

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/07/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**Caracterização isotópica para avaliar autenticidade de
óleos vegetais refinados comercializados no Brasil**

Samuel Perri Gimenes

BOTUCATU

2022

Samuel Perri Gimenes

Caracterização isotópica para avaliar autenticidade de óleos vegetais refinados comercializados no Brasil

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa

BOTUCATU

2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Gimenes, Samuel Perri.

Caracterização isotópica para avaliar autenticidade de óleos vegetais refinados comercializados no Brasil / Samuel Perri Gimenes. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Vladimir Eliodoro Costa

Capes: 90400003

1. Óleos vegetais - Adulteração e inspeção. 2. Isótopos estáveis. 3. Espectrometria de massa. 4. Contaminação de alimentos.

Palavras-chave: Autenticidade; Espectrometria de massa; Isótopos estáveis; Mistura; Óleos vegetais refinados.

AGRADECIMENTOS

A todos aqueles que apoiaram e possibilitaram a conclusão deste trabalho.

Aos meus pais e família pelo apoio, e também minha namorada Maria Eliza por toda companhia e alegria proporcionada durante este caminho.

Aos professores e funcionários do Centro de Isótopos estáveis, em especial ao professor Vladimir Eliodoro Costa pela orientação e pelo tempo dedicado.

Ao programa de pós-graduação em Biotecnologia pela oportunidade.

A pró-reitoria de pesquisa (PROPe) da UNESP pelo apoio financeiro

RESUMO

Este trabalho buscou caracterizar isotopicamente os óleos vegetais refinados de milho, girassol, canola, soja, algodão e dendê comercializados no Brasil. Houve uma desvalorização da moeda brasileira, desestabilizando o mercado de exportação de grãos utilizados para produção dos óleos a serem analisados. Quando o mercado externo se torna mais interessante e lucrativo, espera-se um déficit no fornecimento da matéria prima para o mercado interno, gerando motivação econômica para adulteração de produtos, onde o óleo de soja é o principal adulterante, por ser mais barato, seguido do óleo de milho. A caracterização dos óleos através da espectrometria de massa de razão isotópica permitiu estabelecer valores esperados para cada tipo de óleo, podendo servir como banco de dados para avaliação da autenticidade. Dessa maneira, a análise isotópica pode se tornar uma ferramenta rápida para avaliação da autenticidade de óleos vegetais refinados. Os resultados apresentados nos permitiram caracterizar com facilidade o óleo de milho devido ao seu ciclo fotossintético, e o óleo de canola devido a região onde é produzido.

Palavras-chave: Óleos vegetais refinados, isótopos estáveis, autenticidade, mistura, espectrometria de massa

ABSTRACT

This work sought to characterize isotopically the refined vegetable oils from corn, sunflower, canola, soybean, cotton and palm oil commercialized in Brazil. Due to a devaluation of the Brazilian currency, hence destabilizing the export market of grains used for the production of the oils to be analyzed. When the foreign market becomes more interesting and profitable, a deficit in the supply of raw materials for the domestic market is expected, generating economic motivation for adulteration of products, where soybean oil is the main adulterant, because it is cheaper, followed by corn oil. The characterization of the oils through isotope ratio mass spectrometry allowed us to establish expected values for each type of oil, which can serve as a database for authenticity evaluation. Thus, the isotopic analysis of vegetable oils is quick tool for assessing the authenticity of those oils. The results presented empowered us to easily characterize corn oil due to its photosynthetic cycle, and canola oil due to the region where it is produced.

Keywords: Refined vegetable oil, stable isotopes, authenticity, mixture, mass spectrometry

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Dispersão dos pontos com distribuição marginal em caixas dos valores $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{18}\text{O}$ de 47 amostras de óleos vegetais refinados. As caixas representam 25% e 75% percentis. Os fabricantes das amostras circuladas são indicados pelas letras C e D. 16

Figura 2 Dispersão dos pontos com distribuição marginal em caixas dos valores $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ de 47 amostras de óleos vegetais refinados. As caixas representam 25% e 75% percentis. A amostra circulada pertence ao fabricante F. 17

Figura 3 Dispersão dos pontos com distribuição marginal em caixas dos valores $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^2\text{H}$ de 47 amostras de óleos vegetais refinados. As caixas representam 25% e 75% percentis. Os fabricantes das amostras circuladas são indicados pelas letras C, D e E. 18

Figura 4. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ para as misturas de óleos de milho (m) com soja (s) e de girassol (g) com milho (m). 20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidade de amostras de óleos vegetais refinados, marcas, fabricantes e representatividade dos fabricantes no mercado brasileiro. 11

Tabela 2. Identificação das amostras coletadas com 12 fabricantes (letra maiúscula), 22 marcas (número) e 6 tipos de acordo com a planta originária (letra minúscula) de óleo vegetal refinado. 12

Tabela 3. Proporções utilizadas para elaboração das misturas de óleos 13

Tabela 4. Valores isotópicos médios e desvio padrão de $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ para cada tipo de óleo refinado, N representa o número de amostras. 19

Tabela 5. Percentual e erro de misturas esperadas e medidas de óleo de milho misturado com soja e óleo de girassol misturado com milho. Os valores do erro estão em módulo. 20

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. MATERIAIS E MÉTODOS	10
3. RESULTADOS	16
4. DISCUSSÃO	21
5. CONCLUSÃO	24
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

1. INTRODUÇÃO

Os óleos vegetais refinados, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), são produtos alimentícios obtidos unicamente de matéria prima vegetal, refinado através de processos tecnológicos adequados. Estes óleos estão presentes na alimentação das famílias brasileiras, se tratando de um alimento da cesta básica. Nos últimos dois anos houve um aumento no preço destes alimentos, e não se sabe o motivo exato por trás disso. Uma das possíveis explicações é a desvalorização do real mediante à crise econômica mundial em decorrência da pandemia do Covid-19, ou, de forma mais indireta, devido ao aumento do interesse de exportação das matérias primas, dado a maior lucratividade do mercado exterior em relação ao mercado brasileiro (G1 2021, G1 2022, BBC 2022).

A fraude de alimentos é descrita como a substituição, adição, adulteração ou distorção dos ingredientes ou do alimento, com finalidade de obter vantagens econômicas (WTO 2017). A adulteração pode ser sutil, e se trata da mistura de duas ou mais matérias primas em um mesmo produto. Esta prática é empregada na venda de produtos ditos de uma única matéria prima, quando na verdade são adulterados com uma outra, geralmente mais barata. A motivação é de caráter econômico, sendo que pode ser lucrativa para as indústrias, como visto em estudos de caso na literatura (MOYER; DEVRIES; SPINK, 2017).

Como mostrado no levantamento feito por (MOORE et al., 2012) e (TIBOLA et al., 2018), os principais métodos analíticos para detecção de fraude no Brasil são técnicas de cromatografia e identificação molecular. Técnicas quimiométricas, de espectroscopia e espectrometria também são citadas como métodos recorrentes para detecção de fraudes em alimentos. Dentre os métodos descritos a espectrometria de massa de razão isotópica (IRMS) usada para analisar os isótopos estáveis das amostras é apresentada como uma ferramenta capaz de identificar proteína de soja em produtos cárneos e presença de sacarose em sucos.

No Brasil, já foram relatadas fraudes de diversos produtos alimentícios a partir da avaliação da autenticidade usando análises dos isótopos estáveis e IRMS como: mel (SOUZA-KRULISKI et al., 2010), peixe (SANT'ANA; DUCATTI; RAMIRES, 2010), suco de goiaba (NOGUEIRA et al. 2016), vinho (ADAMI et al., 2010), (DUTRA et al., 2013), suco de uva (SPINELLI et al., 2016), água de coco (IMAZUMI et al., 2019), shoyu (MORAIS et al., 2018), cárneos (PERDIGÃO et al., 2021), cerveja (RENE & BROOKS et al., 2002), entre outros.

Os isótopos são átomos de um mesmo elemento químico, com o mesmo número de prótons, porém diferenciam-se pelo número de massa (número de prótons, mais número de nêutrons). Os elementos leves mais abundantes em amostras orgânicas como o carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e enxofre possuem, cada um deles, pelo menos dois isótopos estáveis, pois não emitem radiação. Os mesmos são quantificados pela sua razão isotópica ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ e $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$), e ocorrem naturalmente no ambiente (DUCATTI, 2007). A razão é geralmente expressa em valor- δ , correspondentes a uma diferença relativa da razão isotópica (COPLEN, 2011), podendo ser utilizada para quantificação dos isótopos estáveis e avaliação da autenticidade (FRY, 2006).

O oxigênio e o hidrogênio podem caracterizar isotopicamente as águas de diferentes regiões geográficas, pois os isótopos pesados são enriquecidos nos processos de evaporação da água e precipitação da chuva (PRIMROSE; WOOLFE; ROLLINSON, 2010). O carbono mostra diferença na razão isotópica de plantas com diferentes ciclos fotossintéticos C_3 ou C_4 ou CAM. Plantas denominadas C_3 , que usam a rota de fixação de dióxido de carbono do ciclo de Calvin-Benson, possuem uma razão isotópica de carbono diferente das plantas denominadas C_4 , cujo ciclo fotossintético ocorre através da via Hatch-Slack, que incorpora menos ^{13}C e as CAM possuem valores de C_3 e C_4 (RHODES et al., 2010).

Assim, podemos identificar componentes baseados na sua assinatura isotópica, que consiste na razão isotópica característica de uma amostra. Por isso, contanto que o produto seja de ciclo fotossintético diferente do adulterante, podemos identificar a presença de uma matéria prima C_3 (quase todas as frutas e grãos) em um produto C_4 (cana de açúcar, milho ou milheto), ou vice-versa (FARQUHAR; EHLERINGER; HUBICK, 1989).

Usando a diferenciação C_3 e C_4 , Rossell (1994) utilizou a análise dos isótopos estáveis de carbono para avaliar adulteração em amostras de óleos de milho, proveniente de planta C_4 , que apresentou valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -16‰ e -15‰ de diversas regiões como Turquia, América do Norte, América do Sul, Austrália, Nova Zelândia, África e Ásia. Neste estudo, as amostras de óleos provenientes de planta C_3 , apresentaram valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -30 a -24‰ das regiões: Malásia (óleo de palma) Sudão (óleo de gergelim), Nigéria (óleo de algodão), e Reino Unido (óleo de canola), concluindo que algumas amostras de óleo de milho estavam adulteradas com óleos de origem C_3 .

Vinte e três anos depois foi relatado que óleos de soja e azeite de oliva possivelmente adulterados com óleo de milho podem ser detectados usando a diferenciação C_3 e C_4 e analisando os isótopos estáveis de carbono pela técnica de IRMS. Neste estudo também foram preparadas e analisadas misturas de óleo de milho com azeite de oliva e óleo de soja e concluiu-

se que é possível detectar adulteração em misturas com proporção de até 5% de adulterante (HUANG et al., 2017).

No entanto, ainda não foi explorado a análise de isótopos estáveis de hidrogênio ($\delta^2\text{H}$) e oxigênio ($\delta^{18}\text{O}$) para óleos vegetais refinados, principalmente de milho, soja, girassol, canola, algodão e dendê (palma) que são amplamente comercializados no Brasil. Esta análise apresenta uma complexidade maior, pois necessita converter todo o hidrogênio e oxigênio da amostra em gases H_2 e CO por conversão em alta temperatura (GEHRE; STRAUCH, 2003). Entretanto, o uso do princípio do tratamento idêntico com padrões de mesma matriz pode facilitar a análise de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ em amostras orgânicas (CARTER; FRY, 2013). Diante dessa necessidade, foram preparados e comercializados padrões de várias matrizes orgânicas como mel, óleo, colágeno e farinha (SCHIMMELMANN et al., 2020).

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi determinar a variação e os valores médios de $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ para caracterizar e avaliar a autenticidade de óleos vegetais refinados de milho, girassol, soja, canola, algodão e dendê, de diferentes marcas e fabricantes brasileiros.

5. CONCLUSÃO

A caracterização isotópica dos óleos vegetais refinados foi possível de ser realizada, principalmente para os óleos de milho e canola. Por se tratar de uma planta com ciclo fotossintético C₄, o milho é facilmente diferenciável no $\delta^{13}\text{C}$. Já a canola, sendo uma planta cultivada apenas na região sul do país, possui valores característicos de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$. A soja é cultivada em regiões mais variadas do Brasil e, por este motivo, sua caracterização não é tão definida, embora seja o principal agente adulterante, e não um alvo de adulteração, devido ao seu valor. Para melhor definir as assinaturas isotópicas dos óleos de soja e girassol, se faz necessário um estudo mais focado na compreensão do fator de enriquecimento no processo de extração dos óleos, evitando e diminuindo as variáveis que podem dificultar a distinção dos dois óleos. Embora os óleos de algodão e dendê tenham se mostrado caracterizados através dos valores de $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$, o tamanho amostral limitado dos dois tipos não nos permite resultados conclusivos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMI, Laurien; DUTRA, Sandra Valduga; MARCON, Ângela Rossi; CARNIELI, Gilberto João; ROANI, Carlos André; VANDERLINDE, Regina. Geographic origin of southern Brazilian wines by carbon and oxygen isotope analyses. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, [S. l.], v. 24, p. 2943-2948, 22 set. 2010.
- BONTEMPO, L. et al. Characterisation and attempted differentiation of European and extra-European olive oils using stable isotope ratio analysis. **Food Chemistry**, v. 276, p. 782–789, 15 mar. 2019.
- BRAND, W. A.; COPLEN, T. B. Stable isotope deltas: tiny, yet robust signatures in nature. **Isotopes in Environmental and Health Studies**, v. 48, n. 3, p. 393–409, set. 2012.
- CARTER, J. F; FRY, B. Ensuring the reliability of stable isotope ratio data—beyond the principle of identical treatment. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [S. l.], v. 405, p. 2799–2814, 30 dez. 2013.
- CHIOCCHINI, F. et al. Isoscapes of carbon and oxygen stable isotope compositions in tracing authenticity and geographical origin of Italian extra-virgin olive oils. **Food Chemistry**, v. 202, p. 291–301, 1 jul. 2016.
- COPLEN, T. B. Guidelines and recommended terms for expression of stable-isotope-ratio and gas-ratio measurement results †, ‡. [s.d.].
- CUCINOTTA, L. et al. Simultaneous evaluation of the enantiomeric and carbon isotopic ratios of Cannabis sativa L. essential oils by multidimensional gas chromatography Published in the topical collection featuring Promising Early-Career (Bio)Analytical Researchers with guest editors Antje. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 1, p. 3, 2022.
- DUCATTI, C. Revista Brasileira de Zootecnia Aplicação dos isótopos estáveis em aquicultura. 2007.
- DUTRA, S. V.; ADAMI, L.; MARCON, A. R.; CARNIELI, G. J.; ROANI, C. A.; SPINELLI, F. R.; LEONARDELLI, S.; VANDERLINDE, R. Characterization of wines according the geographical origin by analysis of isotopes and minerals and the influence of harvest on the isotope values. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 141, p. 2148-2153, 1 dez. 2013.
- FARQUHAR, G. D.; EHLERINGER, J. R.; HUBICK, K. T. Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, [S. l.], p. 503-537, 1 jun. 1989.
- FRY, Brian. **Stable isotope ecology**. 3. ed. Los Angeles: Springer, 2006.

- GEHRE, Matthias; STRAUCH, Gerhard. High-temperature elemental analysis and pyrolysis techniques for stable isotope analysis. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, [S. l.], v. 17, p. 1497-1503, 23 maio 2003.
- HUANG, J. et al. Detection of corn oil in adulterated olive and soybean oil by carbon stable isotope analysis. **Journal fur Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, v. 12, n. 3, p. 201–208, 2017.
- IMAZUMI, V. M. et al. Use of stable isotopes of carbon to detect coconut water adulteration. **Scientia Agricola**, v. 76, n. 3, p. 261–265, 1 maio 2019.
- LI, Y. et al. Detection of olive oil adulteration with waste cooking oil via Raman spectroscopy combined with iPLS and SiPLS. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 189, p. 37–43, 15 jan. 2018.
- NOGUEIRA, ANDRESSA MILENE PARENTE et al. Análise isotópica do carbono e legalidade de polpas, sucos tropicais e néctares comerciais de goiaba. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, [S.l.], v. 34, n. 2, may 2018. ISSN 19839774. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/55941/33717>>. Acesso em: 21 maio 2022. doi:<http://dx.doi.org/10.5380/cep.v35i1.55941>.
- MORAIS, M. C. et al. Stable carbon isotopic composition indicates large presence of maize in Brazilian soy sauces (shoyu). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 70, p. 18–21, 1 jul. 2018.
- MOYER, D. C.; DEVRIES, J. W.; SPINK, J. The economics of a food fraud incident – Case studies and examples including Melamine in Wheat Gluten. **Food Control**, v. 71, p. 358–364, 1 jan. 2017.
- MUHAMMAD, S. A. et al. Variation of $\delta^2\text{H}$, $\delta^{18}\text{O}$ & $\delta^{13}\text{C}$ in crude palm oil from different regions in Malaysia: Potential of stable isotope signatures as a key traceability parameter. **Science & Justice**, v. 58, n. 1, p. 59–66, 1 jan. 2018.
- PAUL, D.; SKRZYPEK, G.; FÓRIZ, I. Normalization of measured stable isotopic compositions to isotope reference scales – a review. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 21, n. 18, p. 3006–3014, 30 set. 2007.
- PERDIGÃO, A. et al. Identification of the production system of beef cattle by the stable isotope analysis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 55, p. 1–7, 8 jan. 2021.
- PRIMROSE, S.; WOOLFE, M.; ROLLINSON, S. Food forensics: methods for determining the authenticity of foodstuffs. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 12, p. 582–590, 1 dez. 2010.

RENE, A. E. BROOKS, J. et al. Heavy and Light Beer: A Carbon Isotope Approach To Detect C 4 Carbon in Beers of Different Origins, Styles, and Prices. 2002.

RHODES, C. N. et al. The use of stable carbon isotopes to authenticate claims that poultry have been corn-fed. **Food Chemistry**, v. 118, n. 4, p. 927–932, 15 fev. 2010.

ROSSELL, J. B. Stable Carbon Isotope Ratios in Establishing Maize Oil Purity. **Lipid / Fett**, v. 96, n. 8, p. 304–308, 1 jan. 1994.

SANT'ANA, Léa Silvia; DUCATTI, Carlos; RAMIRES, Djalma Gonçalves. Seasonal variations in chemical composition and stable isotopes of farmed and wild Brazilian freshwater fish. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 122, p. 74-77, 1 set. 2010.

SCHIMMELMANN, A. et al. Food matrix reference materials for hydrogen, carbon, nitrogen, oxygen, and sulfur stable isotope-ratio measurements: Collagens, flours, honeys, and vegetable oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 39, p. 10852–10864, 2020.

SOUZA-KRULISKI, C. R. DE et al. Estudo de adulteração em méis brasileiros através de razão isotópica do carbono. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 2, p. 434–439, abr. 2010.

SPINELLI, F. R. et al. Detection of addition of apple juice in purple grape juice. **Food Control**, v. 69, p. 1–4, 1 nov. 2016.

TIBOLA, C. S. et al. **Economically Motivated Food Fraud and Adulteration in Brazil: Incidents and Alternatives to Minimize Occurrence**. **Journal of Food Science** Blackwell Publishing Inc., , 1 ago. 2018.

WERNER, R. A.; BRAND, W. A. Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 15, n. 7, p. 501–519, 15 abr. 2001.