

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

ANA LYDIA SILVA NUNES

**QUANTIFICAÇÃO DE CLOROFILA EM ÓLEO VEGETAL  
EXTRAÍDO DE SOJA COM DIFERENTES PERCENTUAIS DE GRÃOS  
IMATUROS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA

2013

ANA LYDIA SILVA NUNES

**QUANTIFICAÇÃO DE CLOROFILA EM ÓLEO VEGETAL  
EXTRAÍDO DE SOJA COM DIFERENTES PERCENTUAIS DE GRÃOS  
IMATUROS**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2 do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Isabel Craveiro Moreira

LONDRINA

2013

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**QUANTIFICAÇÃO DE CLOROFILA EM ÓLEO VEGETAL EXTRAÍDO DE SOJA  
COM DIFERENTES PERCENTUAIS DE GRÃOS IMATUROS**

**ANA LYDIA SILVA NUNES**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2013 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Isabel Craveiro Moreira  
Prof<sup>a</sup>. Orientadora

---

Juliana Almeida

---

Lúcia Felicidade Dias

## **AGRADECIMENTOS**

Meus sinceros agradecimentos à todos que de forma direta ou indireta contribuíram na elaboração deste trabalho.

Gostaria de agradecer aos meus pais, Antônio e Margarete, que me incentivaram e me apoiaram durante todo o decorrer do curso; e ao meu irmão André Henrique, que é sem dúvida o meu melhor amigo.

Ao Professor Paulo de Tarso, o qual me auxiliou com a escolha do tema deste trabalho.

À minha Orientadora, Professora Isabel Moreira, que me acompanhou desde o início deste projeto e me orientou com toda a dedicação e sabedoria.

Aos meus colegas Doutor ElemarVoll, Doutor José Marcos Gontijo Mandarino, Professora Lyssa Setsuko e Thaísa Marcello, que contribuíram com este projeto fornecendo as amostras de soja.

Pois d'Ele, por meio d'Ele e para Ele são todas as coisas.

A Ele seja a glória para sempre! Amém.

(Romanos 11:36 – Bíblia NVI)

## RESUMO

NUNES, Ana Lydia S. **Quantificação de clorofila em óleo vegetal extraído de soja com diferentes percentuais de grãos imaturos**. 2013. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2013.

Em nível mundial, o Brasil é o segundo maior produtor e exportador de soja, o que confere a este grão e seus derivados grande importância dentro da economia nacional. Dentre esses derivados podemos citar a extração e comercialização do óleo como uma das atividades de grande valor. Por esse motivo existe a necessidade de um controle eficiente da qualidade deste óleo. A quantidade de grãos imaturos interfere na qualidade do óleo extraído devido à presença de clorofila. Os pigmentos são lipossolúveis sendo extraídos juntamente com o óleo, resultando em um produto com menor tempo de vida útil e com um rendimento entre 2 a 3% menor. Com o objetivo de quantificar a clorofila em óleo vegetal extraído de grãos de soja, foram preparadas amostras contendo 0%; 1%; 2%; 3%; 4%; 5% e 6% de grãos imaturos ou verdes para investigar por meio de análise espectrofotométrica do óleo extraído qual a porcentagem máxima de grãos imaturos que não interfere na qualidade do óleo obtido, e com isso determinar um padrão de classificação de soja. A análise mostrou teores de clorofilas variáveis em todas as amostras, crescendo de forma praticamente uniforme conforme o aumento de grãos imaturos. Porcentagens acima de 6% de grãos verdes não puderam ser quantificadas pelo fato da clorofila exceder a quantidade máxima permitida pelo cálculo utilizado. Os valores obtidos de rendimento oscilaram muito, variando entre 5% e 10% de óleo extraído. Embora não tenha sido possível avaliar de forma clara e gradual a redução de óleo obtido conforme o aumento de grãos imaturos, percebeu-se uma redução significativa nos valores de óleo extraído a partir das amostras de 0 e 1%. Os resultados apresentados neste trabalho podem assegurar que é recomendado se evitar a incidência de grãos imaturos, diminuindo dessa forma altos gastos com o refino do óleo.

**Palavras-chave:** Extração de óleo. Soja. Grãos imaturos. Clorofila.

## ABSTRACT

NUNES, Ana Lydia S. **Quantification of chlorophyll in vegetable oil extracted from soybean with different percentages of immature grains.** 2013. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Federal Technology University - Paraná. Londrina, 2013.

Whitina global scenery, Brazil is the second biggest soya producer and exporter, what makes this grain and its derivatives significant to the national economy. Among these derivatives we can mention oil's extraction and commercialization as one of the activities with big value. For that reason, there is the need of an efficient quality control of this oil. The quantity of immature grains interferes in the extracted oil's quality for the presence of chlorophyll. The pigments are liposoluble and for that extracted herewith the oil, resulting in a product with better shelf life and a yield between 2 and 3% lower. Herewith the goal to quantify the chlorophyll within in the vegetable oil extracted from the soya's grains some samples were prepared containing 0%; 1%; 2%; 3%; 4%; 5% and 6% of immature grains to investigate per spectrophotometric analysis of the extracted oil which the maximum percent of immature grains doesn't interfere in the oil's quality and therewith determinate a pattern of soya's qualification. The analysis showed variable chlorophyll content in every sample, growing in a practically uniform way according to the increase of immature grains. Percentages above 6% of immature grains couldn't be quantified because the chlorophyll exceeded the maximum quantity allowed by the used calculation. The value obtained from the yield oscillated a lot, with values swinging between 5% and 10% of extracted oil. Although it was not possible to evaluate clearly and gradually the obtained oil's reduction according to the increase of the immature grains, a significant reduction in the extracted oil's values from the 0 and 1% samples was noticed. The results showed in this task can ensure that it is recommended to avoid the incidence of immature grains, decreasing high spending with oil refining.

**Keywords:** Oil extraction. Soybean. Immature grains. Chlorophyll.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - PRINCIPAIS UTILIZAÇÕES DO ÓLEO DE SOJA. ....	13
FIGURA 2 – DIFERENÇA ENTRE GRÃOS DE SOJA IMATUROS E ESVERDEADOS. ....	15
FIGURA 3 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE ÓLEO DE SOJA. .....	17
FIGURA 4 - ESTRUTURA QUÍMICA DA CLOROFILA A E CLOROFILA B. ....	20
FIGURA 5 - GRÁFICO DA QUANTIDADE DE CLOROFILA EM PPM EM FUNÇÃO DA PORCENTAGEM DE GRÃOS IMATUROS. ....	25
FIGURA 6 - AMOSTRAS DE ÓLEO EM ORDEM CRESCENTE DE CONCENTRAÇÃO DE CLOROFILA. ....	26
FIGURA 7 - GRÁFICO DE RENDIMENTO DE ÓLEO OBTIDO (%) .....	27

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE ÓLEO DE SOJA. ....	17
TABELA 2 - QUANTIDADE DE CLOROFILA EM PPM. ....	24
TABELA 3 - RENDIMENTO DE ÓLEO OBTIDO (%) .....	27

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - LIMITES MÁXIMOS DE TOLERÂNCIA, EXPRESSOS EM PORCENTAGEM, PARA A SOJA DO GRUPO I. ....	14
QUADRO 2 - LIMITES MÁXIMOS DE TOLERÂNCIA, EXPRESSOS EM PORCENTAGEM, PARA A SOJA DO GRUPO II. ....	14



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>12</b>
3.1 A SOJA.....	12
3.1.1 Produção e utilização .....	12
3.1.2 Classificação da Soja .....	14
3.1.3 Ocorrência de grãos esverdeados .....	15
3.2 ÓLEO .....	16
3.2.1 Definição .....	16
3.2.2 Processo de Extração .....	17
3.3 CLOROFILA .....	19
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
4.1 TIPO DE PESQUISA.....	21
4.2 MATERIAL EM ESTUDO .....	21
4.3 MÉTODOS .....	22
4.3.1 Determinação de clorofila em óleo de soja.....	22
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>24</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>29</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Entre os anos de 1980 e 2005, a demanda mundial de soja teve uma expansão de 174,3 milhões de toneladas, ou 2,8 vezes. Ao longo da década de 80 até o final da década de 90, o consumo mundial de soja cresceu em uma taxa anual de 5,5%. A partir de 1980, a produção de soja no hemisfério sul obteve um nível expressivo de 47,8%, sendo que o Brasil e a Argentina, sozinhos, correspondem a 91,8% do total da porcentagem ofertada deste hemisfério no mercado mundial. (BRASIL, 2007).

A cadeia de produção de soja é de extrema importância para a alimentação mundial, tanto no mercado oriental, que sempre possuiu essa leguminosa como hábito alimentar, como também na civilização ocidental, com números de produção que crescem constantemente. No ano de 2005, as exportações do Complexo Soja no Brasil (constituído por soja em grão, óleo de soja e farelo de soja) totalizaram US\$9,48 bilhões, que é equivalente a 21% do saldo positivo da balança comercial do país. Além disso, a soja é a principal cultura explorada no mercado interno, respondendo por cerca de 45% da produção brasileira de grãos. Os estados brasileiros que possuem a liderança na produção de soja são Mato Grosso e Paraná, com produções de 17,8 e 11,9 milhões de toneladas em 2007/2008, respectivamente. Em nível mundial, o Brasil é o segundo maior produtor, atrás apenas dos Estados Unidos, e o maior exportador (BRASIL, 2007; BORRMANN, 2009).

A utilização da soja iniciou-se na China durante o século XI a. C., onde a população possui o hábito cultural de consumir soja de diferentes formas, como tofu, shoyo, missô, soja frita ou soja verde. Entretanto, nos países ocidentais e principalmente nos Estados Unidos, a maior porcentagem de soja é destinada à indústria de óleo e resíduo desengordurado. O óleo é destinado ao consumo humano, e o farelo desengordurado é utilizado na alimentação animal, porém uma pequena porcentagem tem sido processada em produtos proteicos de soja, não sendo consumidos diretamente, mas sendo acrescentados como ingredientes em diversos alimentos. (BORRMANN, 2009).

Em decorrência de condições climáticas anormais que ocorreram no Brasil em 2004/2005, houve o maior declínio da produção de soja no sul do país. Devido

às altas temperaturas e a redução de precipitação de chuvas, houve um prejuízo no desenvolvimento do grão, reduzindo sua qualidade e conseqüentemente o seu valor comercial. Isso acarretou não só na redução da safra, mas também na qualidade dos grãos, dos quais uma quantia significativa manteve a cor verde após a colheita e a secagem (CONAB, 2008). A Instrução Normativa Nº 11, de 15 de Maio de 2007 estabelece como limite máximo 8% de grãos esverdeados, porém a safra de 2004/2005 não atendeu à legislação, causando prejuízo para grande parte dos produtores do sul do país (BRASIL, 2007). Sua comercialização foi vetada não só no mercado interno, como também no exterior, já que a legislação dos EUA permite apenas 1% de grãos verdes na soja (MANGOS; BERGUER, 1997).

A incidência de grãos verdes deve-se a diversos fatores, tais como: condições de estresse que resultam na morte prematura da planta (oscilações drásticas de temperatura; ocorrência de geadas intensas; doenças que afetam a raiz, hastes e folhas da planta), déficit hídrico durante o estágio reprodutivo, presença de pragas como insetos e principalmente percevejos (MANDARINO, 2012; FRANÇA-NETO *et al.*, 2005). A clorofila presente nos grãos de soja pode interferir na qualidade do óleo extraído a partir deles. Sabe-se que em grãos imaturos a porcentagem de proteína é relativamente igual à de grãos maduros, porém apresentam um percentual de 2% a 3% menor de óleo, que apresentará mais acidez, causando um custo maior para refino e reduzindo o seu valor comercial. Dessa maneira, é importante que seja realizada a remoção da clorofila dos produtos de soja e seus derivados, ou que seja evitada a ocorrência de grãos verdes (FRANÇA-NETO *et al.*, 2005).

Desta forma, este projeto teve o objetivo de investigar por meio de análise espectrofotométrica a porcentagem máxima de grãos imaturos no óleo de soja que não irá interferir na qualidade deste, e com isso determinar um padrão de classificação de soja.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar e quantificar clorofila em óleo vegetal extraído de soja através de métodos espectrométricos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ☐ Realizar a extração do óleo vegetal dos grãos de soja;
- ☐ Quantificar a clorofila no óleo vegetal extraído de grãos de soja com percentuais de 0%; 1%; 2%; 3%; 4%; 5% e 6% de grãos imaturos ou verdes;
- ☐ Classificar o tipo de cada amostra e relacionar com a quantidade de clorofila presente no óleo;
- ☐ Definir um padrão de classificação de soja com uma porcentagem máxima de grãos imaturos que não irá interferir na qualidade do óleo.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 A SOJA

A soja é um grão que pertence à família das Leguminosas e ao gênero *Glycine*. Dentre as diversas espécies que se enquadram nesse gênero, a *Glycinemax* (L.) Merrill é a espécie que é amplamente comercializada no mundo (BRASIL, 2007; BORRMANN, 2009). Suas vagens contêm em torno de 4 sementes, sendo que os grãos são compostos basicamente de 40% de proteínas, 20% de lipídios, 5% de minerais e 34% de carboidratos. Quanto ao farelo, este representa cerca de 79% do grão com um teor de proteína de 45% (DORSA, 2004; EMBRAPA, 2013).

É uma das mais antigas plantas cultivadas no mundo, sendo citada pela primeira vez entre os períodos de 2883 e 2838 a. C., por sua importância na dieta alimentar dos chineses. A soja era considerada um dos cinco grãos sagrados, juntamente com o arroz, o trigo, a cevada e o milheto (MANDARINO; ROESSING; BENASSI, 2005). O consumo de soja pelos orientais era basicamente na forma de tofu, molho de soja, missô, soja frita ou soja verde. A partir do século XX é que a soja atraiu a atenção das indústrias alimentícias devido ao potencial da cultura, do seu teor de óleo e proteína e sua versatilidade na produção de diversos alimentos e ingredientes (BORRMANN, 2009).

##### 3.1.1 Produção e utilização

O cultivo de soja é de grande importância para o mercado mundial. Na alimentação, é valorizada pela proteína, mas principalmente por ser a matéria-prima mais importante para obtenção de óleo comestível (BORRMANN, 2009).

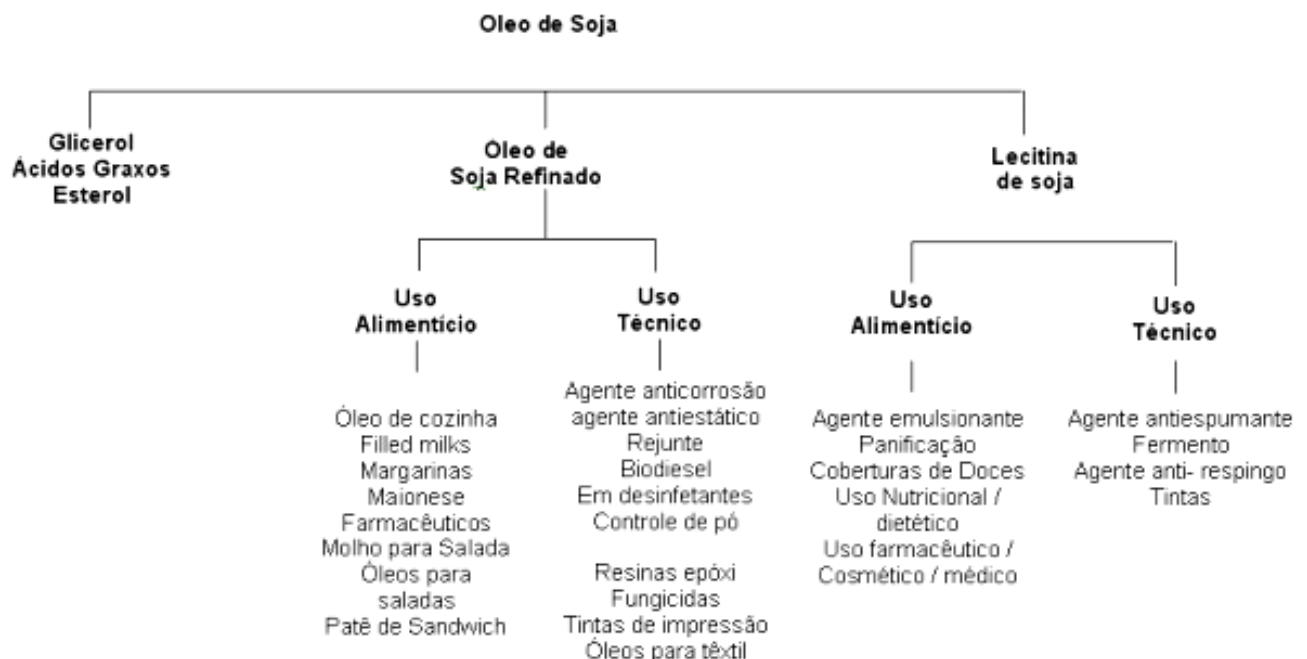
Dentre as formas de comercialização da soja, está a soja em grão, o farelo de soja e o óleo de soja. A soja destaca-se como a principal cultura explorada no mercado interno, respondendo por cerca de 45% da produção brasileira de grãos. O

Brasil já é o segundo maior produtor, atrás apenas dos Estados Unidos, e o maior exportador (BRASIL, 2007). Só no ano de 2010, o total de exportações do Complexo Soja totalizou um valor de US\$17,12 milhões, e no ano seguinte foi de US\$24.15 milhões (ABIOVE, 2012).

O óleo de soja é destinado prioritariamente para o consumo humano, enquanto a soja desengordurada ou farelo é destinada em grande parte para produção de ração animal. Os produtos obtidos a partir da soja processada, denominados produtos proteicos de soja, não são consumidos de forma direta, mas são incorporados em diversos alimentos consumidos no ocidente (LIU<sup>1</sup>, 2000 *apud* BORRMANN, 2009).

De acordo com Golbitz<sup>2</sup> (2000 *apud* BORRMANN, 2009), a soja tornou-se altamente popular a partir do século 20, sendo alvo de diversas pesquisas devido às qualidades nutricionais e funcionais, como também pela sua versatilidade na produção de diversos alimentos.

A Figura 1 mostra algumas das principais utilizações do óleo de soja e seus derivados:



**Figura 1 - Principais utilizações do óleo de soja.**

FONTE: Dossiê Técnico – Óleo de soja (2006)

<sup>1</sup>LIU, K. Expanding soybean food utilization. **Food Technology**, Chicago, v. 54, n. 7, p. 46-58, 2000.

<sup>2</sup>GOLBITZ, P. **Soyfoods: State of the industry and market**. In: Soyfoods. 2000, Orlando, Abstract. Florida: Feb. 16-18, 2000.

### 3.1.2 Classificação da Soja

De acordo com a Instrução Normativa Nº 11, de 15 de Maio de 2007 (BRASIL, 2007), a soja pode ser classificada de acordo com o uso proposto em dois grupos, sendo estes:

- Grupo I: soja destinada ao consumo 'in natura';
- Grupo II: soja destinada a outros usos.

A soja do Grupo I será classificada em dois tipos, definidos em função da sua qualidade, de acordo com os percentuais de tolerância, estabelecidos no Quadro 1, a seguir:

Tipo	Avariados				Esverdeados	Partidos, Quebrados e Amassados	Matérias Estranhas e Impurezas
	Total de Ardidos e Queimados	Máximos de Queimados	Mofados	Total			
1	1,0	0,3	0,5	4,0	2,0	8,0	1,0
2	2,0	1,0	1,5	6,0	4,0	15,0	1,0

**Quadro1 - Limites máximos de tolerância, expressos em porcentagem, para a soja do Grupo I.**

No Quadro 2, apresentam-se os percentuais de tolerância para a soja do Grupo 2:

Tipo	Avariados				Esverdeados	Partidos, Quebrados e Amassados	Matérias Estranhas e Impurezas
	Total de Ardidos e Queimados	Máximos de Queimados	Mofados	Total			
Padrão Básico	4,0	1,0	6,0	8,0	8,0	30,0	1,0

**Quadro2 - Limites máximos de tolerância, expressos em porcentagem, para a soja do Grupo II.**

Quanto à classificação de acordo com a coloração do grão, a soja será classificada em duas classes:

- Amarela: é a constituída de soja que apresenta o tegumento de cor amarela, verde ou pérola, cujo interior se mostra amarelo, amarelado, claro ou esbranquiçado em corte transversal, admitindo-se até 10% de grãos de outras cores;
- Misturada: é aquela que não se enquadra na Classe Amarela.

### 3.1.3 Ocorrência de grãos esverdeados

O Regulamento Técnico da Soja define como grãos esverdeados aqueles grãos ou pedaços de grãos com desenvolvimento fisiológico completo que apresentam coloração totalmente esverdeada no cotilédono. Já os grãos imaturos são aqueles que possuem formato oblongo, que se apresentam visivelmente verdes e enrugados devido ao desenvolvimento fisiológico incompleto (BRASIL, 2007). A Figura 2 ilustra os grãos de soja imaturos e esverdeados:



**Figura 2–Diferença entre grãos de soja imaturos e esverdeados.**

Fonte: Cartilha de Procedimento de Classificação de Soja (2005).

A qualidade da semente de soja pode ser influenciada por diversos motivos, que podem ocorrer em todas as etapas entre a colheita e a produção. Os fatores mais comuns são: os períodos de seca, extremos de temperatura durante a maturação, fortes flutuações das condições de umidade ambiente (facilita a deterioração da semente), bem como presença de insetos, principalmente percevejos, que podem causar o desfolhamento e danos à vagem levando a



problemas na maturação dos grãos (MANDARINO, 2012;FRANÇA-NETO *et al*, 2000 *apud* FRANÇA-NETO *et al*, 2005).

Segundo França-Neto *et al* (2005), estresses bióticos e abióticos em plantas imaturas resultam em morte prematura ou maturação forçada, podendo produzir sementes e grãos esverdeados, o que irá resultar em uma acentuada redução da qualidade do produto e uma severa redução na produtividade da lavoura.

## 3.2 ÓLEO

### 3.2.1 Definição

Pomeranz e Meloan (2000) definem lipídios como componentes alimentares que são insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. Este termo designa componentes como gorduras e óleos.

A Portaria Nº 795, de 15 de Dezembro de 1993, define óleo de soja como “o produto obtido por prensagem mecânica e/ ou extração por solvente, dos grãos de soja (*Glycine Max L. Merrill*), isento de mistura de outros óleos, gorduras ou outras matérias estranhas ao produto” (BRASIL, 1993).

O óleo de soja contém de 40 a 60% de tri-insaturados, 30 a 35% de di-insaturados e até 5% de mono-insaturados. Por outro lado, apesar de seu alto conteúdo de tocoferol, a estabilidade do óleo é limitada devido ao conteúdo de ácido linolênico. A auto-oxidação confere um sabor herbáceo ao óleo. Não é, portanto, o óleo indicado para frituras, pois se oxida rapidamente em altas temperaturas (DORSA, 2004).

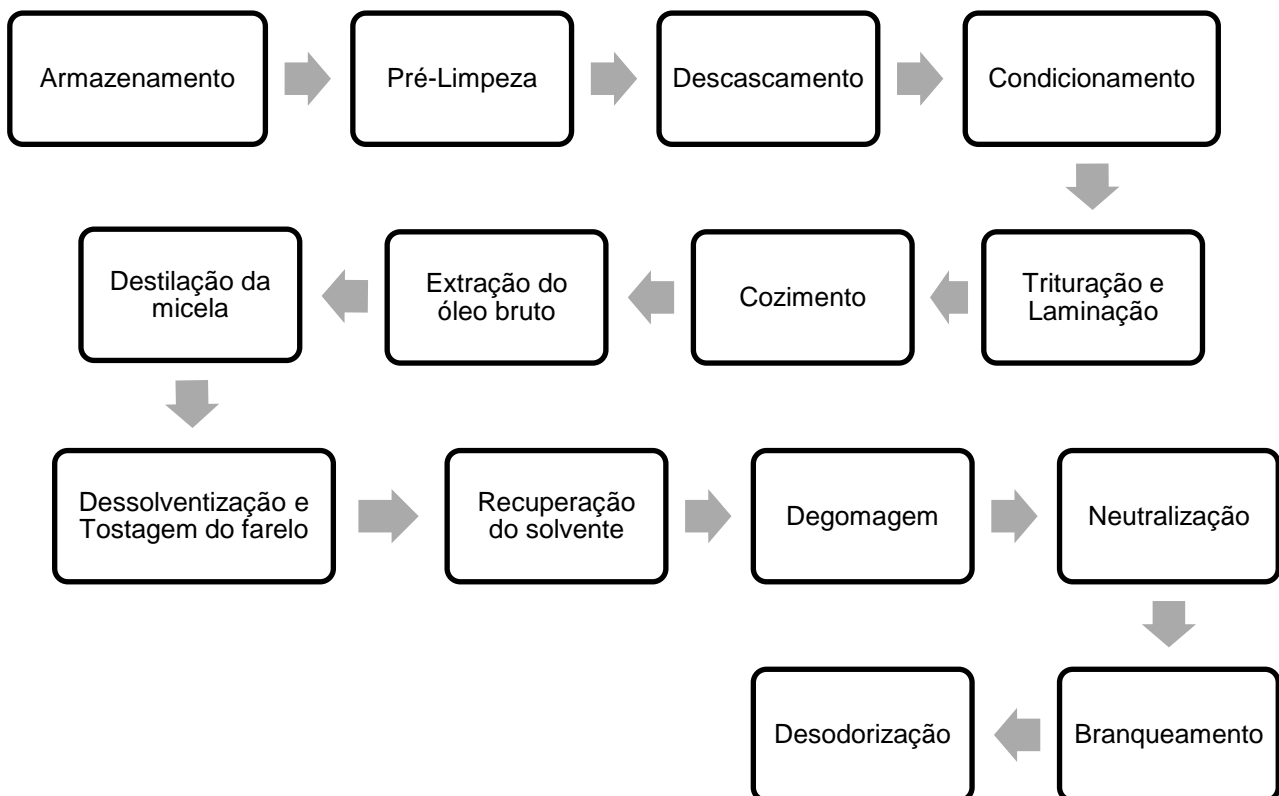
Quanto aos ácidos graxos, o óleo apresenta a seguinte composição, descrita mais detalhadamente na Tabela 1 (MANDARINO; ROESSING; BENASSI, 2005):

**Tabela 1 - Composição de ácidos graxos de óleo de soja**

Ácidos Graxos	Média (%)
PalmíticoC16:0	11-12
PalmitoléicoC16:1	0,5
EsteáricoC18:0	2-4,5
OléicoC18:1	21-34
LinoléicoC18:2	49-59
LinolênicoC18:3	2-8,5

### 3.2.2 Processo de Extração

A Figura 3 apresenta o fluxograma do processo de extração do óleo de soja:



**Figura 3–Fluxograma do processo de obtenção de óleo de soja.**

**Armazenamento:** No período antecedente à extração do óleo bruto, há o armazenamento da soja, que é uma etapa de extrema importância, pois as condições de armazenamento incidem diretamente no rendimento e na qualidade final.

**Pré-Limpeza:** Os grãos colhidos são transportados para as indústrias de esmagamento, onde ocorre a classificação por amostragem e a eliminação da sujidade mais grossa por meio de peneiras vibratórias, diminuindo os riscos de contaminação e reduzindo o uso indevido de espaço útil do silo.

**Descascamento:** Os grãos limpos passam pelos descascadores, que quebram as cascas por batedores ou facas giratórias, sendo em seguida separados por peneiras vibratórias e insuflação de ar.

**Condicionamento:** Os cotilédones separados são aquecidos até 55 – 60°C.

**Trituração e Laminação:** Essas etapas têm como objetivo aumentar a superfície de contato entre o grão e o óleo, melhorando o rendimento da extração. São realizadas por meio de rolos de aço inoxidável, onde a espessura obtida dos flocos é de aproximadamente dois a quatro milímetros com uma superfície de um a dois centímetros.

**Cozimento:** Esse processo visa o rompimento das paredes celulares para facilitar a saída do óleo. Nessa etapa, a temperatura dos flocos é elevada de 70°C para 105°C.

**Extração do óleo bruto:** Etapa onde há a extração do óleo bruto dos flocos por meio de prensagem mecânica ou com a utilização de solventes orgânicos, deixando a torta com menos de 1% de óleo.

**Destilação da micela:** A micela que sai do extrator é filtrada para remoção dos finos e transferida para um destilador contínuo, no qual o óleo é separado do solvente por aquecimento sob vácuo à uma temperatura entre 70-90°C, reduzindo o teor de hexano no óleo até cerca de 5%.

**Dessolventização e Tostagem do farelo:** O farelo passa por um processo térmico em um aparelho vertical que combina a evaporação do solvente com uma cocção úmida, inativando substâncias que causam sabor indesejável. O produto final é armazenado em silos com uma umidade limite de 12%.

**Recuperação do solvente:** A recuperação do solvente contido na mistura incondensável de vapor de água e de solvente durante a dessolventização e

tostagem é efetuada com o emprego de compressores de frio ou por colunas de absorção com óleo mineral.

**Degomagem:** tem como objetivo a remoção dos fosfatídios do óleo bruto, dentre eles a lecitina, as proteínas e as substâncias coloidais. Esse método consiste em adicionar ao óleo aquecido 1-3% de água a 60-70°C sob agitação constante por aproximadamente 30 minutos. O precipitado formado é retirado por centrifugação.

**Neutralização:** Utiliza-se solução aquosa de hidróxido de sódio para eliminação de ácidos graxos livres e outros compostos definidos como impureza, tais como proteínas, ácidos graxos oxidados, e produtos resultantes da decomposição de glicérides.

**Branqueamento:** Etapa onde há uma adsorção dos pigmentos restantes do óleo em terras clarificantes, ativadas ou naturais, podendo ser misturadas com carvão ativado em proporções que variam de 10:1 a 20:1.

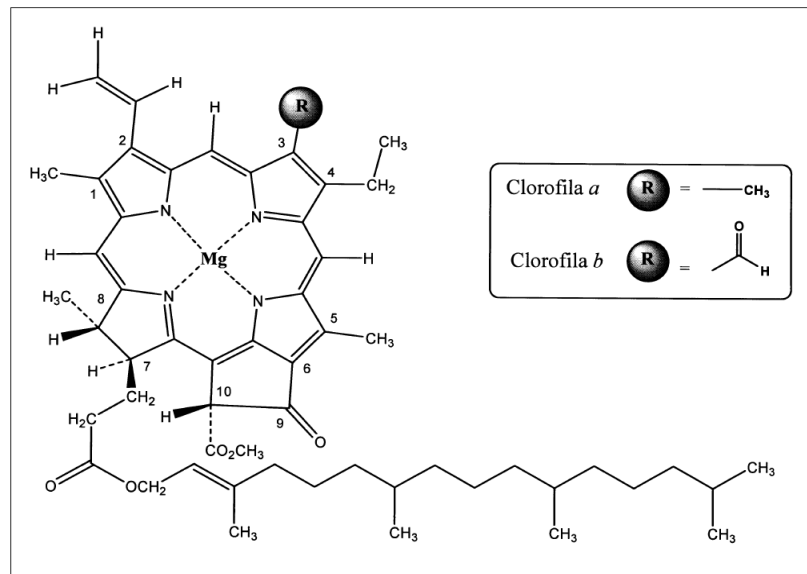
**Desodorização:** A última etapa da refinação do óleo de soja é a desodorização, que visa a remoção de sabores e odores indesejáveis, dentre eles: compostos produzidos na armazenagem e processamento dos grãos e do próprio óleo (aldeídos, cetonas, ácidos graxos oxidados, produtos de decomposição de proteínas, carotenoides, esteróis, fosfatídeos e outros), substâncias naturais presentes no óleo (hidrocarbonetos insaturados, ácidos graxos de cadeia curta e média) e ácidos graxos livres e peróxidos (EMBRAPA, 2001).

### 3.3 CLOROFILA

França-Neto *et al.* (2005) classificam três grupos principais de pigmentos associados às fotorrespostas fundamentais da planta: as clorofilas, envolvidas na fotossíntese; o fitocromo, relacionado com mudanças morfogenéticas; e o betacaroteno ou flavina, envolvido com o fototropismo.

A clorofila é o pigmento mais abundante na natureza, cujo principal papel é a absorção da luz solar e a sua conversão para energia química durante a fotossíntese. A clorofila se subdivide em clorofila *a*, que corresponde a 75% dos pigmentos verdes totais; e clorofila *b*, que é um pigmento suplementar (BORRMANN, 2009).

As clorofilas são substâncias de estruturas formadas por complexos derivados da porfirina, com um átomo de Mg (magnésio) ao centro (Figura 4). As clorofilas *a* e *b* encontram-se na natureza numa proporção de 3:1, respectivamente, e diferem nos substituintes de carbono C-3. Por serem pigmentos quimicamente instáveis, podem ser alterados ou destruídos facilmente, modificando a percepção e a qualidade dos produtos. Normalmente, as clorofilas são relativamente sensíveis à luz, aquecimento, oxigênio e a degradação química. Este fato demonstra que pode ocorrer prejuízo em produtos que contenham clorofila e sejam indevidamente acondicionados (STREIT, 2005).



**Figura 4 - Estrutura química da Clorofila a e Clorofila b.**

A ocorrência de grãos esverdeados deve ser evitada, pois a presença dos pigmentos de clorofila (elemento pró-oxidante), mesmo que em pequenas quantidades, aumenta o custo de refinação do óleo e prejudica a qualidade do óleo devido à sua cor intensa, reduzindo o valor comercial do grão. Os lotes que se apresentam nessas condições não podem ser comercializados no mercado internacional, o que se torna relevante frente ao número de exportações do Brasil. De acordo com as especificações correntes, o conteúdo máximo permitido de clorofila no óleo é de 50 ppb ou 0,05 ppm (FRANÇA-NETO *et al.*, 2005; DORSA, 2004).

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 TIPO DE PESQUISA**

Essa pesquisa possui caráter quantitativo, pois avaliou a influência da clorofila na qualidade do óleo de acordo com as diferentes concentrações de grãos imaturos.

O projeto teve duração aproximada de 11 meses, com início em Maio de 2012 e término em Abril de 2013. As análises foram realizadas na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Londrina, no Laboratório de Frutas e Vegetais, onde foi feita a extração do óleo dos grãos, e no Laboratório de Análise de Alimentos, onde foi realizada a análise espectrofotométrica na região do visível da clorofilapresente no óleo extraído.

Os materiais utilizados nessa pesquisa, como as vidrarias e equipamentos, foram disponibilizados pela UTFPR; o solvente utilizado foi disponibilizado pela orientadora deste projeto e adquirido em comércio local.

### **4.2 MATERIAL EM ESTUDO**

O material em estudo é a soja pertencente à cultivar BRS 257, obtida através de doações da Embrapa Soja, instituição situada na cidade de Londrina – Paraná.

As amostras de soja verde foram adquiridas congeladas, branqueadas e com vagem, por isso foi necessário realizar o beneficiamento da mesma. Portanto, os grãos sofreram descongelamento parcial e foram separados das vagens, sendo novamente congelados até o momento da realização das análises.

Os grãos maduros foram armazenados em armário fechado, seco e limpo até o momento da realização das análises. Para estes, nenhuma ação de beneficiamento foi necessária.

Antes do início das análises, a soja verde foi descongelada e seca em estufa com circulação de ar forçada à 80°C por 5 horas, sendo em seguida triturada. Os

grãos maduros sofreram uma secagem de aproximadamente 10 minutos na mesma temperatura, sendo também triturados e armazenados.

### 4.3 MÉTODOS

#### 4.3.1 Determinação de clorofila em óleo de soja

Após a secagem e moagem dos grãos de soja, foram preparadas sete amostras de 50 g cada em triplicata contendo 0,1, 2, 3, 4, 5 e 6% de grãos verdes triturados, colocadas em béqueres previamente identificados contendo 250 mL de hexano, onde as amostras foram homogeneizadas e deixadas em repouso por 18 horas à temperatura ambiente para extração do óleo, conforme recomendação do Instituto Adolf Lutz (1976 *apud* BORRMANN, 2009). Em seguida, as amostras foram filtradas e o solvente recuperado em rota-evaporador a 72°C até a secura, sendo recolhido o óleo obtido e submetido à leitura de absorvância em espectrofotômetro nos comprimentos de onda 630, 670 e 710 nm para a quantificação de clorofila (AOCS, 1993).

A clorofila quantificada foi expressa através do seguinte cálculo:

$$C = \frac{A_{670} - (A_{630} + A_{710})/2}{0,1016 \times L}$$

Onde:

C = concentração de pigmentos em mg/kg (ppm) de óleo

A = absorvância e seus respectivos comprimentos de onda

L = espessura da cubeta em cm.

Para avaliação do rendimento da extração, os óleos foram colocados em recipientes de vidro, previamente tarados, e pesados em balança analítica, fazendo-se a diferença entre o peso final e o peso inicial.



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de pigmentos de clorofila foi medida por espectrofotometria dois dias após a extração do óleo dos grãos de soja, sendo estas amostras guardadas à temperatura ambiente e longe da luz para evitar degradação da clorofila.

Os resultados mostraram teores de clorofilas variáveis em todas as amostras, crescendo de forma praticamente uniforme conforme o aumento de grãos imaturos nas amostras.

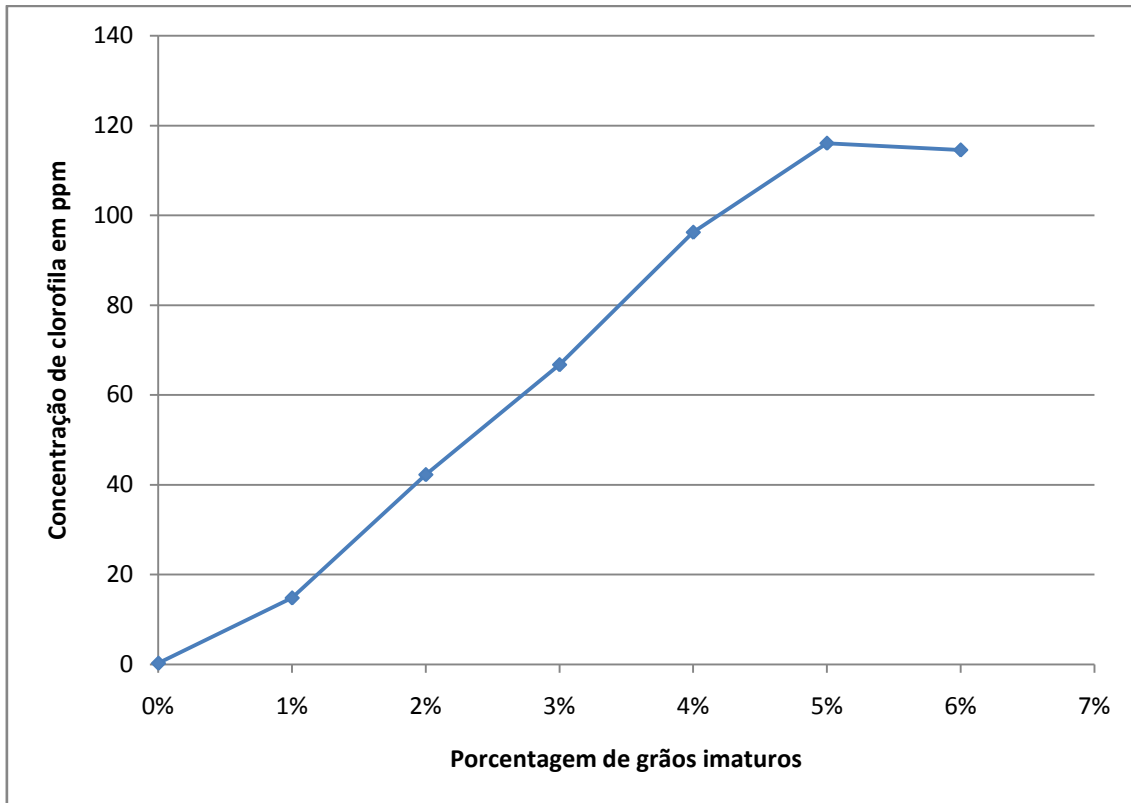
Conforme a escala de maturação de Fehr&Caviness (EMBRAPA, 2013), as sementes que se encontram no estágio de maturação comercial, ou R8, geralmente contém concentrações de clorofila inferiores a 1 mg/Kg, valor este encontrado no óleo extraído a partir da amostra 0%. Por este motivo, uma das formas de avaliação da qualidade dos grãos no momento da sua classificação é seu estágio de maturação, já que a presença de grãos verdes é considerada um indicador de imaturidade. Teores elevados de clorofila são prejudiciais para a indústria produtora de óleo, já que estes pigmentos atuam como pró-oxidantes, reduzindo a estabilidade oxidativa e a vida de prateleira dos óleos.

A Tabela 2 mostra a quantidade de clorofila presente no óleo em ppm (ou mg/Kg) obtidos a partir da leitura em espectrofotômetro:

**Tabela 2 - Quantidade de clorofila em ppm.**

Porcentagem de grãos imaturos	Concentração de clorofila em ppm
0%	0,27
1%	14,8
2%	42,24
3%	66,71
4%	96,18
5%	116
6%	114,5

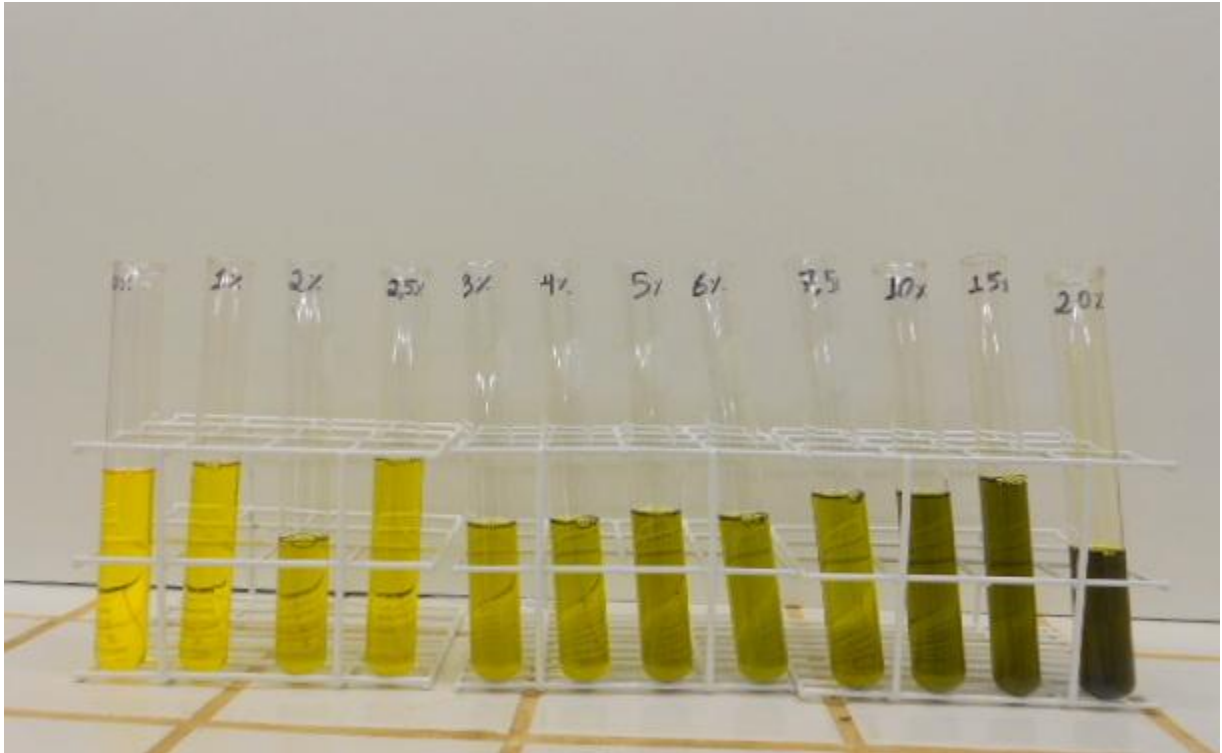
A Figura 5 ilustra em forma de gráfico a evolução da concentração de clorofila em óleo de soja a partir dos dados da Tabela 2:



**Figura 5 - Gráfico da quantidade de clorofila em ppm em função da porcentagem de grãos imaturos.**

Não puderam ser quantificadas porcentagens de grãos imaturos acima de 6% pelo fato da clorofila exceder a quantidade máxima calculável pela equação descrita anteriormente. Entretanto, foram realizadas extrações de óleo de amostras com 7,5; 10, 15 e 20% de grãos imaturos para avaliação do impacto da clorofila na qualidade visual do óleo.

A Figura 6 apresenta uma foto de tubos de ensaio contendo os óleos extraídos a partir das diferentes amostras, organizados do menos concentrado para o mais concentrado quanto ao teor de clorofila:



**Figura 6 - Amostras de óleo em ordem crescente de concentração de clorofila.**

Quanto ao rendimento, sabe-se que o grão de soja contém em sua composição aproximadamente 20% de óleo, e os grãos imaturos possuem um valor entre 2 a 3% menor quando comparado aos grãos maduros. Realizou-se então a pesagem em balança analítica dos óleos para observar o rendimento nas diferentes amostras.

Os valores obtidos de rendimento oscilaram muito, variando entre 5% e 10% de óleo extraído (Tabela 3). Entretanto, a eficiência do método de extração utilizado neste trabalho é relativamente menor do que de outros métodos mais comumente utilizados, como extração por Soxhlet. O método de Soxhlet utiliza uma menor quantidade de amostra - entre 2 a 5g - colocada em um papel de filtro dentro de um aparelho específico. O solvente é aquecido num balão de fundo redondo por um período de até 8 horas onde o vapor proveniente do solvente aquecido é resfriado e passa para o estado líquido, gerando um refluxo constante. Ao longo do tempo, o solvente arrasta compostos solúveis presentes na amostra e após vários ciclos, obtém-se o extrato final. O motivo pelo qual realizou-se a extração à frio foi para evitar possíveis degradações de clorofila durante o processo de extração do óleo, já que o método de Soxhlet é um método de extração à quente e a clorofila é um

pigmento instável termicamente, além de conseguir obter uma quantidade suficiente de óleo para completar o volume da cubeta utilizada para as leituras no espectrofotômetro .

Tabela 3 - Rendimento de óleo obtido (%)

Porcentagem de grãos imaturos	Rendimento de óleo (%)
0%	9,21
1%	10,31
2%	5,82
3%	6,82
4%	7,06
5%	7,85
6%	6,93

Embora não tenha sido possível avaliar de forma clara e gradual a redução de óleo obtido conforme o aumento de grãos imaturos, percebe-se uma redução significativa nos valores de óleo extraído a partir das amostras de 0 e 1%, conforme ilustra o gráfico da Figura 7:

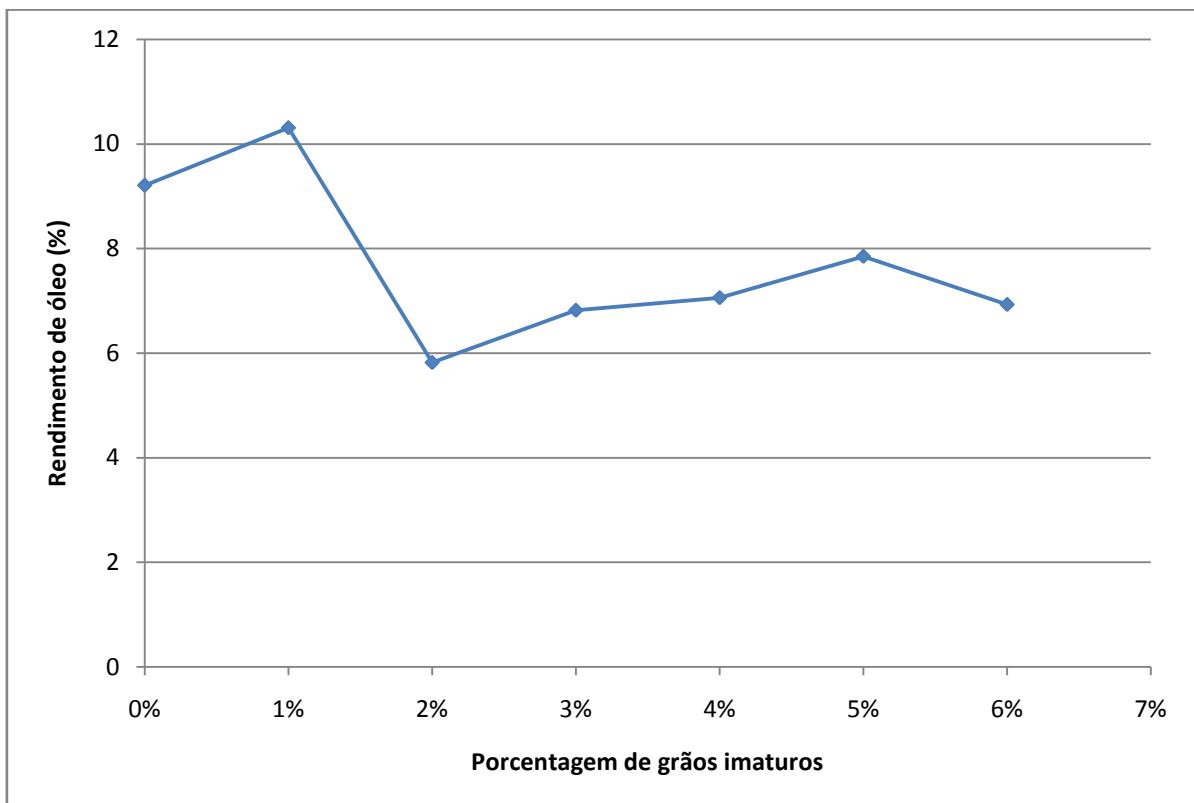


Figura 7 - Gráfico de rendimento de óleo obtido (%)

Outro fator que pode ter influenciado na redução de óleo extraído são as variações de diâmetro de partícula após a moagem, já que nem todos os grãos foram completamente reduzidos em partículas menores, o que limita a ação do solvente e reduz a área de superfície de contato.

Na literatura não consta nenhum estudo que aborde a eficiência do refino sobre os pigmentos de clorofila, sendo portanto recomendado a utilização de soja com 0% de grãos verdes para extração do óleo comestível, evitando assim problemas no decorrer do processo.

## 6. CONCLUSÃO

A presença de altas concentrações de clorofila nos grãos apresenta efeitos indesejáveis no óleo extraído a partir deles, causando coloração escura e baixo rendimento após o refino. Isto pode ser comprovado através das análises dos óleos obtidos de grãos de soja com diferentes percentuais de sementes verdes e maduras. Os resultados apresentados neste trabalho podem assegurar que é recomendado se evitar a incidência de grãos imaturos, diminuindo dessa forma altos gastos com o refino do óleo.

Uma alternativa é realizar um beneficiamento dos grãos, removendo do lote as sementes que apresentem coloração esverdeada. Todavia, são necessários estudos que possam esclarecer e minimizar a ocorrência do problema, principalmente no que se refere à eficiência da remoção dos pigmentos de clorofila após o processo de refinamento e a suscetibilidade das diferentes cultivares de soja a apresentarem grãos esverdeados.

## REFERÊNCIAS

ABIOVE. **Cadeia produtiva de oleaginosas e biodiesel**. Disponível em: <[http://www.abiove.com.br/menu\\_br.html](http://www.abiove.com.br/menu_br.html)> Acesso em: 27 abr. 2012.

AMARAL, L.; JAIGOBIND, S. J.; JAIGOBIND, A. G. A. **Dossiê técnico – óleo de soja**. São Paulo: Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas, 2006.

AOCS OfficialMethod. Chlorophyll pigments. In: \_\_\_\_\_. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society**. 4<sup>a</sup> ed. Washington, DC: AOCS Press, 1993.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*. **Plant Physiology**, v.24 , n.1 , p.1-15 , 1949.

BORRMANN, D. **Efeito do déficit hídrico em características químicas e bioquímicas da soja e na degradação da clorofila, com ênfase na formação de metabólitos incolores**. 2009. 125 f. Tese (Doutorado em Bromatologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 85, de 13 de dezembro de 2004. **Regulamento Técnico para óleos e Gorduras Vegetais**. Disponível em: <[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[8994-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[8994-1-0].PDF)> Acesso em 29 abr. 2012.

\_\_\_\_\_. **Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB)**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>> Acesso em: 14 mar. 2013.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cadeia produtiva da soja**. Brasília: IICA: MAPA/SPA, 2007.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº11, de 15 de maio de 2007. **Regulamento Técnico da Soja**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17751>> Acesso em: 29 abr 2012.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria Nº 795, de 15 de Dezembro de 1993. **Normas de Identidade, Qualidade, Embalagem, Marcação e Apresentação do Óleo e do Farelo de Soja**. Disponível

em: <[http://www.engetecno.com.br/port/legislacao/geral\\_oleo\\_soja.htm](http://www.engetecno.com.br/port/legislacao/geral_oleo_soja.htm)> Acesso em: 20 mar. 2013.

DORSA, R. **Tecnologia de óleos vegetais**. Campinas: Ideal, 2004.

EMBRAPA SOJA. **Composição da soja**. Disponível em: <[http://www.cnpso.embrapa.br/soja\\_alimentacao/index.php?pagina=7](http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=7)> Acesso em: 20 mar. 2013.

EMBRAPA SOJA. **Estádios fisiológicos da soja**. Disponível em: <<http://bioinfo.cnpso.embrapa.br/seca/index.php/ecofisiologia/estadios-fenologicos>> Acesso em: 18 mar. 2013.

EMBRAPA. **Tecnologia para produção de óleo de soja: descrição das etapas, equipamentos, produtos e subprodutos**. Londrina, Embrapa Soja: 2001.

FRANÇA-NETO, J. B. *et al.* **Semente esverdeada de soja e sua qualidade fisiológica**. Londrina: Embrapa Soja, 2005.

MANDARINO, J. M. G. Grãos verdes: influência na qualidade dos produtos à base de soja – Série Sementes. **Circular Técnica 90**. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/CT90-OL.pdf>> Acesso em: 14 mar. 2013.

MANDARINO, J. M. G.; ROESSING, A. C., BENASSI, V. T. **Óleos – alimentos funcionais**. Londrina: EmbrapaSoja, 2005.

MANGOS, T. J.; BERGUER, R. G. Determination of major chlorophyll degradation products. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und – Forschung A**, Berlin, v. 2004, p.345-350, 1997.

POMERANZ, Y.; MELOAN, C. E. Lipids. In:\_\_\_\_\_. **Food Analysis**. 3<sup>a</sup> ed. Maryland: Chapman & Hall, 2000.

STREIT, N. M. *et al.* As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.3, p.748-755, mai-jun, 2005.