

9º

ENCONTRO QUÍMICA DOS ALIMENTOS

QUALIDADE E SUSTENTABILIDADE
UMA ABORDAGEM INTEGRADA

ORGANIZAÇÃO



ENTIDADES FINANCIADORAS

Representante
da República
para os Açores



FUNDAÇÃO
LUSO-AMERICANA





FICHA TÉCNICA

TÍTULO

9º ENCONTRO QUÍMICA DOS ALIMENTOS

EDITORA

**Sociedade Portuguesa de Química e
Centro de Investigação e Tecnologia Agrária dos Açores (CITAA)**

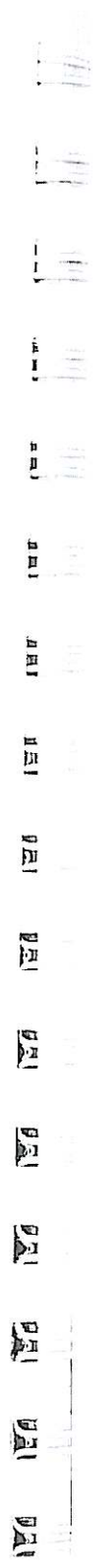
COORDINADOR EDITORIAL António Araújo

IMPRESSÃO Nova Gráfica

TIRAGEM 250 ex.

DEPÓSITO LEGAL 292867/09

DATA Abril de 2009



QUANTIFICAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE α -TOCOFEROL EM CULTIVARES DE AMÊNDOA (*Prunus dulcis*): ENDOSPERMA E TEGUMENTO

João C.M. Barreira^{a,b}, Soraia Falcão^a, M. Vilas-Boas^a, José Alberto Pereira^a, M. Beatriz P.P. Oliveira^b, Isabel C.F.R. Ferreira^{a,*}

^aCIMO-ESAB, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 1172, 5301-855 Bragança, Portugal

^bREQUIMTE/Serviço de Bromatologia, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua Aníbal Cunha, 164, 4099-030 Porto, Portugal

Tel +351 273 303219; Fax +351 273 325 405; e-mail: iferreira@ipb.pt

Palavras-chave: Amêndoa, Tocoferóis, Antioxidante, Voltametria.

Resumo: A resposta biológica sob stress oxidativo severo é por vezes insuficiente. Em consequência, podem desencadear-se doenças cardiovasculares, imunossupressão, envelhecimento precoce ou, em última instância, cancro. Pela sua actividade antioxidante, os tocoferóis podem contribuir para a prevenção destas doenças, desempenhando um papel essencial na diminuição do risco de doença coronária, provavelmente por inibirem a oxidação do colesterol LDL, uma etapa chave no processo aterogénico [1]. A amêndoa é o fruto seco com maior teor de α -tocoferol. No entanto, os estudos efectuados baseiam-se em especial no endosperma (miolo) da amêndoa. Neste trabalho, para além do endosperma, quantificou-se o α -tocoferol presente no tegumento (cutícula) em dez cultivares (regionais: *Casa Nova*, *Duro Italiano*, *Molar*, *Orelha de Mula*, *Pegarinhos 1 grão* e *Pegarinhos 2 grãos*; comerciais: *Ferraduel*, *Ferragnes*, *Ferrastar* e *Guara*) de amêndoa.

Por não necessitarem de técnicas preparatórias morosas, optou-se pelo método electroanalítico. Além do mais, os mecanismos electroquímicos são muitas vezes comparáveis aos que ocorrem nos processos metabólicos dos organismos vivos [2].

O comportamento voltamétrico do α -tocoferol presente nos óleos (extracção feita com éter de petróleo durante 1,5 h) de miolo e de tegumento de amêndoa foi estudado com base na oxidação electroquímica do α -tocoferol, em meio de hexano-etanol.

Os voltamogramas obtidos exibem picos de oxidação bem definidos com um potencial anódico idêntico ao do padrão utilizado.

Verificou-se uma correlação linear entre a intensidade de corrente dos picos e a concentração de α -tocoferol (5 a 100 μ M), com uma sensibilidade de $2,00 \times 10^{-2}$ A L mol⁻¹.

Os resultados obtidos para o endosperma revelaram teores superiores de tocoferóis aos verificados nos tegumentos, registando-se algumas diferenças inter-cultivares. No caso dos tegumentos, isto poderá constituir uma nova possibilidade de aplicação nutricional ou terapêutica de um subproduto, actualmente, sem aproveitamento industrial.

1. INTRODUÇÃO

Os tocoferóis, componentes da vitamina E, pertencem a um grupo de compostos estruturalmente relacionados designados tocóis. A sua estrutura contém uma parte cíclica e uma cadeia lateral isoprénica sem ligações duplas. São antioxidantes fenólicos naturais, presentes em óleos vegetais, sendo responsáveis por algumas das propriedades benéficas dos alimentos. Podem neutralizar os radicais de forma eficaz, protegendo o organismo, e mais especificamente os ácidos gordos polinsaturados de ataque de radicais livres. São também importantes a nível intracelular, uma vez que a sua presença aumenta a resistência das membranas e impede que estas sejam lesadas, uma vez mais através da neutralização de radicais livres [3].

A actividade electroquímica da vitamina E está associada com o grupo hidroxilo fenólico, que é prontamente oxidado [4]. Os métodos utilizados para a determinação de tocoferóis em amostras alimentares são frequentemente morosos, em especial devido às fases de preparação da amostra. O teor em tocoferóis pode ser avaliado através de métodos colorimétricos [5], cromatográficos [6,7] ou polarográficos [8,9].

Os tocoferóis são classificados de acordo com a substituição dos grupos metilo no anel fenólico. O α -tocoferol (α -T) é metilado nas posições 5, 7 e 8 do anel fenólico (5,7,8-trimetiltocol).

Os frutos secos são alguns dos alimentos que contêm tocoferóis no estado livre, contribuindo para a estabilidade destes produtos.

Dado que o objectivo era a análise dos teores em α -tocoferol nos óleos obtidos dos endospermas e tegumentos de amêndoa utilizando métodos electroquímicos, era importante seleccionar o meio que melhor dissolvesse estas amostras lipídicas. Num ensaio electroquímico, o solvente deve: ser miscível com os óleos vegetais (de forma a obter uma amostra homogénea); ter uma constante dieléctrica apropriada; solubilizar perfeitamente o electrólito de suporte (para obter uma mistura condutora com a amostra oleica); apresentar baixa toxicidade (para permitir uma aplicação experimental segura) [2].

Em trabalhos anteriores [10], verificou-se que o comportamento voltamétrico do α -tocoferol pode ser estudado no eléctrodo de carbono vítreo, em meio de hexano-etanol, preferível a outros solventes tóxicos como o benzeno, utilizando diferentes técnicas: voltametria de pulso diferencial e cíclica. Neste trabalho, as técnicas electroanalíticas - voltametria de pulso diferencial (VDP) e voltametria cíclica (VC) - foram utilizadas, e provaram ser um método sensível e rápido para a avaliação de α -T em óleos extraídos do endosperma e do tegumento de amêndoa, com base na sua oxidação electroquímica medida no eléctrodo de carbono vítreo [11].

2. EQUIPAMENTO E METODOLOGIA

2.1. Extracção da fracção lipídica

Os tegumentos foram separados dos endospermas após imersão em banho de água. Cada um dos componentes foi depois desidratado (50 °C, até massa constante). As amostras foram depois moídas num triturador 643 MX (Moulinex, Barcelona, Spain). Os óleos foram obtidos a partir de cada uma das amostras (\approx 5 g para os endospermas e \approx 2 g para os tegumentos, com sulfato de sódio anidro), por extracção com éter de petróleo (T_{eb} 40-60 °C) durante 1,5 h (para a determinação do teor em gordura o tempo de extracção foi 16 h) num sistema de extracção B-811 (Büchi, Flawil, Switzerland). O solvente residual foi removido sob corrente de azoto.

2.2. Análise Voltamétrica

As medições de voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial foram feitas num potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT 302 utilizando uma célula de três eléctrodos. Como eléctrodo de trabalho utilizou-se um eléctrodo de carbono vítreo (BAS, $\phi = 0.314 \text{ cm}^2$) e um eléctrodo auxiliar de platina. Os potenciais foram medidos em relação a um eléctrodo de referência de Ag/AgCl (3M) KCl (Methrom). Os voltamogramas de pulso diferencial foram obtidos entre 0 e 1 V com uma velocidade de $0,03 \text{ Vs}^{-1}$ e uma amplitude de pulso de 0,06 V. Todas as soluções foram analisadas após preparação sendo as respostas electroquímicas adquiridas imediatamente após a imersão do eléctrodo vítreo de forma a minimizar a adsorção de espécies à superfície do eléctrodo.

O extractos foram analisados em soluções de hexano:etanol 40:60 contendo 0,002M de ácido sulfúrico e 0,03M de perclorato de tetrabutílamónio (TBAP).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O solvente escolhido (hexano:etanol 40:60) apresenta as características adequadas. O etanol tem uma boa constante dieléctrica ($\epsilon = 24,3$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$), a solubilidade das fracções oleicas neste solvente é elevada e a sua toxicidade é bastante baixa quando comparada com outros solventes. O ácido sulfúrico (em etanol) foi utilizado para ajustar o pH e o TBAP foi adicionado para melhorar a condutividade.

Os voltamogramas obtidos exibem picos de oxidação bem definidos com um potenciais anódicos idênticos ao do α -tocoferol, situando-se nos 0,60 V (**Figura 1**).

Verificou-se uma correlação linear ($R = 0,997$) entre a intensidade de corrente dos picos e a concentração de α -tocoferol, na gama de 5 a $100 \mu\text{M}$.

Os resultados obtidos para o endosperma, revelar maiores teores em α -tocoferol que os obtidos para o tegumento, verificando-se a sua similaridade com os valores obtidos por outros métodos [12,13]. As diferenças entre as cultivares ensaiadas e o teor de gordura de cada cultivar estão expressos na **Tabela 1**. Não se verifica uma diferença muito acentuada entre as cultivares comerciais e regionais. Aliás, as cultivares que revelaram maior teor em α -tocoferol, *Ferragnes* e *Pegarinhos 1 grão*, pertencem respectivamente às cultivares comerciais e regionais. Estes resultados reforçam o potencial da amêndoa como um alimento funcional e abrem uma nova perspectiva sobre a utilização dos tegumentos, até agora um subproduto sem aproveitamento industrial, sob o ponto de vista nutricional ou terapêutico.

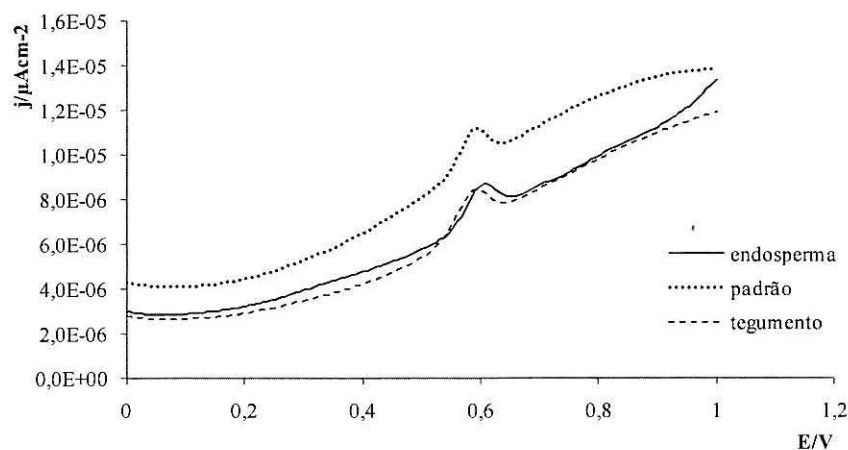


Figura 1 - Voltamogramas obtidos com o α -tocoferol (padrão) e os constituintes de amêndoa.

Tabela 1. Conteúdo em α -tocoferol (μM) e gordura (%) das cultivares de amêndoa analisadas.

Cultivar	Componente	α -Tocoferol (μM)	Gordura (%)
Casa Nova	Endosperma	20,38 \pm 0,28	53,47 \pm 0,44
	Tegumento	14,78 \pm 0,00	23,25 \pm 0,76
Duro Italiano	Endosperma	26,85 \pm 0,16	51,65 \pm 1,04
	Tegumento	20,06 \pm 0,02	19,62 \pm 0,74
Ferraduel	Endosperma	22,15 \pm 0,04	57,92 \pm 1,83
	Tegumento	21,23 \pm 0,02	32,48 \pm 1,02
Ferragnes	Endosperma	28,82 \pm 0,15	43,25 \pm 1,33
	Tegumento	18,18 \pm 0,04	35,19 \pm 1,34
Ferrastar	Endosperma	27,74 \pm 0,05	52,03 \pm 1,23
	Tegumento	14,46 \pm 0,00	18,61 \pm 0,54
Guara	Endosperma	22,68 \pm 0,05	50,93 \pm 2,23
	Tegumento	14,91 \pm 0,05	24,23 \pm 0,67
Molar	Endosperma	27,44 \pm 0,02	49,43 \pm 1,26
	Tegumento	13,61 \pm 0,02	30,21 \pm 1,53
Orelha de Mula	Endosperma	22,54 \pm 0,14	50,84 \pm 0,43
	Tegumento	16,84 \pm 0,00	33,13 \pm 1,29
Pegarinhos 1 grão	Endosperma	28,45 \pm 0,12	54,10 \pm 0,13
	Tegumento	18,49 \pm 0,00	20,61 \pm 0,85
Pegarinhos 2 grãos	Endosperma	13,58 \pm 0,12	47,31 \pm 0,21
	Tegumento	6,83 \pm 0,01	21,52 \pm 0,26

Referências

- [1] - E.B. Rimm, M.J. Stampfer - *Curr. Opin. Cardiol.*, **12**, (1997) 188-194.
- [2] - S.-G. Li, W.-T. Xue, H. Zhang, H. - *Electroanalysis*, **18**, (2006) 2337-2342.
- [3] - T.G. Diaz, I.D. Merás, A.G. Cabanillas, M.F. Franco - *Anal. Chim. Acta*, **511** (2004) 231-238.
- [4] - M.F. Marcus, M.D. Hawley - *Biochim. Biophys. Acta*, **201** (1970) 1.
- [5] - K.J. Whittle, J.F. Pennock - *Analyst*, **92** (1976) 423.
- [6] - J.S. Amaral, R. Alves, R.M. Seabra, M.B.P.P. Oliveira - *J. Agric. Food Chem.* **53** (2005) 5467-5472.
- [7] - J.S. Amaral, S. Casal, R. Alves, R.M. Seabra, M.B.P.P. Oliveira - *J. Agric. Food Chem.* **54** (2006) 1329-1336.
- [8] - L.I. Smith, I.M. Kolthoff, S. Wanzonek, P.M. Rnoff - *J. Am. Chem. Soc.*, **63** (1941) 1018.
- [9] - D. Gozzi, G. Raspi, L. Nucci - *J. Electroanal. Chem.*, **12** (1966) 36.
- [10] - R. Malheiro, I. Oliveira, M. Vilas-Boas, S. Falcão, A. Bento, J.A. Pereira - *Food Chem. Toxicol.*, **47** (2009) 92-97.
- [11] - H.D. McBride, D.H. Evans - *Anal. Chem.*, **45** (1973) 446.
- [12] - M. Kornsteiner, K.-H. Wagner, I. Elmadfa, I. - *Food Chem.*, **98** (2006) 381-387.
- [13] - C.M. López-Ortiz, S. Prats-Moya, A. B. Sanahuja, S.E. Maestre-Pérez, N. Grané-Teruel, M.L. Martín-Carratalá - *J. Food Comp. Anal.*, **21** (2008) 144-151.