



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
BACHARELADO E LICENCIATURA EM QUÍMICA

AUGUSTO FERREIRA SOUZA

EXTRAÇÃO E ESTUDO DA TERMODEGRADAÇÃO DO ÓLEO
DA SEMENTE DE NABO FORRAGEIRO

DOURADOS - MS

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
BACHARELADO E LICENCIATURA EM QUÍMICA

AUGUSTO FERREIRA SOUZA

**EXTRAÇÃO E ESTUDO DA TERMODEGRADAÇÃO DO ÓLEO DA
SEMENTE DE NABO FORRAGEIRO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) como um dos requisitos para a obtenção do título de licenciado e bacharel em Química, orientado pela Prof.^a Dr.^a Rozanna Marques Muzzi.

Dourados - MS

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S729e Souza, Augusto Ferreira

EXTRAÇÃO E ESTUDO DA TERMODEGRADAÇÃO DO ÓLEO DA
SEMENTE DE NABO FORRAGEIRO / Augusto Ferreira Souza -- Dourados:
UFGD, 2016.

40f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Rozanna Marques Muzzi

TCC (Graduação em Química) - Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia,
Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. nabo forrageiro. 2. fluorescência. 3. óleos vegetais. 4. Raphanus sativus.
5. termodegradação. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

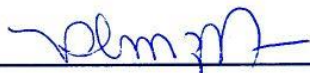
AUGUSTO FERREIRA SOUZA

**EXTRAÇÃO E ESTUDO DA TERMODEGRADAÇÃO DO ÓLEO DA
SEMENTE DE NABO FORRAGEIRO**

A Banca Examinadora, composta pelos professores Dra. Rozanna Marques Muzzi (orientadora/presidente), Dr. Cláudio Rodrigo Nogueira e Ma. Maydla dos Santos Vasconcelo, após avaliação e deliberação, considerou o trabalho:

aprovado; reprovado.

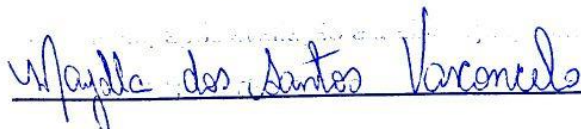
Eu, presidente da banca, lavrei a presente ata que segue assinada por mim e demais membros:



Dra. Rozanna Marques Muzzi – Orientadora/Presidente – UFGD



Dr. Cláudio Rodrigo Nogueira – UFGD



Ma. Maydla dos Santos Vasconcelo – E. E. Pres. Vargas

Dourados - MS

23 de setembro de 2016

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à minha família, principalmente aos meus pais, pois foram eles que desde o início me apoiaram em cada decisão, incentivaram-me a cada primeiro passo, diante de qualquer obstáculo e sempre me ajudaram a recompor-me após erros ou decepções. Portanto, é a eles a quem eu dedico cada vitória, sempre. Obrigado mãe e pai.

Agradeço também aos meus amigos, os quais também me ajudaram em todos os momentos que precisei e aguentaram meus lamentos e dramas típicos. Principalmente àqueles que aguentam tudo isso há muitos anos. Obrigado Túlio, Aline e Hortência, vocês fazem parte disso aqui também.

Ainda aos professores da universidade, a todos os que me deram aula nos anos que cursei Química, principalmente. Todos eles me ensinaram algo fora do conteúdo programático que me ajudou a reunir forças para continuar no curso e ser quem eu sou hoje. Principalmente à minha orientadora Rozanna, a qual sempre me ajudou nas pesquisas e procurou me oferecer a melhor experiência que podia ter no laboratório, me incentivando a ir em frente e melhorar sempre.

Por fim, aos professores dos meus tempos de educandário Santa Clara, pois eles foram minha inspiração e me ajudaram a construir o alicerce de conhecimento e experiência necessário para chegar onde cheguei e ir além. Principalmente às professoras Vailda e Vanda, por me ensinarem o caminho das palavras e me manterem fascinado pelos idiomas e formas de expressão, e ao professor George Esperança, por aguentar minhas tantas perguntas nas aulas de física e sempre acreditar que eu fosse capaz de entender qualquer lógica com um pouco de reflexão.

RESUMO

O presente trabalho é uma composição dos estudos realizados acerca do óleo da semente de nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L. var. *oleiferus* Metzg.), uma planta perene cultivada comumente nas regiões central e sul do Brasil com sementes portadoras de um alto teor oleaginoso, cerca de 40 a 54% em massa. Os dados coletados são referentes às análises de composição por cromatografia gasosa e das propriedades físico-químicas do óleo, extraído com solvente *n*-hexano, em um sistema de extração Soxhlet. Com o objetivo de se estudar a termodegradação do óleo, os parâmetros utilizados foram índice de acidez, densidade, tempo de indução em Rancimat, espectroscopia de absorção UV-Vis e fluorescência molecular, no decorrer de um processo de degradação térmica induzida, analisando principalmente a aplicabilidade da fluorescência molecular no monitoramento da oxidação gradativa do óleo estudado. A análise de composição demonstrou uma predominância de ácidos graxos insaturados, com uma composição total de $90,27 \pm 6,10\%$, sendo eles principalmente os ácidos oleico (C 18:1), linoleico (C 18:2), erúcido (C 22:1), linolênico (C 18:3) e eicosanoico (C 20:1). O tempo de indução obtido foi de $48,0 \pm 1,0$ h, indicando assim uma alta resistência à oxidação, se comparado a valores da literatura. A densidade e o índice de acidez aumentaram no decorrer do processo, como previsto pela literatura, devido a reações de degradação de ácidos graxos, principalmente o rompimento de ligações duplas presentes nos mesmos. Os resultados de absorção de UV-Vis demonstraram um decaimento mais rápido que o demonstrado no espectro de emissão, evidenciando assim o potencial da técnica de fluorescência no monitoramento da termodegradação do óleo da semente de *Raphanus sativus*.

PALAVRAS-CHAVE: *Raphanus sativus* L. var. *oleiferus* Metzg., nabo forrageiro, óleo, oxidação térmica, fluorescência, termodegradação.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

GC – Cromatografia gasosa

UV-Vis – ultravioleta-visível

P.A. – pureza analítica

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Variações no índice de acidez em relação ao tempo de degradação térmica do óleo da semente de *R. sativus* e a correlação entre os valores experimentais e aqueles calculados pela equação 1. Os números estão expressos em média \pm desvio padrão de uma análise em triplicata por titulação. 17
- Figura 2.** Variações na densidade em relação ao tempo de degradação térmica do óleo da semente de *R. sativus* e a correlação entre os valores experimentais e aqueles calculados pela equação 2. Os números estão expressos em média \pm desvio padrão de uma análise em triplicata utilizando um picnômetro. 18
- Figura 3.** Espectro de absorção de acordo com o tempo de degradação térmica do óleo da semente de *R. sativus* em concentrações de 0,3% (m/v) **(a)** e 20% (m/v) **(b)**, diluído em hexano. Os valores demonstrados são médias \pm desvios padrão de uma triplicata de varredura. 19
- Figura 4.** Perfis de absorção em 232 nm **(a)** e 270 nm **(b)** do óleo da semente de *R. sativus* ao longo do processo de degradação térmica. As amostras foram diluídas em hexano a 0,3% (m/v). Os valores estão expressos em médias \pm desvios padrão de uma triplicata de análise de absorvância nos comprimentos de onda determinados. 20
- Figura 5.** Razão entre as intensidades de absorção ao longo do processo de oxidação térmica do óleo da semente de *R. sativus* e a correlação entre os valores experimentais e aqueles calculados pela Eq. 3. *Tempo de degradação considerado de 1,12 h, o qual é o tempo necessário para que a equação atinja uma razão de 1,91. Os valores são expressos como média das absorvâncias em 232 e 270 nm. 21
- Figura 6.** Espectro de fluorescência molecular em duas regiões previamente ao processo de oxidação térmica, 650-700 nm **(a)** e 390-575 nm **(c)**. Diminuição na intensidade de fluorescência durante o processo oxidativo **(b)** e **(d)**, com excitação em 375 nm. 23
- Figura 7.** Razão entre as intensidades de emissão durante a degradação térmica do óleo da semente de *R. sativus* e a correlação entre os valores experimentais e aqueles calculados pela Eq. 4. Os valores são a razão das emissões individuais em 676 e 506 nm. 24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição dos óleos de soja, girassol e nabo forrageiro.	7
Tabela 2. Composição de ácidos graxos do óleo da semente de nabo forrageiro (<i>R. sativus</i>) obtida por meio da análise de cromatografia gasosa. Os valores com letras iguais são os resultados que não possuem diferença significativa ($p < 0,05$). Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão.	15

Sumário

AGRADECIMENTOS	I
RESUMO	II
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	III
LISTA DE FIGURAS	IV
LISTA DE TABELAS	V
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo geral	3
2.2. Objetivos específicos	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Nabo Forrageiro	4
3.2. Óleos vegetais	6
3.3. A degradação de óleos	8
4. MATERIAIS E MÉTODOS	11
4.1. Matéria-prima bruta e extração do óleo	11
4.2. Composição de ácidos graxos	11
4.3. Degradação térmica do óleo e tempo de indução	12
4.4. Índice de acidez e densidade	12
4.5. Espectroscopia de absorção de luz UV-vis e fluorescência molecular	13
4.6. Análise estatística	13
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
5.1. Composição do óleo e resistência oxidativa por Rancimat	14
5.2. Análise do índice de acidez e densidade com a crescente oxidação térmica	16
5.3. Perfis de fluorescência e absorção molecular do óleo oxidado	18
6. CONCLUSÃO	25
7. REFERÊNCIAS	26
8. ANEXO	30

1. INTRODUÇÃO

Raphanus sativus L. var. *oleiferus* Metzg. é uma planta perene da família Brassicaceae (ou Cruciferae), cujo óleo tem sido explorado no decorrer da história, especialmente na Ásia.¹ É cultivada nas regiões extremo sul e central do Brasil como cobertura vegetal em épocas entre colheitas em áreas de agricultura, como pasto para a alimentação de gado, fertilizante natural¹ e biocombustível.² A semente de *R. sativus* tem um teor aproximado de 40 a 54% da massa composta de óleo, quando extraído por prensagem mecânica. A torta resultante retém aproximadamente 7,5% do próprio peso em óleo e possui um alto valor nutritivo, além de apresentar palatabilidade como alimento para gado.¹

No entanto, sabe-se que lipídios podem sofrer mudanças químicas durante o armazenamento e processamento, como a rancidez hidrolítica e a oxidativa, o que acaba afetando a qualidade do óleo.³ Tais processos oxidativos são um dos maiores problemas técnicos a serem superados ao se trabalhar com óleos. A rancidez é descrita como a produção de ácidos graxos livres e outros ácidos orgânicos de cadeias curtas pela oxidação de ligações duplas das moléculas.⁴

Consequentemente, propriedades como o índice de acidez e a densidade são alterados.^{3,4} Como uma alternativa aos métodos tradicionais de análise, como a titulação, técnicas ópticas começaram a despertar bastante interesse na comunidade científica como uma ferramenta analítica na análise e controle de qualidade de óleos.^{5,6}

1. DOMINGOS, A. K. et al. Optimization of the ethanolsis of *Raphanus sativus* (L. Var.) crude oil applying the response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 99, p.1837–1845, 2008.

2. SHAH, S. N. et al. Potential application of turnip oil (*Raphanus sativus* L.) for biodiesel production: physical–chemical properties of neat oil, biofuels and their blends with ultra-low sulphur diesel (ULSD). **Bioenergy Research**, v. 6, p. 841–850, 2013.

3. GUINAZI, Michele et al. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Química Nova**, v. 32, p. 2098–2103, 2009.

4. OSAWA, C. C.; GONÇALVES, L. A. G.; RAGAZZI, S. Titulação potenciométrica aplicada na determinação de ácidos graxos livres de óleos e gorduras comestíveis. **Química Nova**, v. 29, p. 593–599, 2006.

5. AMMARI, F. et al. Study of the heat stability of sunflower oil enriched in natural antioxidants by different analytical techniques and front-face fluorescence spectroscopy combined with independent component analysis. **Talanta**, v. 99, p. 323–329, 2012.

6. GONÇALVES, R. P.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. Thermal edible oil evaluation by UV–Vis spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 163, p. 83–86, 2014.

Outros estudos têm mostrado que a quebra das cadeias carbônicas de triacilgliceróis, quando sofrem oxidação, alteram as propriedades ópticas do óleo correspondente, modificando a absorção de luz em dois comprimentos de onda característicos, 232 e 270 nm.^{7,8} Essas alterações, proporcionam dados relevantes nos estados inicial e final de oxidação.

Alternativamente, as alterações que o óleo sofre provoca modificações também no perfil de emissão molecular de energia, fazendo com que algumas bandas de fluorescência apareçam e desapareçam.⁹ Nesse contexto, este trabalho monitorou a termodegradação da semente de *R. sativus*, por meio da análise de densidade, índice de acidez e período de indução, utilizando também técnicas espectroscópicas para se avaliar tanto a absorção molecular na região do ultravioleta e visível da luz, como a fluorescência molecular. O presente trabalho foi previamente publicado no periódico *Journal of the American Oil Chemists' Society*, e apresenta-se em anexo a este, na forma de artigo científico.

7. DANTAS, M. B. et al. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. **Fuel**, v. 90, p. 773–778, 2011.

8. NEHDI, I. A. *Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* seed oil: chemical composition, physicochemical characteristics, and utilizations. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 381–385, 2013.

9. TENA, N.; GARCÍA-GONZÁLES, D. L.; APARICIO, R. Evaluation of virgin olive oil thermal deterioration by fluorescence spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 10505–10511, 2009.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Extrair o óleo da semente de nabo forrageiro e analisar a eficiência das técnicas escolhidas para o monitoramento da termodegradação dele.

2.2. Objetivos específicos

- Extrair o óleo da semente do nabo forrageiro por Soxhlet;
- Analisar a composição do óleo por meio de cromatografia gasosa;
- Analisar resistência oxidativa do óleo por meio de Rancimat;
- Induzir o óleo à termodegradação, em uma estufa de aquecimento, por diferentes períodos de exposição;
- Analisar as alterações da composição do óleo em cada estágio de degradação térmica por meio de índice de acidez, densidade, espectroscopia de fluorescência molecular e de absorção de luz na faixa UV-visível;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Nabo Forrageiro

O nabo forrageiro é conhecido cientificamente pelo nome *Raphanus sativus* L. e pertence à família das Brassicaceae, ou Cruciferae.¹

Uma vez que a disponibilidade hídrica de abril a maio é maior, a produção em massa é obtida pelo plantio em tal período, durando aproximadamente três meses. Em apenas 60 dias, a planta é capaz de cobrir cerca de 70% do solo, o florescimento ocorre após 80 dias e permanece por mais de 30, tornando-se madura com um total aproximado de 120 dias após o plantio. A longa duração da fase de floração é ainda um assunto de interesse para a criação de abelhas, cujo mel produzido se apresenta de alta qualidade.^{10,11}

A espécie possui uma alta resistência a secas, geadas, doenças e pragas, além de não exigir muito preparo do solo, pois pode sobreviver razoavelmente bem em solos fracos ou com problemas de acidez. Tais características a tornam perene, o que é uma grande vantagem na produção.^{1,10,11}

Sendo assim, o cultivo tem sido realizado historicamente na Ásia e é muito popular na Europa. No Brasil, apesar de ser possível o plantio em regiões tropicais, este é concentrado em regiões frias e úmidas, como o Sul, Sudeste e Centro-Oeste.^{1,10}

A utilização talvez mais comum da planta é como adubo verde, uma vez que as raízes causam uma descompactação do solo, facilitando a alimentação do gado e o preparo biológico necessário para a rotação de culturas. Ela é também capaz de reciclar nutrientes como o nitrogênio e o fósforo, os quais são fundamentais para o plantio de algodão, feijão milho e soja.^{1,10,12}

1. DOMINGOS, A. K. et al. Optimization of the ethanolsis of *Raphanus sativus* (L. Var.) crude oil applying the response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 99, p.1837–1845, 2008.

10. BARROS, T. D.; JARDINE, J. G. Nabo Forrageiro. Brasília, DF: Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em:

<<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fbl23vn002wx5eo0sawqe38tspejq.html>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

11. DAMBISKI, L. **Síntese de biodiesel de óleo de nabo forrageiro empregando metanol supercrítico**. 2007. 94 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica e de Materiais) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba.

12. SOUZA, K. A. de et al. Cinética de secagem do nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.). **Ciência Agrônômica**, v. 42, p. 883-892, 2011.

Registros em diferentes estudos constam que a quantidade em massa de óleo nas sementes do nabo forrageiro varia de 35 a 54%, extraídos facilmente com pressão mecânica. A torta resultante retém ainda cerca de 7 a 8% em massa de óleo e a produtividade de óleo atinge assim a faixa de 150 a 550 kg/ha.^{1,10,11}

Por apresentar uma baixa viscosidade, o óleo extraído da semente do nabo forrageiro é também utilizado como matéria-prima na produção de biodiesel no Brasil, pois tal característica melhora o desempenho de motores.^{2,12} Comparando-se com outros óleos, como o de soja e o de girassol, bastante utilizados para o mesmo fim, o do nabo forrageiro apresenta uma maior estabilidade química, apresentando então menor taxa de degradação e formação de resíduos sólidos, caso seja armazenado ou transportado inadequadamente.¹⁰

O rendimento obtido por um hectare da planta é de aproximadamente 280 litros de biodiesel, menor que outras espécies como soja e canola. No entanto, pode ser também utilizado como alimento, alternativamente aos commodities já existentes no mercado de óleos vegetais.^{10,11}

Apesar das inúmeras vantagens de produção e os diversos usos de todas as partes da planta, até 2008, nenhum registro da possibilidade manejo de *R. sativus* em escala comercial ou industrial havia sido divulgado.¹ Já em 2012, estudos sobre a cadeia produtiva da planta, envolvendo seus usos além da rotação de culturas, já são citados em livros da área.¹³

1. DOMINGOS, A. K. et al. Optimization of the ethanolsis of *Raphanus sativus* (L. Var.) crude oil applying the response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 99, p.1837–1845, 2008.

10. BARROS, T. D.; JARDINE, J. G. Nabo Forrageiro. Brasília, DF: Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em:

<<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fbl23vn002wx5eo0sawqe38tspejq.html>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

11. DAMBISKI, L. **Síntese de biodiesel de óleo de nabo forrageiro empregando metanol supercrítico**. 2007. 94 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica e de Materiais) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba.

13. PADILHA, A. C. M.; GOLLO, S. S.; SILVA, M. N. da. **Estudos na cadeia produtiva do biodiesel**. Jaguarão: Unipampa, 2012. 255 p..

3.2. Óleos vegetais

Tanto as gorduras quanto os óleos de qualquer origem estão entre os primeiros insumos naturais utilizados pela humanidade para diversos fins. Os povos habitantes da região do Egito, por exemplo, utilizaram tais recursos como combustíveis para sistemas de iluminação, lubrificantes para engrenagens e até mesmo na fabricação de sabões e tintas, dependendo dessa matéria prima até o século XIX.¹⁴

Foi então no fim no século XX, com o aumento das preocupações globais sobre o uso indiscriminado de recursos derivados de petróleo, que o óleo e as gorduras voltaram a se tornar alvo de interesse no mercado.^{14,15}

A extração de óleos vegetais pode ser feita tanto por prensagem, quanto com a utilização de solventes. Dessa forma, estudos já evidenciaram que a extração com solvente utilizando um sistema Soxhlet pode não ser a mais viável para uma produção em escala industrial, mas se mostra extremamente eficiente para estudos analíticos em escala de pesquisa. Isso se deve principalmente à grande quantidade de solvente utilizado, ao uso de altas temperaturas e a um tempo de residência mais prolongado do substrato no solvente, fatores que contribuem principalmente para o aumento da solubilidade do óleo no solvente utilizado e, conseqüentemente, o rendimento do processo.¹⁶

Esses óleos são descritos na literatura como compostos hidrófobos, formados principalmente pela esterificação do glicerol com ácidos graxos, que são ácidos carboxílicos de cadeia longa, chamados também de triacilglicerídeos. Possuem um aspecto líquido em temperatura ambiente, uma vez que apresentam uma maioria de compostos insaturados, o que dificulta a organização molecular característica de sólidos.¹⁴

14. NADALETI, W. C. **Planejamento fatorial**: estudo da estabilidade oxidativa de blendas de biodiesel de soja, cramebe, babaçu, e gordura suína. 2014. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia na Agricultura) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel.

15. MELO, M. A. M. F. **Avaliação das propriedades de óleos vegetais visando a produção de biodiesel**. 2010. 118 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

16. ALMEIDA P. P., MEZZOMO N., FERREIRA S. R. S. Extraction of *Mentha spicata* L. volatile compounds: evaluation of process parameters and extract composition. **Food Bioprocess Technology**, v. 5, p. 548–559, 2012.

O comprimento da cadeia carbônica e tanto o grau de insaturação quanto a localização de cada uma, nos ácidos graxos, representam parâmetros de influência nas propriedades dos óleos, como ponto de fusão, densidade, viscosidade, solubilidade, reatividade química e estabilidade térmica e oxidativa.¹⁵

Se comparados os valores da literatura para a composição de ácidos graxos de óleos de soja, girassol e nabo forrageiro, percebe-se que o de nabo forrageiro apresenta uma quantidade de insaturados bem menor que os outros dois, assim como demonstrado na tabela 1.¹¹

Tabela 1. Composição dos óleos de soja, girassol e nabo forrageiro. Entre parênteses encontra-se a quantidade de carbonos do ácido, seguido pela quantidade de ligações duplas presentes na respectiva estrutura.

Ácido Graxo (%)	Óleo de Soja	Óleo de Girassol	Óleo de Nabo Forrageiro
Mirístico (C14:0)	-	0,1	6,0
Palmítico (C16:0)	10,8	6,2	7,9
Esteárico (C18:0)	3,2	4,1	3,1
Vacênico (C18:1 cis9)	-	-	1,4
Oléico (C18:1)	23,7	23,5	29,1
Linoleico (C18:2)	55,3	63,0	16,3
Linolênico (C18:3)	7,0	0,5	12,7
Araquídico (C20:0)	-	-	8,2
Behênico (C22:0)	-	-	14,1
Erúcico (C22:1)	-	-	1,2

Assim, nota-se que o óleo de nabo forrageiro, por apresentar tal composição, se apresenta mais resistente à degradação, uma vez que a quantidade de insaturações acarreta numa maior susceptibilidade a reações de oxidação e consequente formação de aldeídos, peróxidos, dienos conjugados e ácidos de cadeia menor, os quais são responsáveis pela alteração da qualidade do óleo vegetal.^{11,17}

11. DAMBISKI, L. **Síntese de biodiesel de óleo de nabo forrageiro empregando metanol supercrítico**. 2007. 94 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica e de Materiais) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba.

17. MARINHO, R. B. **Estudo da Estabilidade termo-oxidativa de biodiesel por Rancimat, PetroOXY e Termogravimetria**. 2012. 97 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.

3.3. A degradação de óleos

A extração de compostos valiosos de produtos naturais é amplamente estudada, uma vez que se faz necessário obtê-los com o máximo de rendimento e integridade dos componentes.¹⁰

Os óleos vegetais comestíveis são bastante conhecidos por possuírem uma grande quantidade de vitamina E, nome comum utilizado para denominar poderosos antioxidantes chamados tocoferóis e tocotrienóis. Associados à prevenção de doenças neurodegenerativas, câncer, envelhecimento precoce, entre outros benefícios, os óleos se tornaram a principal fonte desses compostos na dieta humana.^{3,6}

A manutenção de propriedades iniciais e benéficas de um produto é um dos maiores obstáculos na indústria alimentícia, pois a quantidade e a efetividade de compostos vantajosos podem ser alteradas pelo tipo de processamento aplicado, reduzindo assim em até 80% do teor vitamínico, além de perdas na embalagem e estocagem, quando os óleos são expostos à luz, oxigênio, altas temperaturas e muitos outros fatores. Alguns estudiosos conseguiram quantificar perdas de 10 a 33% de diferentes variações de tocoferóis e aproximadamente 50% de tocotrienóis.³

Assim como no processamento, durante o armazenamento e uso, os lipídeos podem sofrer modificações estruturais, sendo algumas delas a rancidez hidrolítica, oxidativa, reversão do sabor, polimerização e isomerização, responsáveis não só pela alteração de propriedades essenciais como também do valor nutricional dos alimentos, muitas vezes, representando perigos à saúde humana.^{4-6,9}

3. GUINAZI, Michele et al. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Química Nova**, v. 32, p. 2098–2103, 2009.

4. OSAWA, C. C.; GONÇALVES, L. A. G.; RAGAZZI, S. Titulação potenciométrica aplicada na determinação de ácidos graxos livres de óleos e gorduras comestíveis. **Química Nova**, v. 29, p. 593–599, 2006.

5. AMMARI, F. et al. Study of the heat stability of sunflower oil enriched in natural antioxidants by different analytical techniques and front-face fluorescence spectroscopy combined with independent component analysis. **Talanta**, v. 99, p. 323–329, 2012.

6. GONÇALVES, R. P.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. Thermal edible oil evaluation by UV–Vis spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 163, p. 83–86, 2014.

9. TENA, N.; GARCÍA-GONZÁLES, D. L.; APARICIO, R. Evaluation of virgin olive oil thermal deterioration by fluorescence spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 10505–10511, 2009.

10. BARROS, T. D.; JARDINE, J. G. Nabo Forrageiro. Brasília, DF: Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em:

<<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fb123vn002wx5eo0sawqe38tspejq.html>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

A rancidez hidrolítica é caracterizada pela quebra da ligação éster, presente no lipídio, por uma enzima chamada lipase, ou pela água. Quando essas enzimas, presentes nas sementes oleaginosas ou as de origem microbiana, entram em ação, a hidrólise dos óleos e gorduras acaba por gerar ácidos graxos livres, assim como quando a água atua sobre as moléculas, a altas temperaturas. As reações de degradação são ainda aceleradas por luz e calor, e o óleo ou gordura adquire um odor, sabor e propriedades indesejáveis, causadas por estas modificações estruturais.^{4-6,9}

Dessa forma, faz-se necessário o estudo da degradação dos mesmos, a fim de se identificar o período de viabilidade e desenvolver métodos de armazenagem e processamento apropriados.

Metodologias clássicas de monitoramento da termodegradação de óleos compreendem em análises como de índice de acidez e da densidade. O teor de acidez é registrado pela ANVISA como uma das características essenciais no padrão de qualidade dos diversos óleos vegetais existentes.^{4,8} Além destas, algumas técnicas espectroscópicas como fluorescência e absorção de luz UV-vis também já se provaram eficientes na determinação gradativa do nível de oxidação de óleos vegetais, uma vez que tais propriedades se alteram de acordo com que as substâncias presentes no óleo recém extraído se modificam ao longo do tempo de degradação.^{5,7-9}

4. OSAWA, C. C.; GONÇALVES, L. A. G.; RAGAZZI, S. Titulação potenciométrica aplicada na determinação de ácidos graxos livres de óleos e gorduras comestíveis. **Química Nova**, v. 29, p. 593–599, 2006.

5. AMMARI, F. et al. Study of the heat stability of sunflower oil enriched in natural antioxidants by different analytical techniques and front-face fluorescence spectroscopy combined with independent component analysis. **Talanta**, v. 99, p. 323–329, 2012.

6. GONÇALVES, R. P.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. Thermal edible oil evaluation by UV–Vis spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 163, p. 83–86, 2014.

7. DANTAS, M. B. et al. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. **Fuel**, v. 90, p. 773–778, 2011.

8. NEHDI, I. A. *Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* seed oil: chemical composition, physicochemical characteristics, and utilizations. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 381–385, 2013.

9. TENA, N.; GARCÍA-GONZÁLES, D. L.; APARICIO, R. Evaluation of virgin olive oil thermal deterioration by fluorescence spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 10505–10511, 2009.

Sabendo-se que um dos principais potenciais de uso para o óleo extraído da semente do nabo forrageiro é a produção de biodiesel, faz-se extremamente necessária a análise da estabilidade oxidativa dessa matéria prima, uma vez que é característica de extrema importância na indústria de automotores, destino final do biodiesel.⁷

Originalmente proposto por Hadorn Zurcher, o teste de indução com um aparelho Rancimat é utilizado vastamente na literatura para o estudo da estabilidade oxidativa de óleos vegetais produzidos para qualquer fim. Parâmetros são então determinados de acordo com o tempo de indução demonstrado por óleo, considerando-se o respectivo fim. O método baseia-se no aumento da condutividade da água deionizada em um reservatório, onde os ácidos voláteis provenientes do processo de oxidação são contidos.^{7,18,19}

Quando a condutividade começa a aumentar rapidamente, este é então determinado o tempo de indução, o qual indica o tempo necessário para se atingir o ponto máximo de degradação da amostra.^{7,18,19}

7. DANTAS, M. B. et al. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. **Fuel**, v. 90, p. 773–778, 2011.

18. FERRARI, R. A.; SOUZA, W. L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, p. 106–111, 2009.

19. EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION (Org.). **EN 14112** - Fat and oil derivatives: determination of oxidation stability (accelerated oxidation test). Berlin, Germany, 2003.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Matéria-prima bruta e extração do óleo

As sementes de nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) de foram obtidas pela distribuidora BRSeeds® em janeiro de 2012. Estas foram processadas em um liquidificador industrial (Becker LTB-4) e o óleo extraído em um sistema Soxhlet, utilizando hexano P.A. (Proquimios), por uma média de 4 horas e 30 minutos. A separação do óleo e solvente foi realizada por meio de um evaporador rotativo (Fisatom 803), com um banho termostático a 50 °C e velocidade de rotação entre 25 e 55 rpm. O aparelho foi acoplado a uma bomba de vácuo de 400 mmHg (Fanem 089-CAL). As amostras, após separadas, foram armazenadas a -5 °C em um freezer convencional.^{2,16,20}

4.2. Composição de ácidos graxos

A análise da composição de ácidos graxos do óleo foi feita por cromatografia gasosa, de acordo com o método Ce 2-66, utilizando um cromatógrafo a gás (Shimadzu GC 2012 plus) com coluna (100 m e 0,25 mm) de sílica fundida (SP-2560). A temperatura foi mantida constante a 140 °C por 5 minutos, seguido de um aquecimento de 4 °C por minuto, até um máximo de 240 °C, permanecendo nesta temperatura por 30 minutos. As temperaturas no vaporizador e no detector foram mantidas a 250 e 260 °C, respectivamente. Utilizou-se hélio como gás carreador.²¹

2. SHAH, S. N. et al. Potential application of turnip oil (*Raphanus sativus* L.) for biodiesel production: physical-chemical properties of neat oil, biofuels and their blends with ultra-low sulphur diesel (ULSD). **Bioenergy Research**, v. 6, p. 841–850, 2013.

16. ALMEIDA P. P., MEZZOMO N., FERREIRA S. R. S. Extraction of *Mentha spicata* L. volatile compounds: evaluation of process parameters and extract composition. **Food Bioprocess Technology**, v. 5, p. 548–559, 2012.

20. PRIEGO-LÓPEZ, E. et al. Focused microwave-assisted Soxhlet extraction: an expeditive approach for the isolation of lipids from sausage products. **Food Chemistry**, v. 83, p. 143–149.

21. AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY (Org.). **AOCS Official Method Ce 2-66**: Preparation of methyl esters of fatty acids. Illinois, EUA, 2009.

4.3. Degradação térmica do óleo e tempo de indução

A oxidação térmica do óleo foi induzida por aquecimento das amostras a 110 °C, no escuro, em uma estufa com circulação de ar (Sterilifer SXCR42), por 3, 7, 12, 20 e 36 horas, analisando-se também aquela que não foi submetida a nenhum período de aquecimento (0 h). Após finalizados os períodos de exposição térmica, elas foram armazenadas a -4 °C até o momento de análise.

O tempo de indução foi determinado por duplicata utilizando o método Rancimat, com um fluxo de ar de 10 L.h⁻¹ e temperatura de 110 °C. O método é baseado na formação de ácidos orgânicos de cadeias curtas por meio de reações entre os triacilgliceróis e o oxigênio. O efeito imediato da oxidação é o aumento da acidez e da condutividade de uma solução controle.¹⁹

4.4. Índice de acidez e densidade

O índice de acidez foi determinado a partir de titulação clássica, utilizando 2,0 g de amostra para cada tempo de degradação determinado, 25 mL de uma solução em razão 2:1 de éter e álcool etílico, e duas gotas de fenolftaleína em cada um de três frascos Erlenmeyer para uma análise em triplicata. As amostras foram tituladas com uma solução de hidróxido de potássio 0,1 mol.L⁻¹ até o aparecimento da coloração rosa, mantida por 30 s. A densidade foi medida com o auxílio de um picnômetro (Elite), a 25 °C.^{22,23} O picnômetro foi preenchido completamente com o óleo de nabo forrageiro para cada tempo de degradação. Assim, colocou-se a tampa da vidraria a fim de transbordá-lo e preencher o capilar nela contido. O picnômetro foi então limpo com papel toalha e pesado. A partir do valor obtido fazendo-se o mesmo processo com água destilada, é possível descobrir a densidade relativa do óleo em cada ponto de degradação escolhido dividindo-se a massa obtida do picnômetro cheio de óleo por aquela dele cheio de água destilada.

19. EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION (Org.). **EN 14112** - Fat and oil derivatives: determination of oxidation stability (accelerated oxidation test). Berlin, Germany, 2003.

22. VASCONCELOS, A. F. F.; GODINHO, O. E. S. Uso de métodos analíticos convencionados no estudo da autenticidade do óleo de copaíba. **Química Nova**, v. 25, p. 1057–1060, 1992.

23. NOUREDDINI, H.; TEOH, B. C.; CLEMENTS, L. D. Densities of vegetable oils and fatty acids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 69, p. 1184–1188, 1992.

4.5. Espectroscopia de absorção de luz UV-vis e fluorescência molecular

As amostras foram diluídas em hexano de grau espectroscópico (Vetec > 99%), para se atingirem duas concentrações, 20 e 0,3% (m/v), a fim de utilizá-las na análise espectroscópica de absorção de luz UV-vis. O espectro foi obtido na faixa de 225 a 700 nm, utilizando-se um espectrômetro de absorção molecular de UV-vis (Varian Cary 50). As medidas de espectroscopia de fluorescência molecular foram feitas de modo que se pudesse observar a emissão em 506 e 676 nm, correspondentes a compostos carotenóides e clorofilas, respectivamente, fornecendo informações sobre o grau de degradação da amostra.^{24,25} O espectro de emissão foi obtido com excitação entre 345 e 430 nm e emissão entre 400 e 700 nm, em um espectrofluorímetro (Varian Cary Eclipse), ambos equipados com uma célula de quartzo que possui 10 mm de espessura.

4.6. Análise estatística

Os resultados para o número de ácidos graxos foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) e um teste de Tukey foi utilizado para comparar as significâncias ($p < 0,05$). O programa Graph Prism 6.01 foi utilizado para a análise estatística.

24. SIKORSKA, E. et al. Classification of edible oils using synchronous scanning fluorescence spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 89, p. 217–225, 2005.

25. CHEIKHOUSMAN, R. et al. Fluorescence spectroscopy for monitoring deterioration of extra virgin olive oil during heating. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 382, p. 1438–1443, 2005.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Composição do óleo e resistência oxidativa por Rancimat

A tabela 2 mostra a composição de ácidos graxos encontrada no óleo por meio da análise cromatográfica gasosa. Por meio deles, observa-se a presença de uma maioria de ácidos graxos insaturados, com uma quantidade total de 73% da amostra de óleo da semente de nabo forrageiro. Tais valores se assemelham com outros estudos onde há uma predominância dos ácidos oleico (18:1), linoleico (18:2), erúcico (22:1), linolênico (18:3) e eicosenóico (20:1).^{2,26,27}

A grande quantidade de ácido erúcico encontrada na composição do óleo de estudo inviabiliza o uso do mesmo para fins nutritivos, uma vez que tal substância se apresenta tóxico aos seres humanos e outros organismos, sendo este ácido em particular permitido em quantidade de 2% nos produtos alimentícios oleicos.⁸

No entanto, ainda possui uma porcentagem significativa de ácidos graxos essenciais, como oleico, linolênico e linoleico que podem viabilizar o produto para o uso deste em fármacos.⁸

2. SHAH, S. N. et al. Potential application of turnip oil (*Raphanus sativus* L.) for biodiesel production: physical–chemical properties of neat oil, biofuels and their blends with ultra-low sulphur diesel (ULSD). **Bioenergy Research**, v. 6, p. 841–850, 2013.

8. NEHDI, I. A. *Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* seed oil: chemical composition, physicochemical characteristics, and utilizations. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 381–385, 2013.

26. YANIV, Z. et al. Differences in fatty acid composition of oils of wild Cruciferae seed. **Phytochemistry**, v. 30, p. 841–843, 1991.

27. MANDAL, S. et al. Correlation studies on oil content and fatty acid profile of some cruciferous species. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 49, p. 551–556, 2002.

Tabela 2. Composição de ácidos graxos do óleo da semente de nabo forrageiro (*R. sativus*) obtida por meio da análise de cromatografia gasosa. Os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão.

Ácidos graxos		Valores (%)
Palmítico	C 16:0	6.38 \pm 0.66
Palmitoleico	C 16:1	0.33 \pm 0.01
Esteárico	C 18:0	2.32 \pm 0.14
Oleico	C 18:1 (n-9)	31.72 \pm 2.14
Vaccênico	C 18:1 (n-7)	0.00 \pm 0.00
Linoleico	C 18:2 (n-6)	18.35 \pm 1.27
Araquídico	C 20:0	0.93 \pm 0.06
Eicosenóico	C 20:1	8.80 \pm 0.59
Linolênico	C 18:3 (n-3)	11.38 \pm 0.67
Docosanóico	C 22:0	0.53 \pm 0.03
Erúcico	C 22:1	17.89 \pm 1.13
Lignocérico	C 24:0	0.63 \pm 0.04
Nervônico	C 24:1	1.80 \pm 0.29
Σ Saturados		10.79 \pm 0.93
Σ Monoinsaturados		60.54 \pm 4.16
Σ Poliinsaturados		29.73 \pm 1.94

O tempo de indução obtido na técnica de Rancimat foi de $48,01 \pm 1,00$ h, o qual, além de ser muito superior ao ideal para biodiesel (6 h), foi mais longo se comparado com o óleo de soja e girassol, e semelhante àquele encontrado para o óleo de oliva na literatura.^{28,29}

Uma explicação possível para os resultados seria a presença de compostos clorofilinos, em comum com o óleo de oliva, carotenoides e tocoferóis, em comum com os óleos de girassol e soja, uma vez que tais substâncias se degradam prioritariamente em condições de stress oxidativo, mantendo assim a integridade dos ácidos graxos.^{30,31}

28. BRENES, M. 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, p. 5962–5967, 2002.

29. LEE, J.; LEE, Y.; CHOE, E. Temperature dependence of the autoxidation and antioxidants of soybean, sunflower, and olive oil. **European Food Research and Technology**, v. 226, p. 239–246, 2007.

30. HANYZ, I. et al. The photochemical stability of oil from evening primrose seeds. **Dyes and Pigments**, v. 70, p. 177–184, 2006.

31. SANCHES, C.; BARANDA, A. B.; MARANON, I. M. The effect of high pressure and high temperature processing on carotenoids and chlorophylls content in some vegetables. **Food Chemistry**, v. 163, p. 37–45, 2014.

Além disto, apresentam em comum uma predominância de ácidos graxos monoinsaturados, os quais também conferem ao óleo uma característica de resistência oxidativa.⁶

5.2. Análise do índice de acidez e densidade com a crescente oxidação térmica

O índice de acidez aumentou com o tempo de degradação, variando entre 2,40 a 2,56 mg KOH.g⁻¹, como mostra a figura 1. O resultado é decorrente da quantidade considerável de ácidos graxos poliinsaturados presentes no óleo da semente de *R. sativus*, os quais são suscetíveis à hidrólise.³²

Uma oxidação primária das ligações duplas gera hidroperóxidos, os quais, ao sofrerem uma oxidação sucessiva, geram compostos denominados secundários, como os ácidos graxos livres de cadeias menores, aldeídos, cetonas e uma mistura complexa de radicais. Conseqüentemente, o índice de acidez total do óleo se modifica ao decorrer da exposição térmica.^{5,6,33} A equação 1 descreve o comportamento observado do índice de acidez com a degradação térmica do óleo.

$$\text{Índice de acidez} = -0,1720 \frac{0,3195 - \text{tempo (h)}}{9,3180} + 2,5778 \quad (1)$$

5. AMMARI, F. et al. Study of the heat stability of sunflower oil enriched in natural antioxidants by different analytical techniques and front-face fluorescence spectroscopy combined with independent component analysis. **Talanta**, v. 99, p. 323–329, 2012.

6. GONÇALVES, R. P.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. Thermal edible oil evaluation by UV–Vis spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 163, p. 83–86, 2014.

32. ÁVILA, R. N. A.; SODRÉ, J. R. Physical-chemical properties and thermal behavior of fodder radish crude oil and biodiesel. **Industrial Crops and Products**, v. 38, p. 54–57, 2012.

33. VELASCO, J. et al. Formation of short-chain glycerol-bound oxidation products and oxidized monomeric triacylglycerol during deep-frying and occurrence in used frying fats. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 106, p. 728–735, 2004.

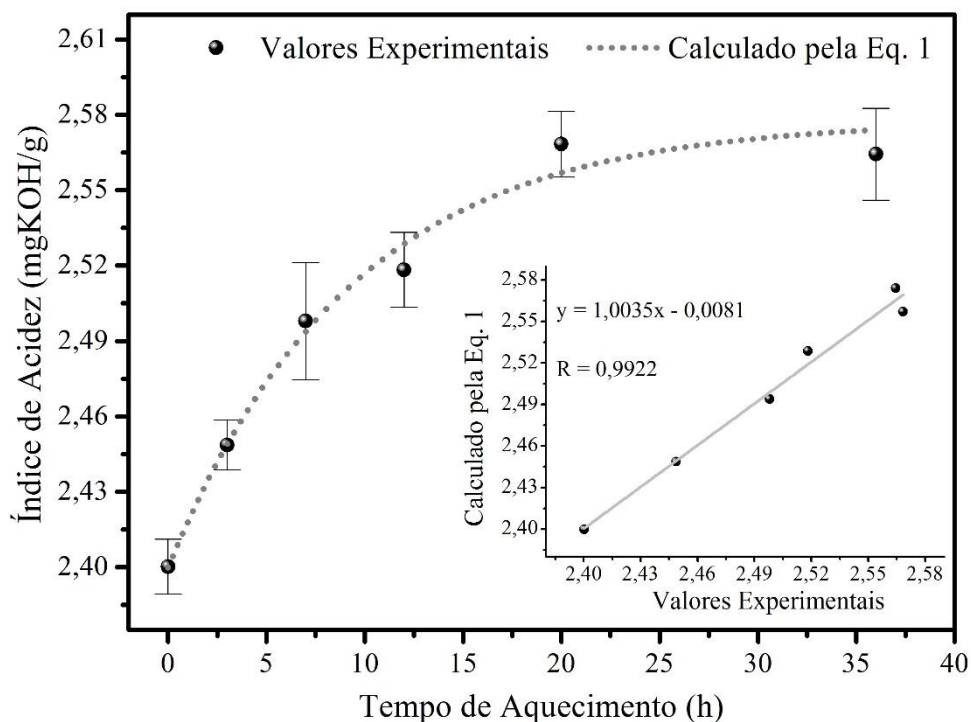


Figura 1. Variações no índice de acidez em relação ao tempo de degradação térmica do óleo da semente de *R. sativus* e a correlação entre os valores experimentais e aqueles calculados pela equação 1. Os números estão expressos em média \pm desvio padrão de uma análise em triplicata por titulação clássica.

O efeito do tempo de degradação térmica na densidade se mostrou de modo crescente, obedecendo à equação 2 e alcançando valores próximos de $0,91 \text{ g.cm}^{-3}$ após o processo de oxidação, como pode ser observado na figura 2.

O crescimento pode ser explicado pela quebra das ligações duplas durante o processo de degradação, aumentando assim a quantidade de compostos saturados no óleo. Tais substâncias possuem cadeias carbônicas mais lineares, favorecendo então a interação entre elas. Dessa forma, as moléculas se reorganizam em um arranjo melhor empacotado, semelhante à estruturação molecular encontrada em gorduras, sólidas em temperatura ambiente.^{14,34}

14. NADALETI, W. C. **Planejamento fatorial**: estudo da estabilidade oxidativa de blends de biodiesel de soja, cramebe, babaçu, e gordura suína. 2014. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia na Agricultura) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel.

34. VALDÉS, A. F.; GARCIA, A. B. A study of the evolution of the physicochemical and structural characteristics of olive and sunflower oils after heating at frying temperatures. **Food Chemistry**, v. 98, p. 214–219, 2006.

$$Densidade = -0,0324 \frac{0,0565 - tempo (h)}{12,2811} + 0,9091 \quad (2)$$

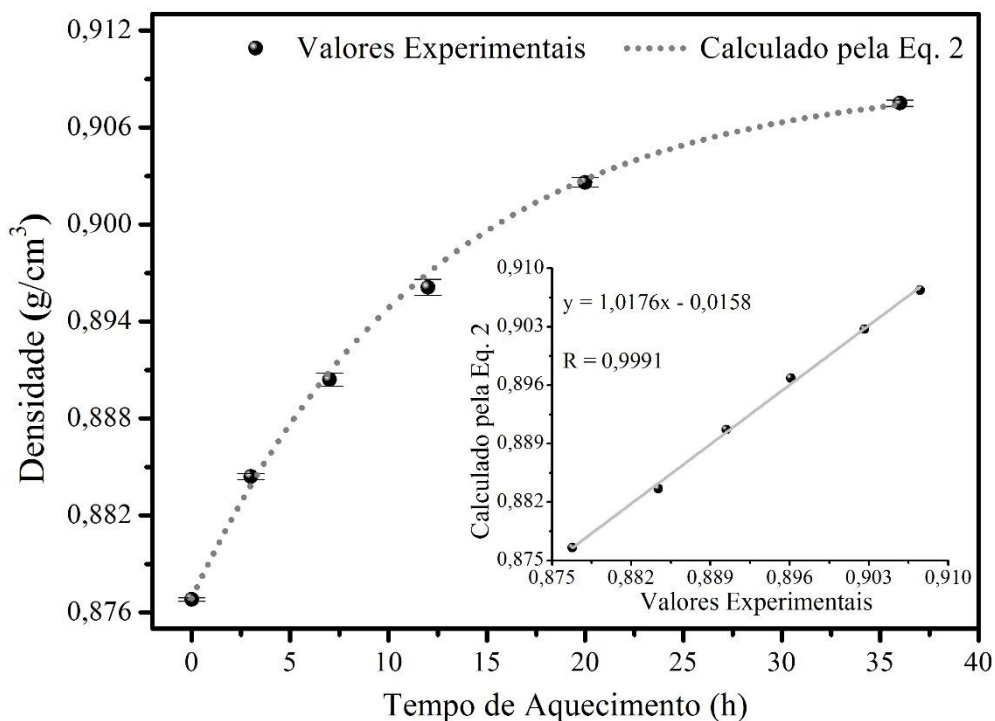


Figura 2. Variações na densidade em relação ao tempo de degradação térmica do óleo da semente de *R. sativus* e a correlação entre os valores experimentais e aqueles calculados pela equação 2. Os números estão expressos em média \pm desvio padrão de uma análise em triplicata utilizando um picnômetro.

5.3. Perfis de fluorescência e absorção molecular do óleo oxidado

O espectro de absorção do óleo estudado, enquanto não degradado, apresentou pico leve de absorção na região espectral de 250 e 290 nm, aumentando a intensidade do mesmo proporcionalmente ao tempo de oxidação térmica induzida. Como pode ser visto na figura 3a.

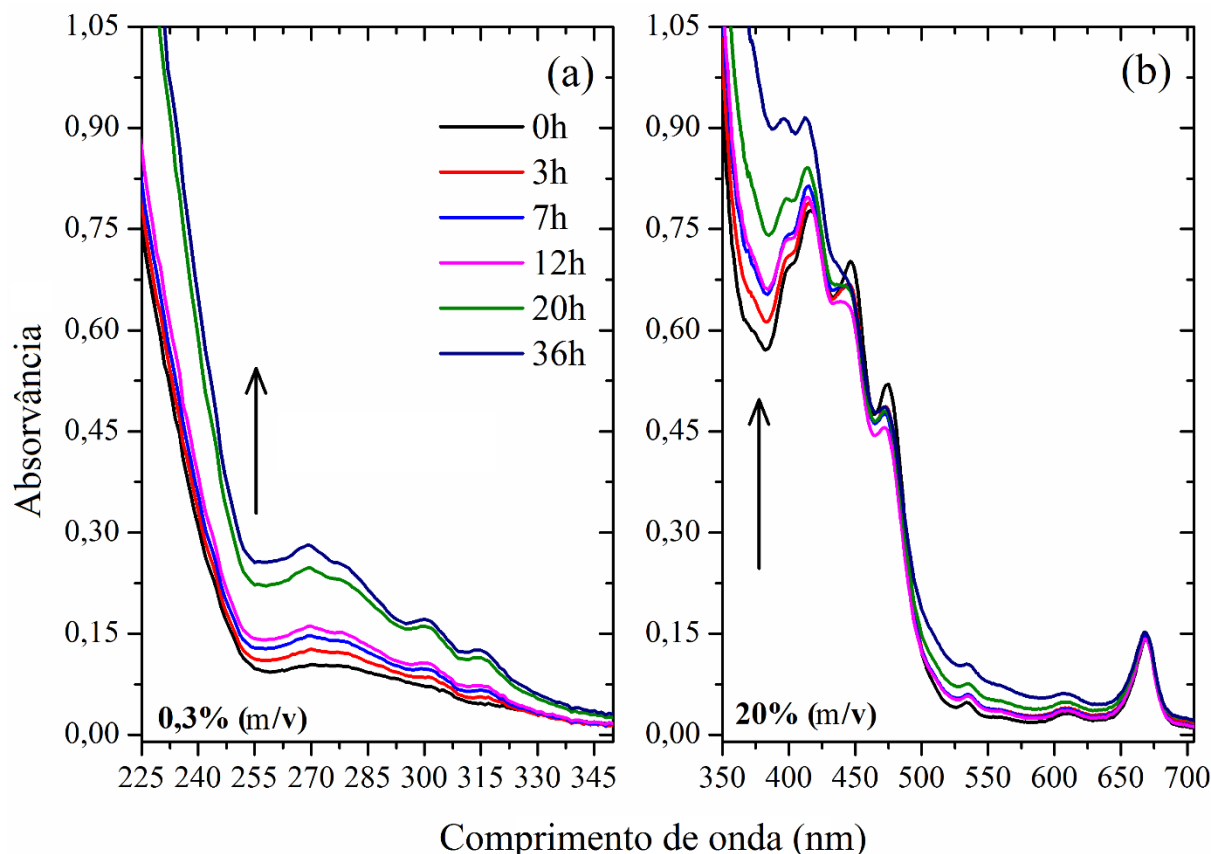


Figura 3. Espectro de absorção de acordo com o tempo de degradação térmica do óleo da semente de *R. sativus* em concentrações de 0,3% (m/v) (a) e 20% (m/v) (b), diluído em hexano. Os valores demonstrados são médias \pm desvios padrão de uma triplicata de varredura.

Estudos encontrados na literatura mostram que tal região é comumente utilizada para se monitorar a oxidação de óleos pela formação de compostos primários e secundários, os quais possuem um máximo de absorção em 232 e 270 nm, respectivamente. Aquela em 232 nm é influenciada pela formação de dienos conjugados provenientes da degradação de ácidos insaturados, como oleico, linoleico e linolênico. Já em 270 nm, a absorção é controlada pela quantidade de compostos oxidados, como aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos.^{7-9,18}

7. DANTAS, M. B. et al. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. **Fuel**, v. 90, p. 773–778, 2011.

8. NEHDI, I. A. *Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* seed oil: chemical composition, physicochemical characteristics, and utilizations. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 381–385, 2013.

9. TENA, N.; GARCÍA-GONZÁLES, D. L.; APARICIO, R. Evaluation of virgin olive oil thermal deterioration by fluorescence spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 10505–10511, 2009.

18. FERRARI, R. A.; SOUZA, W. L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, p. 106–111, 2009.

A figura 4 mostra o aumento da absorção do óleo em função do tempo de exposição à temperatura de trabalho, confirmando a formação dos compostos primários e secundários ao decorrer do processo de degradação térmica do óleo estudado.

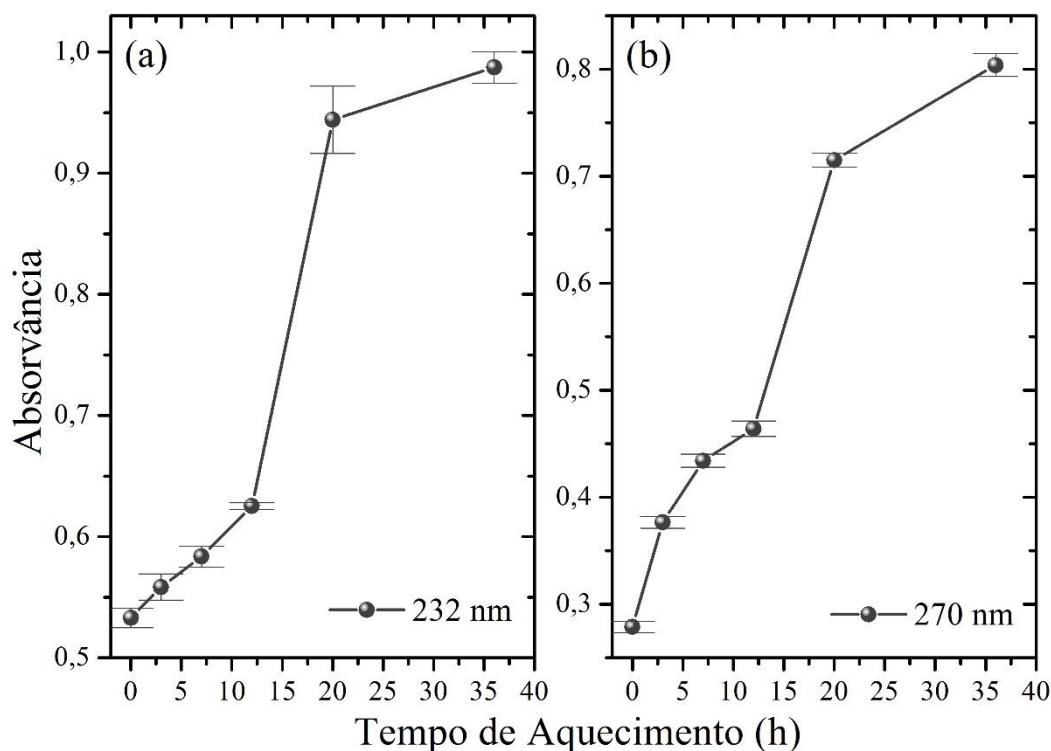


Figura 4. Perfis de absorção em 232 nm (a) e 270 nm (b) do óleo da semente de *R. sativus* ao longo do processo de degradação térmica. As amostras foram diluídas em hexano a 0,3% (m/v). Os valores estão expressos em médias +/- desvios padrão de uma triplicata de análise de absorvância nos comprimentos de onda determinados.

Ainda na região do UV, bandas de absorção na faixa de 350 a 700 nm foram observadas e são demonstradas na figura 3b. A absorção em regiões de 370 a 550 nm e 650 a 700 nm ocorrem devido a presença de carotenoides e compostos clorofilinos, respectivamente.^{23,24,35,36}

23. NOUREDDINI, H.; TEOH, B. C.; CLEMENTS, L. D. Densities of vegetable oils and fatty acids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 69, p. 1184–1188, 1992.

24. SIKORSKA, E. et al. Classification of edible oils using synchronous scanning fluorescence spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 89, p. 217–225, 2005.

35. COTTON, T. M. et al. State of chlorophyll α in vitro and in vivo from electronic transition spectra, and the nature of antenna chlorophyll. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 368, p. 181–198, 1974.

36. MOYA, I.; GUYOT, G.; GOULAS, Y. Remotely sensed blue and red fluorescence emission for monitoring vegetation. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v. 47, p. 205–231, 1992.

Nesses intervalos, os resultados obtidos mostraram variações pouco visíveis para a concentração trabalhada na absorção de 650-700 nm. No entanto, ao se analisar a absorção no intervalo de 370-550 nm, observam-se evidências mais acentuadas das alterações sofridas pelo óleo no processo de degradação, sugerindo, portanto, alguma modificação nos compostos carotenoides e clorofilinos do óleo.

O presente trabalho se focou somente na absorção dos comprimentos de onda referentes aos produtos da oxidação dos ácidos graxos, mais comuns na literatura para o monitoramento da degradação de óleos vegetais, analisando os antioxidantes pela técnica de fluorescência.

Os estágios iniciais e finais do processo de oxidação podem ser também monitorados por meio da razão entre as intensidades de absorção em 232 e 270 nm, obtidas pela equação 3 e mostrados na figura 5.

$$\text{Razão}_{232/270} = -0,18973 \cdot \ln(3,72067 \times 10^{-4} \cdot \ln(\text{tempo}(h))) \quad (3)$$

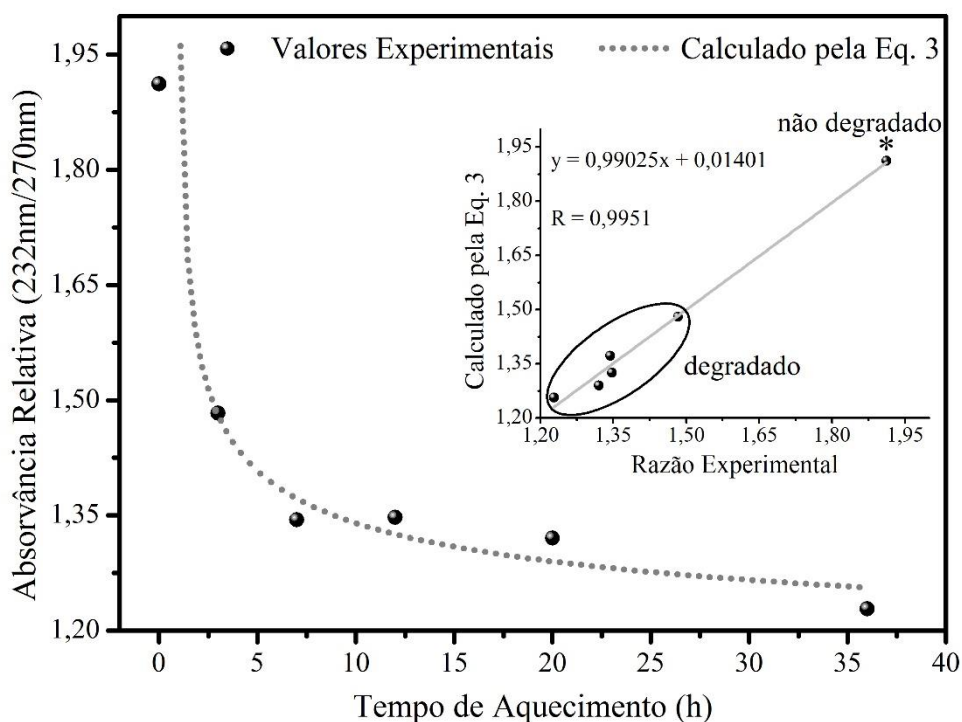


Figura 5. Razão entre as intensidades de absorção ao longo do processo de oxidação térmica do óleo da semente de *R. sativus* e a correlação entre os valores experimentais e aqueles calculados pela Eq. 3. *Tempo de degradação considerado de 1,12 h, o qual é o tempo necessário para que a equação atinja uma razão de 1,91. Os valores são expressos como média das absorvâncias em 232 e 270 nm.

O espectro de fluorescência do óleo da semente de nabo forrageiro se mostrou intenso em duas regiões específicas antes de ser submetido ao processo de oxidação. A emissão característica de carotenoides observada na faixa de 390 a 575 nm (excitação de 345 a 410 nm)^{8,9,37}, e a de compostos clorofilinos de 650 a 700 nm (excitação de 350 a 430 nm)^{8,9,38}, como demonstrado na figura 6a e c, respectivamente.

Nas figuras 6b e d, fica evidente a mudança nas intensidades nessas duas faixas de comprimentos de onda em relação ao tempo de degradação térmica.

8. NEHDI, I. A. *Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* seed oil: chemical composition, physicochemical characteristics, and utilizations. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 381–385, 2013.

9. TENA, N.; GARCÍA-GONZÁLES, D. L.; APARICIO, R. Evaluation of virgin olive oil thermal deterioration by fluorescence spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 10505–10511, 2009.

37. PAWLAK, K.; SKRZYPCZAK, A.; BIALEK-BYLKA, G. E. Fluorescence emission characterization of all-*trans* and 15-*cis*- β -carotene in imidazolium based room temperature ionic liquids. **Dyes and Pigments**, v. 99, p. 168–175, 2013.

38. MALHEIRO, R. et al. Can tea extracts protect extra virgin olive oil from oxidation during microwave heating?. **Food Research International**, v. 48, p. 148–154, 2012.

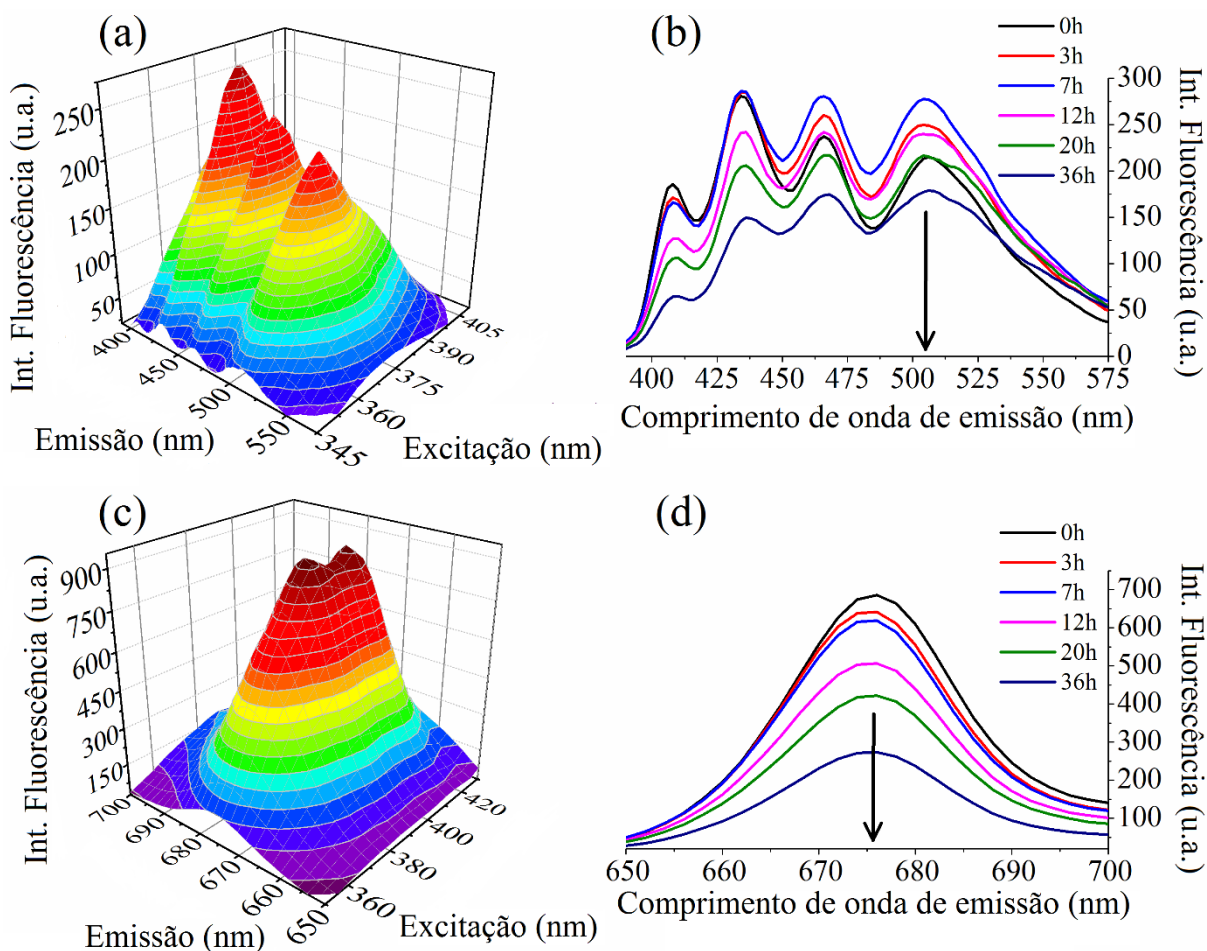


Figura 6. Espectro de fluorescência molecular em duas regiões previamente ao processo de oxidação térmica, 650-700 nm (a) e 390-575 nm (c). Diminuição na intensidade de fluorescência durante o processo oxidativo (b) e (d), com excitação em 375 nm.

Uma alternativa para o monitoramento do processo é mostrada na figura 7, a qual representa o comportamento relativo entre as intensidades de emissão nos comprimentos de onda de 676 e 506 nm, em função do tempo, baseado na equação 4.

$$\begin{aligned}
 \text{Razão}_{676/506} = & 3,19213 - 0,28401 \cdot (t) + 0,0328 \cdot (t)^2 - 0,00157(t)^3 + 3,71989 \times \\
 & 10^{-5} \cdot (t)^4 - 3,28786 \times 10^{-7} \cdot (t)^5 \quad (4)
 \end{aligned}$$

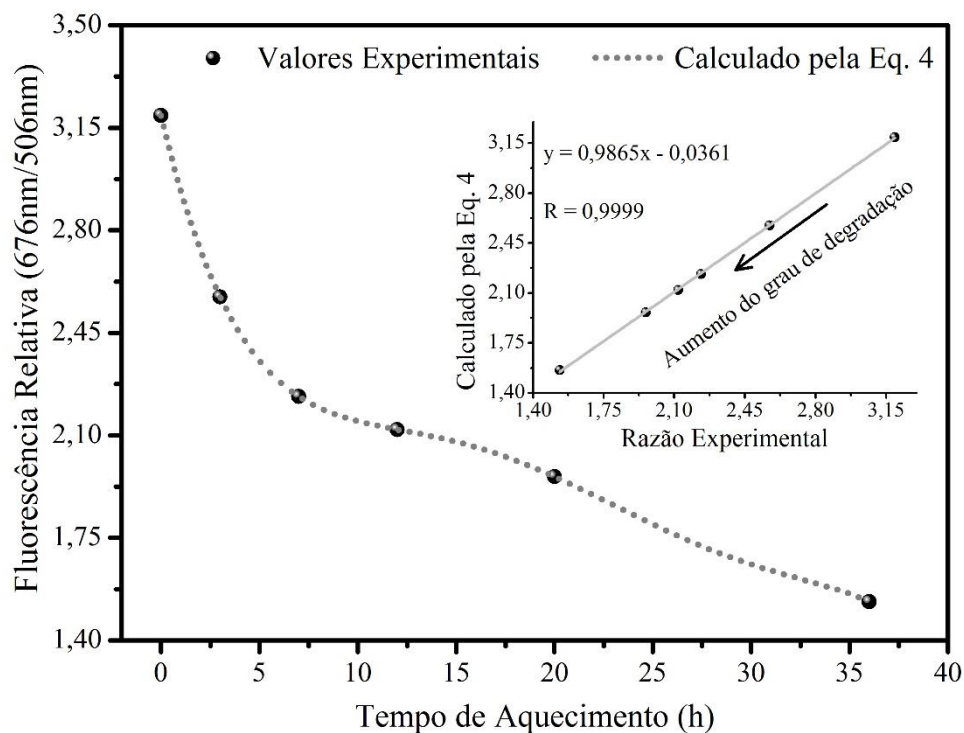


Figura 7. Razão entre as intensidades de emissão durante a degradação térmica do óleo da semente de *R. sativus* e a correlação entre os valores experimentais e aqueles calculados pela Eq. 4. Os valores são a razão das emissões individuais em 676 e 506 nm.

O resultado da análise de fluorescência mostra uma redução menos abrupta na razão entre os comprimentos de onda quando comparados com os valores relativos de absorção, observados na figura 5 e obtidos pela equação 3, demonstrando o potencial da técnica na avaliação mais precisa dos estágios de oxidação e monitoramento gradual da degradação do óleo de *R. sativus*.

Os resultados espectroscópicos sugerem que além dos ácidos graxos, antioxidantes naturais como compostos carotenoides e clorofilinos também sofrem degradação no processo de oxidação térmica do óleo, considerando-se as mudanças observadas nos respectivos comprimentos de onda de 676 nm, na análise de emissão, e 450 nm, na absorção.

6. CONCLUSÃO

O trabalho realizado permitiu concluir que a análise de composição mostrou uma predominância de ácidos insaturados no óleo da semente de *Raphanus sativus* L. var. *oleiferus* Metzg.. Apesar de tais insaturações serem susceptíveis a reações oxidativas, o óleo apresenta alta resistência à oxidação, demonstrada pelo longo tempo de indução de 48 h obtido na análise por Rancimat. A oxidação térmica induzida promoveu mudanças no índice de acidez, densidade e nas propriedades ópticas do óleo.

A razão entre as absorvâncias em 232 e 270 nm mostrou o processo de degradação como um abrupto declínio. Alternativamente, a razão entre as emissões em 276 e 506 apresentou um perfil mais gradual, deixando claro a eficiência da técnica no monitoramento do processo de degradação do óleo de nabo forrageiro.

Logo, os resultados indicam que além de apresentarem vantagens como utilizarem menos reagentes, terem uma maior sensibilidade na análise, um baixo limite de detecção e quantificação, e possuírem ainda uma alta frequência analítica, também proporcionam um monitoramento eficiente e claro dos processos oxidativos ocorrendo nos óleos vegetais durante as diversas etapas da obtenção e comercialização do óleo.

7. REFERÊNCIAS

1. DOMINGOS, A. K. et al. Optimization of the ethanolysis of *Raphanus sativus* (L. Var.) crude oil applying the response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 99, p.1837–1845, 2008.
2. SHAH, S. N. et al. Potential application of turnip oil (*Raphanus sativus* L.) for biodiesel production: physical–chemical properties of neat oil, biofuels and their blends with ultra-low sulphur diesel (ULSD). **Bioenergy Research**, v. 6, p. 841–850, 2013.
3. GUINAZI, Michele et al. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Química Nova**, v. 32, p. 2098–2103, 2009.
4. OSAWA, C. C.; GONÇALVES, L. A. G.; RAGAZZI, S. Titulação potenciométrica aplicada na determinação de ácidos graxos livres de óleos e gorduras comestíveis. **Química Nova**, v. 29, p. 593–599, 2006.
5. AMMARI, F. et al. Study of the heat stability of sunflower oil enriched in natural antioxidants by different analytical techniques and front-face fluorescence spectroscopy combined with independent component analysis. **Talanta**, v. 99, p. 323–329, 2012.
6. GONÇALVES, R. P.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. Thermal edible oil evaluation by UV–Vis spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 163, p. 83–86, 2014.
7. DANTAS, M. B. et al. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. **Fuel**, v. 90, p. 773–778, 2011.
8. NEHDI, I. A. *Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* seed oil: chemical composition, physicochemical characteristics, and utilizations. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 381–385, 2013.
9. TENA, N.; GARCÍA-GONZÁLES, D. L.; APARICIO, R. Evaluation of virgin olive oil thermal deterioration by fluorescence spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 10505–10511, 2009.
10. BARROS, T. D.; JARDINE, J. G. Nabo Forrageiro. Brasília, DF: Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em:
<<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fb123vn002wx5eo0sawqe38tspejq.html>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

11. DAMBISKI, L. **Síntese de biodiesel de óleo de nabo forrageiro empregando metanol supercrítico**. 2007. 94 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica e de Materiais) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba.
12. SOUZA, K. A. de et al. Cinética de secagem do nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.). **Ciência Agronômica**, v. 42, p. 883-892, 2011.
13. PADILHA, A. C. M.; GOLLO, S. S.; SILVA, M. N. da. **Estudos na cadeia produtiva do biodiesel**. Jaguarão: Unipampa, 2012. 255 p..
14. NADALETI, W. C. **Planejamento fatorial**: estudo da estabilidade oxidativa de blendas de biodiesel de soja, crambe, babaçu, e gordura suína. 2014. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia na Agricultura) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel.
15. MELO, M. A. M. F. **Avaliação das propriedades de óleos vegetais visando a produção de biodiesel**. 2010. 118 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
16. ALMEIDA P. P., MEZZOMO N., FERREIRA S. R. S. Extraction of *Mentha spicata* L. volatile compounds: evaluation of process parameters and extract composition. **Food Bioprocess Technology**, v. 5, p. 548–559, 2012.
17. MARINHO, R. B. **Estudo da Estabilidade termo-oxidativa de biodiesel por Rancimat, PetroOXY e Termogravimetria**. 2012. 97 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
18. FERRARI, R. A.; SOUZA, W. L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, p. 106–111, 2009.
19. EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION (Org.). **EN 14112** - Fat and oil derivatives: determination of oxidation stability (accelerated oxidation test). Berlin, Germany, 2003.
20. PRIEGO-LÓPEZ, E. et al. Focused microwave-assisted Soxhlet extraction: an expeditive approach for the isolation of lipids from sausage products. **Food Chemistry**, v. 83, p. 143–149.
21. AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY (Org.). **AOCS Official Method Ce 2-66**: Preparation of methyl esters of fatty acids. Illinois, EUA, 2009.
22. VASCONCELOS, A. F. F.; GODINHO, O. E. S. Uso de métodos analíticos convencionados no estudo da autenticidade do óleo de copaíba. **Química Nova**, v. 25, p. 1057–1060, 1992.

23. NOUREDDINI, H.; TEOH, B. C.; CLEMENTS, L. D. Densities of vegetable oils and fatty acids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 69, p. 1184–1188, 1992.
24. SIKORSKA, E. et al. Classification of edible oils using synchronous scanning fluorescence spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 89, p. 217–225, 2005.
25. CHEIKHOUSMAN, R. et al. Fluorescence spectroscopy for monitoring deterioration of extra virgin olive oil during heating. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 382, p. 1438–1443, 2005.
26. YANIV, Z. et al. Differences in fatty acid composition of oils of wild Cruciferae seed. **Phytochemistry**, v. 30, p. 841–843, 1991.
27. MANDAL, S. et al. Correlation studies on oil content and fatty acid profile of some cruciferous species. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 49, p. 551–556, 2002.
28. BRENES, M. 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, p. 5962–5967, 2002.
29. LEE, J.; LEE, Y.; CHOE, E. Temperature dependence of the autoxidation and antioxidants of soybean, sunflower, and olive oil. **European Food Research and Technology**, v. 226, p. 239–246, 2007.
30. HANYZ, I. et al. The photochemical stability of oil from evening primrose seeds. **Dyes and Pigments**, v. 70, p. 177–184, 2006.
31. SANCHES, C.; BARANDA, A. B.; MARANON, I. M. The effect of high pressure and high temperature processing on carotenoids and chlorophylls content in some vegetables. **Food Chemistry**, v. 163, p. 37–45, 2014.
32. ÁVILA, R. N. A.; SODRÉ, J. R. Physical-chemical properties and thermal behavior of fodder radish crude oil and biodiesel. **Industrial Crops and Products**, v. 38, p. 54–57, 2012.
33. VELASCO, J. et al. Formation of short-chain glycerol-bound oxidation products and oxidized monomeric triacylglycerol during deep-frying and occurrence in used frying fats. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 106, p. 728–735, 2004.
34. VALDÉS, A. F.; GARCIA, A. B. A study of the evolution of the physicochemical and structural characteristics of olive and sunflower oils after heating at frying temperatures. **Food Chemistry**, v. 98, p. 214–219, 2006.
35. COTTON, T. M. et al. State of chlorophyll α in vitro and in vivo from electronic transition spectra, and the nature of antenna chlorophyll. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 368, p. 181–198, 1974.

36. MOYA, I.; GUYOT, G.; GOULAS, Y. Remotely sensed blue and red fluorescence emission for monitoring vegetation. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v. 47, p. 205–231, 1992.

37. PAWLAK, K.; SKRZYPCZAK, A.; BIALEK-BYLKA, G. E. Fluorescence emission characterization of all-*trans* and 15-*cis*- β -carotene in imidazolium based room temperature ionic liquids. **Dyes and Pigments**, v. 99, p. 168–175, 2013.

38. MALHEIRO, R. et al. Can tea extracts protect extra virgin olive oil from oxidation during microwave heating?. **Food Research International**, v. 48, p. 148–154, 2012.

8. ANEXO



A pedido do autor o Anexo foi retirado do pdf.