¹ Mestranda da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. e-mail: lazarocirs@hotmail.com

² Graduando em Engenharia Química do IFBA. Bolsista do PIBITI. e-mail: lipe.mascarenhas@hotmail.com

³ Doutora em Química. Professora do IFBA. e-mail: nubia@ifba.edu.br

Resumo: O azeite de dendê é um óleo vegetal rico em lipídeos muito utilizado na culinária nordestina. Além disso, é o segundo óleo vegetal mais consumido atualmente, perdendo apenas para o óleo de soja. Apesar da grande quantidade de lipídeos, o azeite de dendê também apresenta em sua composição tocoferóis, compostos que apresentam atividade antioxidante e vitamínica. É possível que o aquecimento do azeite de dendê cause degradação destes tocoferóis. Foram quantificados os tocoferóis presentes no azeite de dendê da marca Opalma, indicado por baianas que vendem acarajé em Salvador. Analisou-se o azeite in natura, aquecido por 5 minutos e aquecido por 20 minutos. A determinação e a quantificação foram feitas através de cromatografia líquida de alta eficiência e da validação do método cromatográfico, através das figuras de mérito: seletividade, linearidade, limite de detecção e de quantificação, repetitividade e exatidão.

Palavras-chave: azeite de dendê, tocoferóis, validação de método cromatográfico

1. INTRODUÇÃO

A culinária nordestina utiliza habitualmente diversos ingredientes ricos em lipídeos, destacando-se o azeite de dendê empregado principalmente em moquecas, acarajés e abarás. O azeite de dendê (óleo de palma ou óleo de dendê) é extraído da polpa do fruto do dendezeiro, e é rico em vitamina A e vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis) (CERECETTO, 2007). Difere do óleo de palmiste que é extraído da semente. Cerca de 80% da produção mundial do azeite de dendê é destinada a aplicação alimentícia. Bastante utilizado mundialmente, ocupa o segundo lugar no ranking dos óleos vegetais mais consumidos, perdendo apenas para o óleo de soja. Sua grande utilização deve-se ao seu baixo custo de produção e vasta aplicação.

Considerando o consumo frequente de azeite de dendê no Nordeste – com elevado teor de lipídeos –, especialmente na Bahia, vale destacar que alguns estudos têm analisado os efeitos dos níveis de lipídeos na dieta de pacientes que sofrem de doenças crônicas. Observa-se que em populações cujas dietas têm excessivo teor de gordura ocorre maior número de mortes por doenças coronarianas (LIMA et al., 2000). A crescente incidência das doenças cardiovasculares originou uma busca pelos fatores de risco relacionados a elas (CHOR et al., 1999; RIQUEL et al., 2002). Dentre os fatores de risco, estão alguns hábitos relacionados ao estilo de vida, como dieta rica em calorias, gorduras saturadas, colesterol e sal (LIMA et al., 2000). A mudança de hábitos alimentares pode reduzir os fatores de risco das doenças cardiovasculares, sendo, além disso, intervenções de custo moderado, quando comparadas com os ascendentes orçamentos dos tratamentos medicamentosos e dependentes de alta tecnologia (RIQUEL et al., 2002). Surpreendentemente, Ladeia et al. (2008) sugere que uma suplementação diária com azeite de dendê não cozido proporcionou uma significativa redução nos níveis de triglicérides séricas dos indivíduos voluntários jovens e saudáveis. O trabalho destes autores não discute a possibilidade de tais resultados serem fruto do significativo teor de antioxidantes apresentado por este azeite.

Nas moquecas baianas, o azeite de dendê é usado para cozimento do peixe, e no acarajé, é usado na fritura da massa. Esse azeite destaca-se de outros óleos vegetais por seu elevado teor de antioxidantes. Os antioxidantes protegem o organismo das espécies reativas de oxigênio que podem provocar a alteração dos componentes lipídicos da membrana plasmática, num processo chamando lipoperoxidação e a membrana perde suas funções (permeabilidade, transporte, etc.).

A cor avermelhada do azeite de dendê é decorrente da presença de carotenos, tocoferóis e tocotrienóis. Os tocoferóis e tocotrienóis são considerados substâncias redutoras dos níveis de colesterol. O azeite de dendê tem sido utilizado como fonte de carotenoides no combate à deficiência de vitamina A (MANORAMA et al, 1996), bem como na prevenção à arteriosclerose (KRITCHEVSHY et al., 2002). A fração rica em tocotrienóis do azeite de dendê pode ser um substituto economicamente viável ao alfa-tocoferol (KAMAT; DEVASAGAYAM, 1995). A Figura 1 mostra os tocotrienóis mais comuns encontrados no azeite de dendê.

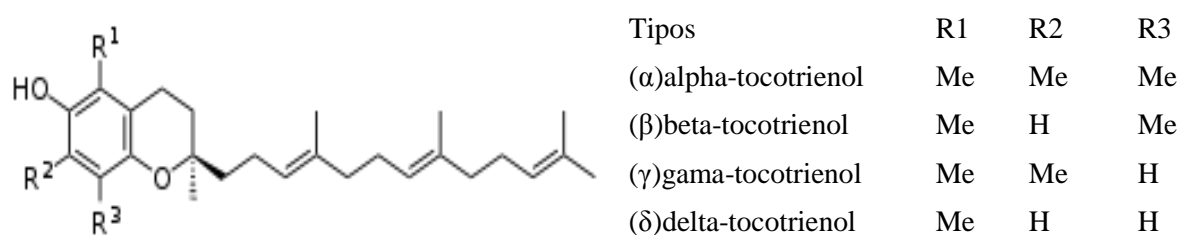


Figura 1 - Tocotrienóis mais comuns encontrados no azeite de dendê

Os tocoferóis (α , β , γ e δ) são derivados metil substituídos do tocol e diferem entre si pelo número e posição dos grupos metila presentes (LIMA, J. R. et al., 2000). Os tocoferóis além de apresentarem atividade antioxidante, apresentam atividade vitamínica.

A determinação e quantificação destes compostos no azeite de dendê são feitas de forma efetiva através da utilização da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e de um detector de radiação UV-visível. Essa técnica analítica consiste no arraste do analito (amostra a ser analisada) por uma fase móvel através de uma coluna que contém diminutas partículas de uma fase estacionária, com o uso de uma bomba de alta pressão. A separação dos constituintes do analito se dá pela diferença de interações intermoleculares entre estes e as duas fases. Posteriormente, o detector registrará os sinais observados em cada tempo de saída, para ser feita a relação entre a área do sinal observado e a concentração do constituinte a que esse sinal corresponde.

A pesquisa é baseada na hipótese de que os tocoferóis presentes no azeite de dendê sofrem degradação quando o azeite é aquecido (SANIBAL; MANCINI FILHO, 2002).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para realização desta pesquisa foi utilizado um azeite de dendê encontrado em feiras e supermercados da capital baiana, de marca Opalma, no prazo de validade. Esta foi a marca de azeite recomendada pelas baianas que comercializam acarajés nesta cidade. Foram analisadas amostras do azeite in natura bem como do azeite aquecido, após emissão de vapores, por mais 5 minutos (atingindo a temperatura de 168°C) e por mais 20 minutos (atingindo a temperatura de 196°C).

As amostras a serem analisadas cromatograficamente foram preparadas a partir da diluição de alíquotas do azeite in natura coletadas da fase líquida – ou seja, sem a presença dos precipitados esbranquiçados comuns nestes azeites –, e a partir de alíquotas coletadas das amostras do azeite aquecido por 5 e por 20 minutos. As amostras a serem analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram diluídas em cicloexano (marca Merck).

As análises cromatográficas foram realizadas em Equipamento HPLC Varian Polaris, sistema de bombas binário, com detector de UV, tendo como sistema de controle o software Varian Star Chromatography Workstation – versão 6.41. As análises utilizaram coluna: Varian Microsorb MV 300-5 C-18, 4,6 x 25 cm, com partículas de 5 μ m de diâmetro. A eluição foi isocrática, utilizando como fase móvel metanol:água 97:3, com fluxo de 1,0 mL/min. O volume da serpentina de injeção foi de 20 μ L. O comprimento de onda de absorção foi de 230 nm. O metanol empregado foi grau HPLC (Vetec).



A quantificação dos tocoferóis pode ser realizada por método certificado (IUPAC-AOAC, 1992), porém neste trabalho utilizou-se uma metodologia ajustada às condições disponíveis na maioria dos laboratórios de análise instrumental. A quantificação foi realizada por padronização externa com o tocoferóis fornecidos pela Sigma Aldrich (Tocoferóis, código W530066) e, para a validação do método, foram levadas em consideração as seguintes figuras de mérito: seletividade, linearidade, limite de detecção e de quantificação, repetitividade e exatidão.

2.1. Seletividade

A seletividade do método é garantida após a comparação do cromatograma do solvente, da fase móvel e do analito, e a constatação de que os dois primeiros não apresentam resposta próxima ao tempo de retenção do último.

2.2. Linearidade da curva analítica

Para obtenção da curva analítica foram analisadas triplicatas das amostras, sendo o conjunto de concentrações igualmente espaçado. As curvas foram construídas com sete níveis de concentrações diferentes do padrão, com as áreas dos picos cromatográficos correspondentes às mesmas – a área foi obtida pela média de três medidas relativas a cada concentração. A linearidade da curva foi avaliada através do ajuste da curva da média das áreas. A precisão das medidas foi garantida por um desvio-padrão relativo – RSD – <5%. A linearidade da curva foi garantida por um coeficiente de correlação >0,99.

2.3. Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção e o limite de quantificação foram obtidos através do desvio-padrão do coeficiente linear da curva analítica e do coeficiente angular da curva (RIBANI et al, 2004).

2.4. Exatidão

A exatidão do método foi avaliada através do ensaio de recuperação, que consiste na adição de padrão ao analito e avaliação da porção analítica do material teste que é extraída e passível de ser quantificada. Faz-se a análise em triplicata, e o método é considerado exato quando as áreas obtidas implicam em RSD<20% e média entre 70 e 120% do valor esperado.

2.5. Repetitividade

Foi avaliada a repetitividade, que indica a variação das medidas no mesmo laboratório no mesmo dia, avaliando três níveis de concentração. A precisão será expressa pela estimativa do RSD.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para análise da perda dos tocoferóis após aquecimento, foi escolhido como padrão externo o δ -tocoferol. Serão apresentados os resultados das figuras de mérito para validação do método e, em seguida, a quantificação do δ -tocoferol nas amostras do azeite in natura, aquecido por 5 e por 20 minutos.

3.1. Seletividade

O método apresentou-se seletivo, pois o cromatograma referente à passagem do solvente não apresentou resposta nos tempos de retenção dos tocoferóis, como pode ser visto na Figura 2.

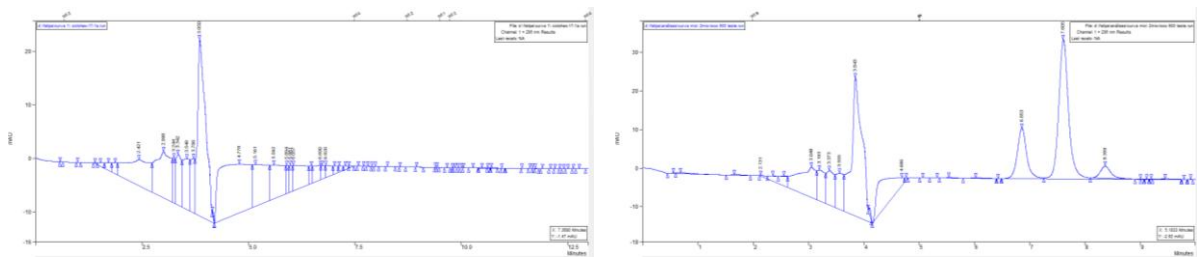


Figura 2 - Cromatograma do cicloexano e cromatograma do padrão de tocoferóis

3.2. Curva analítica

Foi construída a curva analítica para o padrão do δ -tocoferol, obtida a partir das médias das áreas equivalentes às seguintes concentrações, analisadas em triplicatas, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Dados para a construção da curva analítica do padrão de δ -tocoferol.

Concentração (mg/ml)	Média da área do pico
0,03768	867776,3
0,04710	1014752,7
0,05652	1144988,0
0,06594	1291000,7
0,07536	1364941,0
0,08478	1526122,0
0,09420	1628003,3

A curva obtida está apresentada na Figura 2.

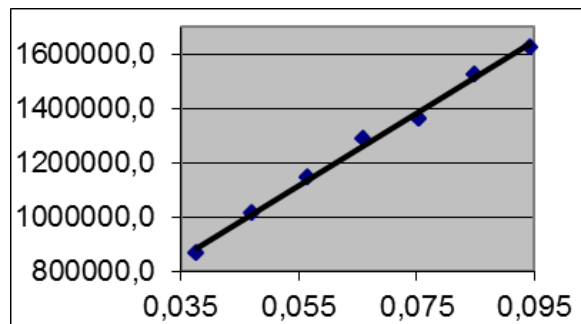


Figura 2 – Curva analítica para determinação do δ -tocoferol

O ajuste da curva analítica apresentou um coeficiente de correlação igual a $R^2=0,9954$ e a equação da curva é mostrada na Eq. 1, onde y indica a concentração e x a área da banda cromatográfica:

$$y = 13358252x + 381669 \quad (\text{Eq. 01})$$

3.3. Limite de detecção e limite de quantificação



Os limites de detecção e de quantificação para o δ -tocoferol foram, respectivamente, 0,00684 e 0,02074 mg/ml.

3.4. Exatidão

A exatidão foi avaliada por meio de ensaio de recuperação. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Dados do ensaio de recuperação

	Padrão	Amostra
Média das áreas	155619549	124034550
RSD	2,1	0,8

A partir dos dados a Tabela 3, obtém-se um percentual de recuperação de 79,70%. Como o intervalo aceitável é de 70 a 120% (RIBANI et al, 2004), considera-se, portanto, o método exato.

3.5. Repetitividade

Na avaliação da repetitividade, o maior RSD encontrado foi 4,09%. Como é aceitável o RSD de até 5%, considera-se o método preciso.

3.6. Análise das amostras

Os resultados das análises das amostras em triplicatas do azeite Opalma, para o δ -tocoferol, são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 – Teor de δ -tocoferol nas amostras de azeite de dendê

Aquecimento	Concentração média (mg/mL)
<i>In natura</i>	0,04471
5 minutos	0,03339
20 minutos	nd

Nota: nd = não determinado (abaixo do limite de determinação).

Observa-se, portanto, que com 5 minutos de aquecimento ocorre um decréscimo de 25,32% da concentração do δ -tocoferol, e com 20 minutos de aquecimento ocorre degradação total do mesmo.

6. CONCLUSÕES

O azeite de dendê difere de vários outros produtos vegetais lipídicos por seu teor de carotenoides e antioxidantes. Seu perfil lipídico contendo cerca de 50% dos ácidos graxos saturados e 50% insaturados fornece características nutricionais interessantes, e daí decorre o fato de ser um dos mais usados na indústria alimentícia. Entretanto, vê-se, por meio deste trabalho, que alguns benefícios nutricionais do azeite de dendê são perdidos com o aquecimento.

Com base nos resultados aqui obtidos, pode-se dizer que é recomendável que o azeite de dendê seja preferencialmente utilizado *in natura* e, quando o aquecimento for indispensável, que ele seja sujeito ao aquecimento pelo menor intervalo de tempo possível.



No caso de moquecas, para preservar o valor nutricional do azeite de dendê, uma sugestão para o preparo deste prato é fervê-la sem a adição de azeite, quando o peixe ou o marisco estiver cozido, desliga-se o fogo e então adiciona-se o azeite de dendê.

AGRADECIMENTOS

Ao IFBA e ao CNPq pela concessão de bolsa de iniciação tecnológica.

REFERÊNCIAS

- CERECETTO, H; López. Antioxidants derived from vitamin E: an overview. **Mini reviews in medicinal chemistry** 7 (3): 315–38, . 2007.
- CHOR, D., FONSECA, M.J.M., ANDRADE, C.R., WAISMANN, W., LOTUFO, P.A. Doenças cardiovasculares: panorama da mortalidade no Brasil. In: Minayo MC, editor. **Os muitos Brasis**. 2a ed. Rio de Janeiro: Hucitec-Abrasco, 1999; 57-86.
- IUPAC-AOAC. Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by high performance liquid chromatography. In: International Union of Pure and Applied Chemistry. **Method 2432 in Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives**. Pergamon Press, Oxford, 7th edn., 1o supl., method 2432, 1992.
- KAMAT, J.P.; DEVASAGAYAM, T. P. Tocotrienols from palm oil as potent inhibitors of lipid peroxidation and protein oxidation in rat brain mitochondria. **Neurosci Lett**. 11;195(3):179-82, Aug 1995.
- KRITCHEVSKY, D.; TEPPER, S. A.; CZARNECKI, S. K.; SUNDRAM, K. Red palm oil in experimental atherosclerosis. **Asia Pacific J. Clin. Nutr.** 11: S433-437, 2002.
- LADEIA, A.M., MATOS, E.C., PASSOS, R.B., GUIMARAES, A.C. A palm oil-rich diet may reduce serum lipids in healthy young individuals. **Nutrition**, 24(1):11-5, Jan 2008.
- LIMA, F.E.L, MENEZES, T. N., TAVARES, M. P., SZARFARC, S. C., FISBERG, R M. Ácidos Graxos e Doenças Cardiovasculares: Uma revisão. **Rev. Nutr.**, Campinas, 13(2): 73-80, maio/ago., 2000.
- MANORAMA, R.; BRAHMAM, G. N.; RUKMINI, C. Red palm oil as a source of beta-crotenone for combating vitamin A deficiency. **Plant Foods Hum. Nutr.**, 49(1): 75-82, 1996.
- RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, São Paulo, 27 (5), 771- 780, 2004.
- RIQUEL, A.B.R., SOARES, E.A., MEIRELLES, C.M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Rev. Bras. Med. Esporte**, 8 (6), Nov/Dez, 2002.
- SANIBAL, E. A. A.; MANCINI FILHO, J. Alterações Físicas, Químicas e Nutricionais de Óleos Submetidos ao Processo de Fritura. **Food Ingredientes** (São Paulo), 18 (18), 64, 2002.