

Caracterização de Óleos Alimentares pelo Perfil de Trigliceridos

HIGUINALDO J. CHAVES DAS NEVES*

Embora as técnicas e normas de controlo de qualidade em alimentos preveja métodos de controlo e avaliação para os óleos alimentares, casos há em que estas se revelam insuficientes para a determinação de origem e detecção de alterações, ou adulterações, de modo inequívoco. Se os óleos são fundamentalmente constituídos por triglicerídeos é legítimo pensar que o seu conjunto em cada óleo corresponderá a um perfil típico. O estudo dos perfis cromatográficos para os triglicerídeos de óleos de soja, girassol, milho, grão-de-bico, azeite e bagaço de azeitona, obtidos por cromatografia gás-líquido de alta resolução a temperatura elevada (HT-HRGC) mostra-se adequado à caracterização e identificação expedita de óleos alimentares. A aplicação de métodos gráficos de representação directa de perfis globais, assim como o tratamento dos dados cromatográficos por métodos computadorizados de análise de perfil envolvendo agrupamento hierárquico ou análise de componente principal, permitem um reconhecimento visual imediato dos perfis característicos para cada óleo, identificação qualitativa de desconhecidos e reconhecimento de adulterações.

INTRODUÇÃO

O controlo de qualidade de óleos alimentares baseado na determinação dos ácidos gordos é frequentemente prejudicado pelo facto de que os valores obtidos podem encontrar-se dentro dos intervalos quantitativos aceites, apesar de adulteração. Alguns óleos apresentam composições semelhantes em ácidos gordos e mesmo do insaponificável e não podem ser facilmente diferenciados. Tal diferenciação exige análises comparativas sistemáticas de esteróis, tocoferóis e alguns triglicerídeos [1]. A introdução de fases líquidas com grupos OH terminais [2] e o desenvolvimento de tecnologia de fabrico de colunas capilares capazes de suportar

temperaturas até 400°C torna possível a análise de triglicerídeos por cromatografia gás-líquido de alta resolução, em que os triglicerídeos de idêntico número de carbono (separação CN) podem ser separados de acordo com o número de ligações duplas (separação NUFA). A instabilidade dos triglicerídeos a temperaturas elevadas prejudica tradicionalmente a sua análise cromatográfica por técnicas de injetor quente. Esta dificuldade pode ser hoje circulada pela aplicação de técnicas de introdução de amostra que evitam o choque térmico, nomeadamente pelo uso do vaporizador de temperatura programada.

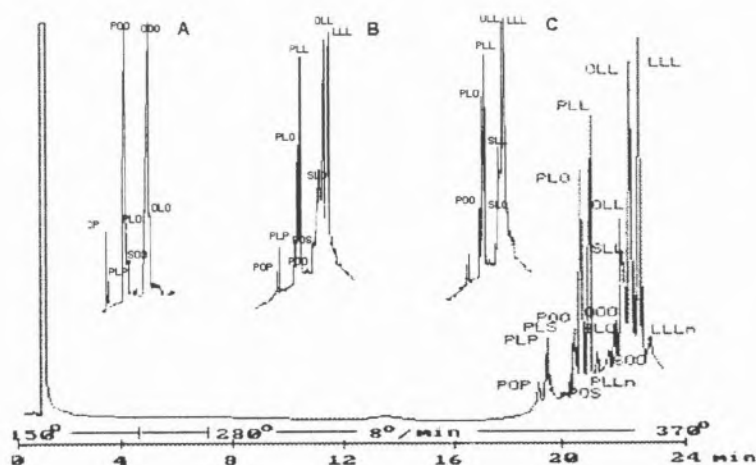
Alguns óleos não são fáceis de diferenciar apenas na base do perfil de triglicéridos tal como determinado pela análise cromatográfica. O aforismo "um desenho vale mais do que mil palavras" apresenta-se como uma realidade contundente nestes casos em que um elevado número de dados numéricos é obtido. As diferenças e semelhanças subtis perdem-se no amálgamado das tabelas numéricas. Uma das mais despercebidas, mas mais eficientes capacidades do cérebro humano, é o reconhecimento de perfis. O objecto observado é decomposto nas suas características e apenas as essenciais à construção de um modelo são retidas. No conjunto, nada é mais diferente do que um S. Bernardo e um Chihuahua. No entanto, ambos são de imediato reconhecidos como cães. Esta

espantosa capacidade do cérebro humano para o reconhecimento de perfis pode ser utilizada com enormes vantagens no tratamento de dados analíticos para a caracterização de produtos complexos (objectos) e visualização de semelhanças e diferenças entre os elementos de um conjunto. Tal pode ser conseguido meramente pela apresentação dos dados de forma gráfica ilustrativa de apreensão imediata ou recorrendo a métodos matemáticos mais complexos como são os métodos multivarietais. Em ambos os casos, e com níveis de informação diferentes é possível obter informação rápida sobre a natureza de um óleo e possíveis adulterações, apenas com base na análise dos perfis de triglicéridos.

OS PERFIS CROMATOGRÁFICOS

A Figura 1 mostra os perfis cromatográficos dos triglicerídeos dos óleos de soja, de oliva, de girassol e de grão-de-bico. Se bem que a inspeção dos cromatogramas

Figura 1 - Perfil cromatográfico de triglicéridos de azeite (A), óleo de girassol (B), óleo de grão de soja (C) e óleo de soja. Injector: vaporizador de temperatura programada. Coluna: capilar de vidro, 10 m x 0,25 mm d.i. revestido com OV-17-OH, $d_f=0,25 \mu\text{m}$. Detector DIC. Os triglicéridos são assinalados por uma notação baseada nas iniciais dos ácidos gordos constituintes: P-palmitico, S-esterárido, O-oleico, L-linoleico.



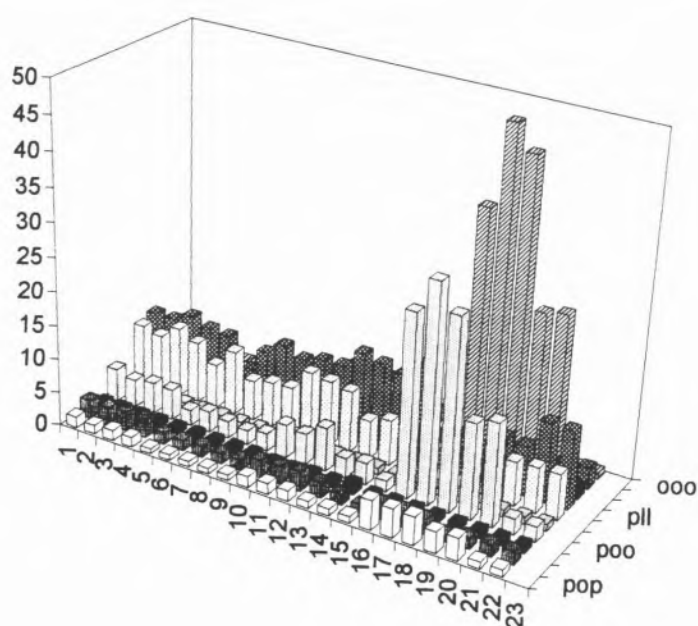


Figura 2 - Concentrações relativas (%) de triglicerídeos em óleos alimentares. 1-4- óleos de soja; 5-9-óleos de girassol; 10-12- óleos de milho; 13-15-óleos de grão de uva; 16-18- Azeites; 19-20- óleos de bagaço de azeitona; 21-22- óleos inespecíficos ("óleo vegetal").

togramas permita distinguir claramente entre o óleo de oliva (azeite) e os restantes, já as diferenças entre os óleos de grão de uva e de girassol são pouco claras. A comparação dos valores numéricos correspondentes às concentrações relativas dos diferentes triglicerídeos em cada óleo é ainda mais equívoca dada a semelhança de valores, por um lado e a elevada quantidade de números numa tabela em que os óleos são descritos pelos valores conjuntos de 15 triglicerídeos. Com esta quantidade de dados torna-se difícil, senão impossível, extrair informação útil. Uma alternativa será a representação gráfica dos resultados. Experimentemos então, um clássico gráfico de barras tal como exemplifica a Figura 2. O único padrão verdadeiramente reconhecível é o que respeita às elevadas concentrações de POO e OOO nos óleos de oliva (16 a 21). No entanto, a quantidade de informação que se pode obter a partir dos mesmos dados aumenta significativamente se for adoptado um modo de representação que tire partido da nossa capacidade de reconhecer padrões globais. Existe um número elevado de representações gráficas computadorizadas em que os objectos descritos por um conjunto de variáveis (os

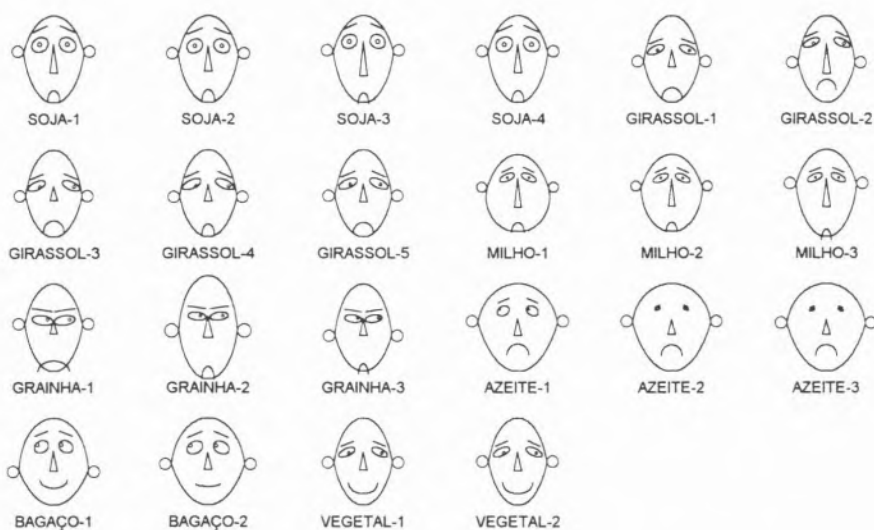


Figura 3 - Representação de óleos alimentares pela projecção das concentrações relativas (%) de triglicerídeos segundo as "caras de Chernoff".

óleos descritos pelos seus triglicerídeos) podem ser perfigurados sob formas geométricas reconhecíveis em que cada elemento representa a dimensão de uma variável. Na Figura 3 os óleos alimentares analisados em função dos triglicerídeos são representados pelas populares "caras de Chernoff". O significado de cada elemento facial consta da legenda. As semelhanças e diferenças entre cada um dos óleos representados é, agora, mais evidente. Óleos de idêntica origem

são representados por caras semelhantes facilmente reconhecíveis. Os óleos designados por vegetal-1 e vegetal-2 correspondem a óleos de origem inespecífica, comercializados sob a designação geral de "óleo vegetal". A semelhança geral com as caras correspondentes a óleos de girassol é evidente, diferenciando-se destes na expressão da boca, que se assemelha ao óleo de bagaço de azeitona. Este modo de representação de dados não tratados permite a apreensão global imediata de informação descritiva, tirando partido de uma habilidade natural para o reconhecimento de padrões. As vantagens descritivas, quando sobre a representação dos mesmos dados na Figura 2, não podem ser subestimadas. O simples facto de transformar descritores numéricos num padrão facilmente reconhecível é bastante para criar para cada objecto um modelo de referência

facilmente apreensível. A utilidade deste sistema para a identificação dos óleos é evidente. Se um óleo desconhecido pertence a uma das classes referenciadas, a sua identificação pelo perfil de triglicerídeos assim representado é imediata. Tal é exemplificado com os óleos designados por vegetal-1 e vegetal-2.

MÉTODOS NUMÉRICOS- ANÁLISE MULTIVARIETAL

Até aqui, aplicaram-se técnicas subjectivas para o reconhecimento de perfis capazes de reconhecer semelhanças e diferenças entre objectos similares.

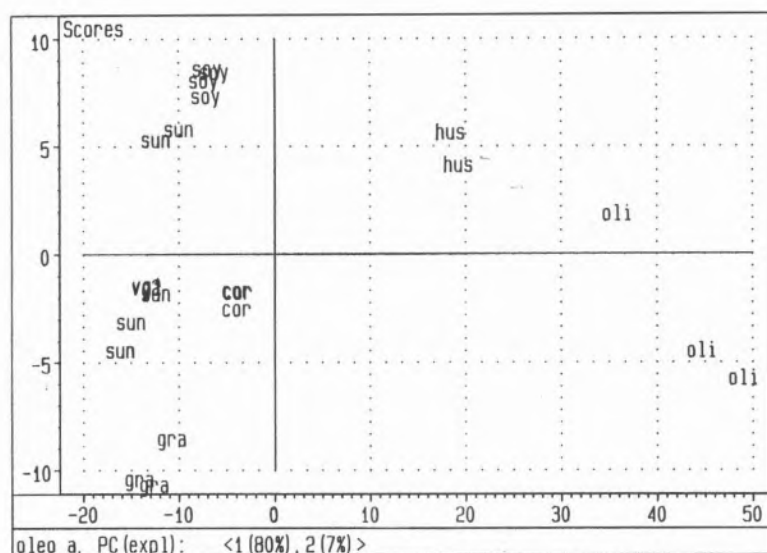


Figura 4 - Dendrograma de agrupamento hierárquico pelas distâncias euclidianas de óleos alimentares segundo a composição relativa (%) em triglicerídeos.

Um objecto é diferenciado de outro por um conjunto de propriedades que o tornam particular. Quando o mesmo conjunto de propriedades (perfil) é qualitativamente comum a um conjunto de objectos similares, define-se uma família de objectos que podem tender a formar sub-grupos de acordo com o peso relativo de cada uma das propriedades descritivas. Pode-se, deste modo, determinar valores para cada uma das propriedades características do conjunto e aplicar uma técnica matemática para obter uma classificação objectiva, naquilo a que se chama taxonomia numérica. O objectivo é o de organizar dados observados em estruturas com significado informativo quanto à sua natureza e relações entre os objectos. Quando os dados contêm uma estrutura clara em termos de agrupamento de objectos, tal é reflectido na ramificação de uma árvore hierárquica, frequentemente chamada dendrograma. O dendrograma representa as dissimilaridades entre os objectos quando agrupados. Para a construção do dendrograma representado na Figura 4, cada óleo é considerado como um objecto descrito por um conjunto de variáveis (os valores de concentração relativa dos triglicerídeos). O cálculo de agrupamento hierárquico (distâncias euclidianas) revela a formação de agrupamentos principais, cada um contendo ainda subgrupos que, em última análise, caracterizam cada um dos tipos de óleo tratados (oliva, grão de uva, girassol, milho e soja). A grande semelhança entre os óleos de grão de uva e giras-

sol é patente. Os óleos de origem indeterminada ("vegetal") aparecem agrupados com os óleos de girassol, o que pode ser utilizado como diagnóstico provável da sua origem.

Embora os métodos anteriores forneçam informação adequada sobre o tipo de óleos, de acordo com a sua origem e com bom poder classificativo, casos poderão haver em que a categorização seja mais difusa. Por outro lado, das 15 variáveis usadas como descritores, nem todas conterão informação relevante para a categorização dos óleos. Se se demonstrar que apenas algumas variáveis são determinantes para o agrupamento classificativo, o tempo e o trabalho gastos na análise limitar-se-á apenas ao necessário para a determinação daquelas. Deste modo, redução a n variáveis e observação mais eficiente dos objectos num espaço n -dimensional podem ser conseguidos através da análise de com-

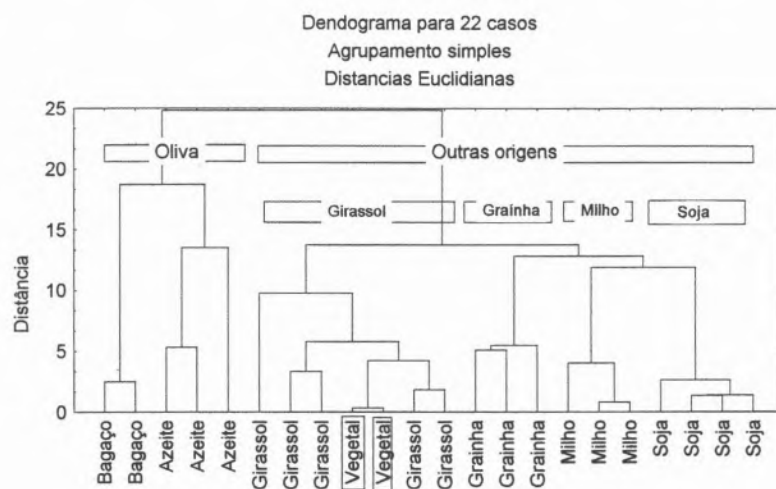
ponente principal (PCA). Nesta técnica cada objecto passa a ser descrito por um único valor (primeira PC) em lugar de variáveis x_1, x_2, \dots, x_n .

$$PC = a.x_1 + b.x_2 + \dots + c.x_n$$

Este valor é calculado de modo a reter a máxima variância. Uma segunda PC, se necessário, deverá ser calculado ortogonalmente ao primeiro e explicar tanto quanto possível a variância residual não explicada pelo primeiro e assim sucessivamente. Torna-se, deste modo, possível uma representação bi ou tridimensional dos dados de modo a que as relações entre os objectos seja observável ao olho humano e, por outro lado, a grandeza e sinal dos coeficientes a, b, \dots, c (loadings) fornece uma indicação acerca do significado das variáveis na formação da estrutura.

A Figura 5 mostra as relações entre os óleos num plano de projecção definido por duas componentes principais que, no seu conjunto, explicam 87% da variabilidade total. A primeira PC (abszissas) distingue claramente os óleos de oliva. A segunda PC (ordenadas) é responsável pela diferenciação dos restantes entre si. Todos os óleos formam agrupamentos bem localizados em áreas do espaço bidimensional. Mais uma vez, as semelhanças entre os óleos "vegetal"

Figura 5 - Classificação de óleos alimentares pelo perfil de triglicerídeos (15 variáveis) por análise de componente principal. Soy- Soja; Sun- Girassol; Cor-Milho; Gra- Grão de uva; Hus- Bagaço de azeitona; Oli-Azeite. Primeira PC (abszissas) versus segunda PC (ordenadas)



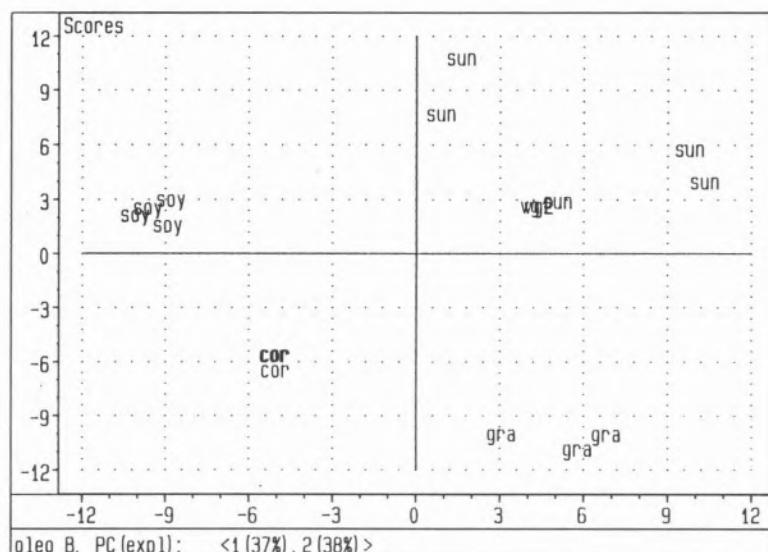
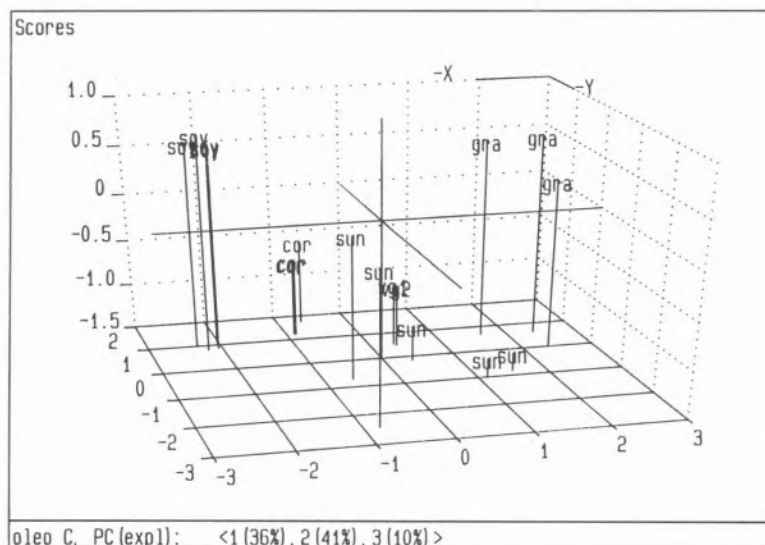


Figura 6 - Classificação de óleos alimentares pelo perfil de triglicerídeos (15 variáveis) por análise de componente principal. Soy- Soja; Sun- Girassol; Cor- Milho; Gra- Grão de uva. Primeira PC (absissas) versus segunda PC (ordenadas).

com o óleo de girassol são patentes. A separação entre os azeites e os óleos de bagaço de azeitona é suficiente para poder ser útil na detecção de suspeitas de adulteração daqueles por estes, mas a sensibilidade do método não foi ainda determinada.

Figura 7 - Classificação de óleos alimentares pelo perfil de triglicerídeos (5 variáveis: OOL, OLL, LLL, PLL e SLL) por análise de componente principal. Soy- Soja; Sun- Girassol; Cor- Milho; Gra- Grão de uva; Primeira PC (absissas) versus segunda PC (ordenadas)



É claro que a diferenciação entre óleos de oliva e os restantes, não necessita de processos complicados. Eles são bem diferenciáveis pelas suas características sensoriais. A capacidade classificativa do modelo parece ser melhorada quando os óleos de oliva não são considerados (Figura 6). Neste caso, cada uma das duas componentes principais tem uma contribuição igualmente efectiva na classificação dos objectos embora, no seu conjunto, apenas 75% da variabilidade total seja explicada. A separação entre cada uma das categorias é mais ampla. A classificação dos óleos desconhecidos (vegetal) como sendo óleos de girassol é confirmada. A maior dispersão espacial dos óleos de girassol não é surpreendente e denuncia de modo claro a observação empírica.

A avaliação dos pesos das variáveis (loadings) permite concluir que, para a descrição da variabilidade entre os objectos, apenas cinco das quinze variáveis iniciais são necessárias. A maior parte da informação está contida nos triglicerídeos OOL, OLL, LLL, PLL e SLL. Os restantes são, ou redundantes, ou ruidosos. Esta operação de redução de variáveis, simplifica significativamente a determinação analítica, pois apenas os valores correspondentes são necessários. Pode determinar-se, assim, um novo modelo de PCA a partir apenas daqueles triglicerídeos. Neste caso, porém, torna-se necessário recorrer a uma terceira PCA para explicar 87% da variabilidade total. O modelo, porém, possui uma elevada capacidade classificativa como se mostra na Figura 6, por recurso a uma projecção num espaço tridimensional. Os óleos desconhecidos são consistentemente identificados como pertencendo ao grupo dos óleos de girassol.

Estes resultados mostram a importância que métodos computadorizados de análise de perfil podem ter na delicada matéria do controlo de qualidade de óleos alimentares, com base na avaliação directa dos seus componentes essenciais: os triglicerídeos. A sua introdução como método de rotina em análises de controlo, após teste judicioso e normalização adequada, forneceria informação detalhada e objectiva não obtível por quaisquer dos processos actualmente em uso. A difícil distinção entre óleos de girassol e de grão de uva é fácil e imediatamente conseguida sem determinações complementares [3].

*Departamento de Química,
Faculdade de Ciências e Tecnologia,
Universidade Nova de Lisboa,
2825 Monte da Caparica

REFERÊNCIAS

1. P.Y. Vigneron, M. Audegond, P. Delvoye, M. Levacq, A. Monseigny, B. Stoclin, *Rev. Fr. Corps Gras*, **33** (1986) 359.
2. E. Geeraert, P. Sandra, *HRC & CC* **8** (1985) 415.
3. H.J. Chaves das Neves, A.M.P. Vasconcelos, *HRC & CC* **12** (1989) 226.