

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA CONTROLE DE QUALIDADE DE ÓLEOS COMESTÍVEIS FUNCIONAIS UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO E QUIMIOMETRIA

José Marcelino de Souza Netto¹; Fernanda Araújo Honorato²

¹Estudante do Curso de Engenharia Química.- CTG – UFPE; E-mail: marcelinosouzanetto@hotmail.com,

²Docente/pesquisador do Depto de Engenharia Química – CTG – UFPE. E-mail: fernanda.fah@gmail.com.

Sumário: O óleo de alho comercializado na forma de cápsulas é tido como alimento funcional por apresentar características terapêuticas. Entretanto, não há legislação que estabeleça uma especificação quanto ao seu teor nas cápsulas, nem metodologias para essa determinação. Este trabalho apresenta o desenvolvimento de uma metodologia que utiliza espectroscopia no infravermelho médio e classificação multivariada para avaliar o teor de óleo de alho em cápsulas. Para tanto, foram obtidos espectros de misturas de óleo de alho com óleo soja em diferentes concentrações de óleo de alho (0,25% a 1,75%). A análise discriminante linear (LDA) e por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) foram utilizadas no desenvolvimento dos modelos de classificação considerando todas as variáveis (3080 a 2770 cm^{-1} e 1850 a 650 cm^{-1}) e um subconjunto de variáveis (1010 cm^{-1} - 900 cm^{-1}) onde a magnitude dos sinais variaram em função do teor de óleo de alho. Os modelos de classificação LDA utilizou seleção de variáveis pelo algoritmo das projeções sucessivas (APS), o algoritmo genético (GA) e o stepwise (SW). Na classificação das cápsulas comerciais, as taxas de classificação corretas, em geral, foram melhores utilizando a região completa, obtendo-se 98,6%, 93,3% e 81,7% para os modelos PLS-DA, LDA-APS, LDA-GA, respectivamente. Os resultados são satisfatórios e sugerem que a metodologia pode ser utilizada como análise *screening* para avaliação das cápsulas comerciais.

Palavras-chave: análise *screening* ; óleo de alho; infravermelho; PLS-DA, LDA

INTRODUÇÃO

Buscando uma melhor qualidade de vida, os consumidores estão sempre atentos a autenticidade e qualidade dos alimentos ofertados. Diariamente a mídia reporta informações sobre produtos de qualidade e/ou sobre não conformidades de produtos alimentícios. Isso gera preocupação com a qualidade e a segurança desses produtos, questões importantes que estão diretamente relacionadas com a saúde das pessoas e com o progresso social. Essa preocupação associada à busca por uma vida saudável tem levado o mercado a ofertar cada vez mais alimentos com características ditas funcionais. De acordo com a ANVISA, alimentos funcionais são aqueles que podem além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzirem efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica (ANVISA, 1999). O óleo de alho comercializado e consumido na forma de cápsulas moles, tem tido grande procura pela população devido às suas propriedades benéficas ao metabolismo humano. O alho (*Allium sativum*) possui em sua composição diversos nutrientes importantes para o bom funcionamento do organismo (flavonoides, pectinas, aminoácidos, compostos fenólicos, adenosina, ferro, iodo, silício, compostos sulfurados e selênio, vitaminas B1, B2, B6 e C, e alicina). Os benefícios encontrados no alho devem-se aos seus componentes, principalmente nos que são derivados de enxofre, sendo o mais importante a alicina que detém a maioria das propriedades farmacológicas e é responsável pelo odor

característico, sendo eficaz na prevenção da hipertensão, no tratamento de diabetes, redução do risco de enfarte e ainda na prevenção do aumento de peso (ALMEIDA et al, 2009). A alicina é produzida nas células do alho fresco quando estes são manipulados, o dente de alho quando é cortado, suas paredes celulares se partem e uma enzima chamada aliinase é liberada e transforma biossinteticamente a aliina em alicina (ILIC et al, 2011). O óleo de alho é comercializado em cápsulas gelatinosas, mas não há legislação que estabeleça uma especificação quanto ao seu teor nas cápsulas. A informação que se tem é que são misturas e que pelos rótulos comerciais estas contêm cerca de 1,00% do óleo de alho.

Apesar das características benéficas dos alimentos funcionais estes têm sido adulterados com matérias-primas mais baratas, o que traz prejuízos aos consumidores não só no aspecto econômico, mas também à saúde, uma vez que o tratamento alternativo não ocorre. Considerando que não há legislação estabelecida quanto ao controle de qualidade desse tipo de alimento funcional, reveste-se de importância o desenvolvimento de métodos de análise simples e rápidos para constatação da autenticidade e/ou adulteração desses produtos.

A autenticidade de óleos comestíveis tem sido avaliada por diferentes técnicas analíticas, todavia, não foram encontradas publicações referentes à análise de autenticidade e adulteração por espectroscopia no infravermelho para o óleo de alho.

A espectroscopia no infravermelho baseia-se na emissão ou absorção de energia radiante na região do espectro eletromagnético que vai de 12.800 a 10 cm^{-1} . A região é dividida em três sub-regiões: infravermelho próximo (12.800 a 4.000 cm^{-1}), infravermelho médio (4.000 a 200 cm^{-1}) e infravermelho distante (200 a 10 cm^{-1}). A radiação incidente causa transições de moléculas de estados de energia vibracional ou rotacionais para outros, fornecendo informações úteis que podem ser observadas em seus espectros. Apenas moléculas com variação de momento de dipolo diferente de zero durante seu movimento rotacional ou vibracional conseguem absorver radiação infravermelha (PASQUINI, 2003). Devido a esta propriedade a espectroscopia IR é vastamente utilizada na identificação de compostos de origem orgânica e para fins de quantificação. A técnica apresenta vantagens como simplicidade instrumental, relativo baixo custo, rapidez, além de não ser destrutiva e também não necessitar de nenhum ou quase nenhum pré-tratamento das amostras, além de medir um elevado número de variáveis em uma única amostra, necessitando de ferramentas que ajudem a tratar e extrair informações qualitativa e quantitativa relevantes. No cenário atual, as ferramentas que têm sido utilizadas na extração de informações relevantes de dados multivariados, muitas vezes complexos e de difícil interpretação são os de planejamento e otimização de experimentos, reconhecimento de padrões/classificação de objetos e a calibração multivariada (NAES et al, 2002).

As técnicas de reconhecimento de padrões visam extrair informação e detectar tendências nos dados. Podem ser classificadas em supervisionadas e não supervisionadas (BEEBE, 1998). As técnicas não supervisionadas identificam agrupamentos naturais entre as amostras onde a separação de classes acontece sem a necessidade de informações iniciais sobre a natureza das amostras (BEEBE, 1998). Destacam-se a análise por componentes principais (PCA) e a análise de agrupamentos hierárquicos (HCA). Já as técnicas de reconhecimento de padrões supervisionadas fazem o uso de informações adicionais sobre os membros das classes. Assim, os valores fornecidos pelo instrumento são relacionados com os índices de classes e modelos multivariados e validados classificam amostras de identidade desconhecida. Destacam-se a análise discriminante linear (LDA) e análise discriminante pelos mínimos quadrados parciais (PLS-DA). A LDA é bastante comprometida por problemas de colinearidade, técnicas de redução ou seleção de variáveis são utilizadas para construção dos modelos. Diferentes técnicas de seleção de variáveis

com diferentes filosofias podem ser utilizadas, em especial, o algoritmo das projeções sucessivas (APS), algoritmo genético (GA) e o stepwise (SW). O sucesso de uma análise multivariada depende da eliminação de informações irrelevantes quimicamente para tornar a matriz de dados melhor condicionada para a análise. As técnicas de pré-processamento permitem corrigir espalhamento de luz, deslocamentos de linha de base, efeitos aditivos e multiplicativos devido a forma de apresentação das amostras.

MATERIAIS E MÉTODOS

Em função do valor do teor de óleo de alho observado nos rótulos das cápsulas comerciais e considerando o perfil espectral dessas amostras, 121 misturas foram preparadas a partir de padrões de óleo de alho adquiridos na Sigma Aldrich e óleos de soja comerciais (5 marcas) considerando fração mássica de óleo de alho no intervalo de 0,25% a 1,75% (0,25%; 0,5%; 0,75%; 1,00%; 1,25%; 1,50%, 1,75%). As massas dos componentes da mistura eram pesadas em um vidro de relógio e a mistura mantida sob agitação durante 3 minutos para garantir a homogeneidade. Os espectros foram obtidos na região do infravermelho MIR utilizando um espectrômetro FT-IR Spectrum 400 da Perkin Elmer, com o acessório UATR (Universal Accessory Total Reflectance). Para eliminar informações irrelevantes diferentes pré-processamentos foram testados (SNV, MSC e Derivada por filtros Savitzky Golay) e sua eficiência avaliada a partir dos resultados da PCA. O conjunto de dados foi dividido em subconjuntos de treinamento (70%) e validação (30%) usando o algoritmo Kennard-Stone (KS), onde as amostras são selecionadas em função da maximização da distância euclidiana entre os vetores das respostas instrumentais das amostras. Os modelos de classificação PLSA-DA e LDA foram calculados utilizando o programa The Unscrambler® X1 (CAMO S/A) e Matlab® 7.10, respectivamente. Os conjuntos de treinamento e validação (KS) e as seleções de variáveis (APS, GA e SW) foram feitas utilizando rotinas Matlab. Os modelos de classificação foram avaliados de acordo com a taxa de classificação correta das amostras de validação.

RESULTADOS

Os modelos de classificação foram desenvolvidos considerando toda a região de trabalho e a região correspondente às absorções de grupos sulfóxidos onde se observou diferenças nas intensidades das absorções em função do teor de óleo de alho. A Tabela 1 mostra as taxas de classificação correta para as 121 misturas.

Tabela 1 – Taxas de classificação correta para os grupos de treinamento e validação considerando modelos obtidos por PLS-DA e LDA.

Modelos	Região Completa (3080 a 2770 cm ⁻¹ e 1850 a 650 cm ⁻¹)		Região dos Sulfóxidos (1010 a 900 cm ⁻¹)	
	T	V	T	V
PLS-DA	100%	100%	97,6%	100%
LDA-APS	94%	100%	94%	100%
LDA-GA	94%	100%	92,8%	98,8%
LDA-SW	100%	78,6%	97,6%	98,8%

Tabela 2 - Taxas de classificação correta dos modelos PLS-DA e LDA para as cápsulas de óleo de alho comerciais.

Modelos	Região Completa (3080 a 2770 cm^{-1} e 1850 a 650 cm^{-1})	Região dos Sulfóxidos (1010 a 900 cm^{-1})
PLS-DA	98,6%	98,6%
LDA-APS	93,3%	93,3%
LDA-GA	93,3%	81,7%
LDA-SW	15,4%	67,3%

DISCUSSÃO

O espectro revela absorções nas regiões entre 3000 a 2930 cm^{-1} (estiramento assimétrico da ligação C-H e CH_2 de composto alifático); em torno de 1600 cm^{-1} (estiramento de ligação C=C); entre 1400 e 1300 cm^{-1} (deformação de ligações $=\text{CH}_2$); entre 1100 e 900 cm^{-1} (estiramentos das ligações S=O) correspondentes a formação da alicina. Observando os espectros das misturas percebe-se um desvio de linha de base. O pré-processamento SNV atua de forma a minimizar espalhamento da radiação devido a diferença de homogeneização entre as amostras. Para as misturas os modelos PLS-DA e LDA (APS, GA e SW) apresentaram resultados comparáveis (Tabela 1). Aplicando os modelos às cápsulas de óleo de alho comerciais as taxas de classificação correta são comparáveis utilizando as duas regiões, sendo os modelos obtidos com a região completa apresentando resultados melhores quando se considera a técnica LDA (Tabela 2). A pequena taxa de acerto para o SW na região completa de trabalho pode-se atribuir a sua filosofia de seleção, onde as variáveis selecionadas pelo seu algoritmo não foram interessantes para a classificação. Este algoritmo apresenta grande probabilidade de se prender a determinados locais do espectro ignorando a possibilidade de selecionar o melhor conjunto de variáveis, diferente das filosofias do GA e APS.

CONCLUSÕES

A metodologia *screening* baseada na espectroscopia no infravermelho e técnicas de reconhecimento de padrões para classificação das cápsulas comerciais de óleo de alho em função do seu teor desenvolvida nesse trabalho apresenta-se como promissora na avaliação do teor de óleo para fins de fiscalização.

AGRADECIMENTOS

À UFPE pela oportunidade de cursar Engenharia Química, ao CNPq e FACEPE pelo incentivo financeiro, ao Laboratório de Combustíveis da UFPE pelo suporte no trabalho experimental e à orientação da Profa. Fernanda Honorato e da doutoranda Valeria Visani.

REFERÊNCIAS

1. Almeida, A.; Suyenaga, E. S. Ação farmacológica do alho (*Allium sativum* L.) e da cebola (*Allium cepa* L.) sobre o sistema cardiovascular: revisão bibliográfica. *Nutrire*, São Paulo, v.34, n.1, p. 185-197, 2009.

2. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde em rotulagem de alimentos. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999.
3. Beebe, K. R.; Pell, R. J.; Seasholtz, M. B.; Chemometrics – A practical guide, New York, Ed. John Wiley & Sons, Inc., 1988.
4. Ilić, D. P., Nikolić, V. D., Nikolić, L. B., Stanković, M. Z., Stanojević, L. P., Cakić, M. D. Allicin and related compounds: Biosynthesis, Synthesis and Pharmacological Activity. FACTA UNIVERSITATIS Series: Physics, Chemistry and Technology Vol. 9, No 1, pp. 9-20, 2011.
5. Naes, T.; Isaksson, T.; Fearn, T.; Davies, T.; A user-friendly guide to Multivariate Calibration and Classification, Chichester - UK, NIR Publications, 2002.
6. Pasquini, C. Near Infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications, Journal of the Brazilian Chemical Society. v. 14, p. 198-219, 2003.