

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
BACHARELADO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**HENRIQUE LAROCCA CARBONAR**

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES NA CADEIA DE ÁCIDOS GRAXOS  
APÓS O REFINO DO ÓLEO DE *SALVIA HISPANICA* L. PARA  
REDUÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**PONTA GROSSA  
2018**

**HENRIQUE LAROCCA CARBONAR**

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES NA CADEIA DE ÁCIDOS GRAXOS  
APÓS O REFINO DO ÓLEO DE *SALVIA HISPANICA* L. PARA  
REDUÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química, do Departamento de Engenharia Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Elis Regina Duarte

**PONTA GROSSA  
2018**



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Câmpus Ponta Grossa  
1.1.1 Departamento Acadêmico de Engenharia  
Química



---

## TERMO DE APROVAÇÃO

Estudo das alterações na cadeia de ácidos graxos após o refino do óleo de *Salvia hispanica* L.

por

Henrique Larocca Carbonar

Monografia apresentada no dia 23 de novembro de 2018 ao Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate  
(UEPG)

---

Deborah Cristina Crominski da Silva  
(UTFPR)

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Elis Regina Duarte  
(UTFPR)  
Orientadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Juliana de Paula Martins  
Responsável pelo TCC do Curso de Engenharia Química

Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia Química

“As circunstâncias do nascimento de alguém são irrelevantes. É o que você faz com o dom da vida que determina quem você é.” (Mewtwo)

Dedico este trabalho aos meus pais que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa tão importante da minha vida.

## *Agradecimentos*

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida, por permitir que eu chegasse até este momento, guiando-me e abençoando meu caminho.

Meu mais sincero agradecimento à minha família. Aos meus maiores exemplos, meus pais, Paulo e Ivana, agradeço pelo amor incondicional, pela paciência, por todo o apoio e pela educação que me deram. Obrigado por me incentivarem nos momentos mais difíceis, por me ensinarem os valores mais importantes e me ajudarem a ser sempre uma pessoa melhor. Meus melhores amigos para toda a vida, meus irmãos, Aline e Alexandre, por estarem sempre presentes, dando-me o apoio nos momentos complicados, pela convivência quase que diária e por toda a ajuda que me deram para chegar ao final deste curso.

Um agradecimento especial à minha orientadora, Professora Elis Regina, que, mesmo antes deste trabalho, me proporcionou uma oportunidade que mudou minha vida acadêmica e profissional. Obrigado pela paciência, pela incansável dedicação e confiança e por tudo em que contribuiu para a conclusão desta pesquisa.

Agradeço à Universidade Tecnológica Federal do Paraná, que me proporcionou a oportunidade de expandir os meus horizontes. Obrigado pelo ambiente criativo e amigável nesses anos de formação. Um agradecimento especial à PROGRAD pela bolsa concedida pelo edital 01/2018 – Apoio ao TCC, sem o qual não seria possível realizar experimentos indispensáveis para este trabalho.

Aos professores, agradeço pelo esforço e por cada ensinamento, não apenas em sala de aula. Com muita paciência e sabedoria, foram eles que me deram recursos e ferramentas para evoluir um pouco mais todos os dias durante o curso.

Obrigado, Deborah, por todos os momentos desde o começo do curso. Pela amizade, pela ajuda com os estudos, pela parceria, por tantas histórias que temos para contar, por estar presente em todos os momentos mais importantes que tive durante o curso, sendo a melhor amiga que alguém poderia ter.

Agradeço ao meu amigo Felipe, que tantas vezes me ajudou tirando dúvidas, dando conselhos e me mostrando que algo que parecia tão difícil poderia ser simples e fácil de entender.

Sou grato, também, a todos os amigos e colegas que me acompanharam nestes anos todos, seja em sala de aula, nas reuniões e projetos do Rotaract ou

nos diversos encontros da vida. A alegria de ter vocês ao meu lado durante estes anos, com certeza, fez a diferença para eu poder chegar até aqui.

À Professora Alessandra Cristine Novak Sydney e à acadêmica Fernanda Primitz agradeço pela ajuda com a execução dos experimentos realizados na UTFPR.

Serei sempre grato à minha amiga Giulia, pela presença, pelos conselhos, por me ajudar com a correção deste trabalho e tantas outras atividades durante a graduação.

Muito obrigado àqueles que me receberam em meus intercâmbios na Dinamarca e Alemanha, Torben e Karen Andreasen, Thorben Beckmann e Alois Seidl, pelo acolhimento, pela troca de experiências, pelos conselhos e pelas oportunidades incríveis de estágio na Cheminova e na Schlenk, onde adquiri conhecimentos que levarei para toda minha vida.

## Resumo

CARBONAR, Henrique Larocca. **Estudo das alterações na cadeia de ácidos graxos após o refino do óleo de *Salvia hispanica* L. para redução do índice de acidez**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado Engenharia Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2018

A semente de chia (*Salvia hispanica* L) vem ganhando grande destaque no mercado, e seu consumo vem se popularizando devido à sua composição rica em proteínas, fibras, compostos antioxidantes e ácidos graxos. Seu óleo, maior fonte de Ômega 3 de origem vegetal, é uma das formas mais consumidas. No entanto, as características deste óleo variam de acordo com as condições de plantio da semente, tempo entre a colheita e a extração do óleo e a forma com que é extraído. Essa variação faz com que, muitas vezes, o produto apresente um índice de acidez maior que o permitido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, sendo assim necessário um processo de refino para que este índice diminua. Não havendo pesquisas publicadas sobre o refino alcalino para o óleo de chia, este trabalho buscou analisar se este processo acarreta alterações na composição de ácidos graxos e nas propriedades físico-químicas de padrão regulado pela ANVISA, com o objetivo de verificar se o uso do refino alcalino é viável para o óleo de chia. Foram realizadas análises por cromatografia gasosa para determinar a composição de ácidos graxos e testes de titulação para a obtenção dos índices de acidez e de peróxido. Os experimentos demonstraram que o refino diminui a acidez do óleo sem haver uma queda significativa na concentração de Ômega 3 e 6, no entanto, acarreta um aumento significativo no índice de peróxido, facilitando, assim, a oxidação do óleo.

**Palavras-chave:** Óleo de Chia. Semente de *Salvia hispanica*. Refino do óleo de chia. Índice de acidez. Índice de peróxido. Composição de ácidos graxos.



## *Abstract*

CARBONAR, Henrique Larocca. **Study of the changes in the fatty acid chain after the refining of *Salvia hispanica* L. oil to reduce the acid value.** 2018. Final Project (Bachelor in Chemical Engineering) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2018

The chia (*Salvia hispanica* L) seed is gaining prominence in the market, and its consumption is increasing due to its composition rich in proteins, fibers, antioxidant compounds and fatty acids. Its oil, the largest source of Omega 3 of vegetable origin, is one of the most consumed forms. However, the characteristics of this oil vary according to the planting conditions of the seed, the time between harvesting and the extraction of the oil and the way in which it is extracted. Because of this variation, the acid value of the product is often higher than those accepted by the Brazilian Health Regulatory Agency (ANVISA), then a refining process is necessary to reduce this value. Because there is no published research on alkaline refining applied on chia oil, this study aimed to examine if this process results in changes in fatty acid composition and in physicochemical properties with standards regulated by ANVISA, verifying if the use of alkaline refining can be used for chia oil. Gas chromatographic analyses were performed to determine the composition of fatty acids and titration tests to obtain the acid and peroxide values. The experiments of this paper showed that the refining decreases the acidity of the oil without a significant drop in the concentration of Omega 3 and 6; however, it leads to a significant increase in the peroxide value, thus facilitating the oxidation of the oil.

**Keywords:** Chia Oil. *Salvia hispanica* seed. Chia oil refining. Acid value. Peroxide value. Composition of fatty acids.

## *Lista de tabelas*

Tabela 1 Concentração de ácidos graxos a cada 100 g de semente de chia.....	19
Tabela 2 Concentração de ácido linoleico e alfa-linolênico em hortaliças, cereais e leguminosas.....	19
Tabela 3 Concentração de ácido linoleico e alfa-linolenico em frutas e óleos vegetais.....	20
Tabela 4 Tempo de indução da oxidação do óleo de chia em diferentes temperaturas.....	24
Tabela 5 Resultados da primeira análise em cromatografia gasosa do óleo não refinado .....	332
Tabela 6 Resultados da segunda análise em cromatografia gasosa do óleo não refinado .....	33
Tabela 7 Resultados da primeira análise em cromatografia gasosa do óleo refinado.....	33
Tabela 8 Resultados da segunda análise em cromatografia gasosa do óleo refinado.....	34
4	
Tabela 9 Composição dos ácidos graxos (% m/m) das amostras de óleo antes e após o refino.....	34

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>15</b>
3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS .....	15
3.2 SEMENTE DE CHIA .....	15
3.2.1 Composição da Semente de Chia .....	16
3.2.2 Fibras Alimentares .....	17
3.2.3 Óleo de Chia .....	18
3.2.3.1 Extração do óleo de chia .....	21
3.2.3.2 Acidez do óleo .....	23
3.2.3.3 Estabilidade Oxidativa .....	23
3.2.3.4 Degradação Térmica do Óleo de Chia .....	24
3.2.3.5 Refino do óleo de chia .....	25
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>26</b>
4.1 ESTUDO DE CASO .....	26
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ANTES E APÓS O REFINO .....	26
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>29</b>
5.1 ESTUDO DE CASO .....	29
5.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO .....	29
5.2.1 Extração e determinação de compostos fenólicos .....	29
5.2.2 Índice de acidez .....	30
5.2.3 Índice de peróxido .....	31
5.2.4 Cromatografia gasosa .....	32
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>37</b>
<b>ANEXO A - Resultados da análise em cromatografia gasosa das amostras de óleo de chia fornecidos pelo Laboratório de Óleos da Unicamp</b> .....	<b>43</b>

## 2 INTRODUÇÃO

A correria do dia a dia e a busca por um estilo de vida mais prático trouxeram várias mudanças para a sociedade, entre elas, o maior consumo de alimentos industrializados, contendo conservantes, sódio, gorduras, entre outros, que podem ser prejudiciais à saúde. Com o aumento no consumo destes alimentos, os casos de pessoas que apresentam deficiências de micronutrientes, ingestão energética inadequada e obesidade se tornam cada vez mais notados na sociedade (FERREIRA, 2013).

Para suprir as necessidades nutricionais e encontrar substitutos para os alimentos industrializados, é cada vez maior o estudo sobre os alimentos funcionais. Estes alimentos são definidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como qualquer alimento ou ingrediente que, quando consumido como parte da dieta usual, além das funções metabólicas normais básicas, produza efeitos metabólicos e/ou fisiológicos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica (BRASIL, 1999).

A ANVISA define que a semente de chia (*Salvia hispanica* L.) como alimento funcional. Seu uso vem ganhando espaço na dieta dos brasileiros, na forma de emulsão, farinha e óleo, devido ao seu consumo ser relacionado aos efeitos benéficos no combate da obesidade, diabetes e câncer (SILVA, et al., 2017).

O óleo de chia é composto por ácidos graxos poliinsaturados, entre eles o Ômega 3. Este ácido graxo traz diversos benefícios para a saúde, principalmente durante o crescimento fetal, a infância e no combate a doenças cardiovasculares. A semente da chia é composta de 25 a 38% em massa por óleo (MARTÍNEZ, et al., 2012).

A definição da ANVISA em 1999 exige que óleos vegetais contenham um índice de acidez inferior a 0,3 gramas de ácido oleico para cada 100 g de óleo (BRASIL, 1999). Para atingir este índice, o óleo é passado por um processo de refino. Por ser um produto relativamente novo, os processos de refino para este tipo de óleo ainda não são facilmente encontrados na literatura, sendo normalmente utilizado o processo de banho em hidróxido de sódio.

Sendo um alimento funcional utilizado principalmente como complemento alimentar, se faz necessário o estudo da qualidade do óleo de chia, antes e após o

processo de refino, para que se possa garantir que suas características funcionais estejam presentes no óleo disponível no mercado.

Por não estar presente na literatura, pergunta-se: O processo de refino pode causar alterações na cadeia de ácidos graxos do óleo de chia?

Para determinar se o processo causa ou não alterações, parte-se da hipótese que a caracterização do óleo, antes e após o refino deve ser aplicada, utilizando análises por cromatografia gasosa para determinar a composição de ácidos graxos e testes de titulação para a obtenção dos índices de acidez e de peróxido.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar se o refino do óleo de chia por banho em hidróxido de sódio causa alterações nas cadeias de ácidos graxos.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o estudo de caso, com visita em empresas produtoras e consumidoras de óleo de chia na região de Bauru-SP e Sorocaba-SP para analisar o processo de extração e filtragem do óleo;
- Caracterizar o óleo de chia antes e após o refino para que sejam feitas comparações de suas propriedades;
- Analisar os índices de acidez e peróxidos antes e após o refino, verificando se houve alterações e se ambos estão de acordo com a legislação.

## 4 REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

A partir da década de 80 no Japão, e do final da década de 90 no Brasil, as pesquisas sobre Alimentos Funcionais e seus benefícios à saúde, além do retorno financeiro, passaram a ter grande destaque (ANJO, 2004).

O aumento do consumo destes alimentos no Brasil é uma prerrogativa para possibilitar a garantia de uma alimentação saudável e segura em todo o país. O uso destes alimentos, segundo diversas literaturas, ajuda na redução no risco de doenças cardiovasculares, câncer, problemas intestinais, aumento da imunidade, auxílio na convalescença, entre outros, pois muitos possuem propriedades antioxidantes, garantem equilíbrio de nutrientes e diversos outros fatores (FERREIRA, 2013, FIGUEIREDO et al., 2008, MELO et al., 2009 apud FERREIRA, 2013, SANKHLA et al., 2013).

Sendo caracterizada pela ANVISA como um Alimento Funcional, a chia proporciona um balanço de nutrientes como carboidratos, proteínas e gorduras além de ser uma fonte de Ômega 3, fibras, entre outros. Por isto, ressalta-se a importância em realizar um estudo mais aprofundado sobre seu consumo, sua composição e suas aplicações.

No mercado, a semente é comercializada a granel ou fracionada, na forma de farinha, em cápsula *softgel*, além de associada com outros produtos naturais como outros óleos em cápsula.

### 4.2 SEMENTE DE CHIA

A chia (*Salvia hispanica* L) é uma planta herbácea da família das lamiáceas, nativa do sul do México e do norte da Guatemala (COATES e AYERZA, 1996) e sua semente, segundo Marineli et al. (2015), está presente na dieta de povos americanos desde 2600 A.C.

O cultivo desta espécie, pouco resistente a geadas, é normalmente notado nos países da América Latina, destacando-se países como Argentina, Bolívia, Colômbia, México e Peru (COATES e AYERZA, 1996).

No entanto, com o plantio em estufas, estas sementes já estão sendo cultivadas na Europa e em outras regiões mais frias (MARINELI et al., 2015). No Brasil, segundo Silva et al. (2017), a semente é plantada nos estados do Mato Grosso e Rio Grande do Sul. Marineli et al. (2015) e Silva et al. (2017) destacam que a região geográfica onde ocorre o plantio desta semente tem um grande impacto em sua composição e na concentração de nutrientes.

O consumo das sementes da *Salvia hispanica* L, no Brasil, é realizado de formas diferentes, com destaque para a farinha e para a adição destas sementes em frutas, iogurtes, bolos, entre outros. Contudo, até o momento, existem poucos estudos acerca da caracterização e dos compostos bioativos da semente de chia plantada no Brasil (SILVA et al., 2017).

A presença da semente na alimentação está diretamente ligada às suas propriedades funcionais, podendo variar de acordo com a forma que a semente é consumida. Segundo Rendón-villalobos et al. (2012), uma das formas de consumo é a farinha composta de milho e semente de chia, e seu consumo, devido à alta concentração de fibras dietéticas, diminui o impacto na glicemia. Já Capitani et al. (2012) e Olivos-Lugo et al. (2010), afirmam que a farinha da chia pode ser usada como ingrediente para cookies, pães, entre outros, e garante a estes produtos maior retenção de água, estabilidade de emulsificação e capacidade de absorção.

Jeong et al., (2010) avaliaram o uso tópico do óleo de chia para doenças de pele como prurido, especialmente em pacientes com diabetes e disfunção renal. Já a pesquisa de Illian et al., (2011) mostra que o consumo da semente permite a ingestão de uma grande quantidade de carboidratos com baixo teor de açúcar, fornecendo energia para atletas em exercícios vigorosos por 90 minutos.

#### 4.2.1 Composição da Semente de Chia

Ixtaina et al. (2011) afirmaram que 25% a 38% do peso da semente de chia se deve ao óleo, o qual possui a maior proporção de ácido alfa-linolênico entre todos os óleos vegetais. Este ácido graxo essencial, segundo Carvalho et al. (2003) é o



representante da família Ômega-3, a qual Marineli et al. (2015) afirmam ser essencial para o crescimento e desenvolvimento normal do organismo e desempenhar um papel importante no tratamento e prevenção de diversas doenças.

A torta residual da extração do óleo de chia é uma boa fonte de fibras dietéticas, e contém compostos fenólicos com atividade antioxidante que os torna adequados como antioxidantes naturais para gorduras e óleos (REYES-CAUDILLO, TECANTE, VALDIVIA-LÓPEZ, 2008). Os estudos de Silva et al. (2017) apontam que o teor destas fibras dietéticas totais é de 27 a 35% em peso. Segundo Guindani et al. (2014), esta torta é atualmente utilizada para a produção da farinha de chia desengordurada e para ração animal, no entanto, estes produtos possuem baixo valor agregado. Sua dissertação traz, também, a informação de que existem poucos estudos sobre a utilização da torta de chia como matéria-prima para obtenção de compostos biologicamente ativos, o que agregaria maior valor a este subproduto.

Capitani et al. (2012) destacam o fato desta torta possuir, também, uma grande quantidade de proteínas (19 a 27 gramas a cada 100 gramas de sementes), sendo este teor de proteína maior que o de outras culturas tradicionais, como trigo, milho, arroz, aveia, cevada e amaranto. O mesmo autor ainda enfatiza o fato de, embora a chia não ser cultivada comercialmente com o objetivo de ser uma fonte de proteína, seu perfil de aminoácidos não tem fatores limitantes na dieta de adultos, mas treonina, lisina e leucina foram os aminoácidos limitantes na dieta de uma criança pré-escolar.

Sendo a maior parte desta semente composta por óleo e fibras, ressalta-se a importância de fazer um estudo mais apropriado sobre eles.

#### 4.2.2 Fibras Alimentares

A fibra dietética ou fibra alimentar tornou-se um componente importante na dieta humana, pois sua ingestão tem efeitos benéficos para a saúde, como por exemplo a redução do colesterol, modificação das respostas glicêmica e insulinêmica, alterações na função intestinal, além de apresentar atividade antioxidante. As fibras dietéticas têm, também, funcionalidades tecnológicas como um agente de ligação de gordura, gelificante, quelante e texturizante (REYES-CAUDILLO; TECANTE; VALDIVIA-LÓPEZ, 2008).

A fibra dietética é de grande importância na saúde intestinal, nutricional e tem efeitos fisiológicos para quem ingere, além de, segundo alguns estudos, estar significativamente ligada à prevenção de doenças como a doença coronária, hipertensão, diabetes e obesidade (VAN DER KAMP, 2010, apud MARINELI et al., 2014).

Como citado anteriormente, 27 a 35% da composição da semente da chia é de fibras alimentares totais. Destas, segundo os estudos de Marineli et al. (2014), 93,52% são fibras dietéticas insolúveis e 6,48% de fibras dietéticas solúveis.

Silva et al. (2017) analisaram as sementes de chia plantadas no Mato Grosso e no Rio Grande do Sul (maiores produções nacionais), cujo percentual de fibras, em peso, chega a 38%. Na pesquisa de Dhingra et al. (2011), são apresentadas as concentrações de fibras de diversos grãos e cereais, dentre eles, destacam-se as concentrações da cevada (17,3%), do milho (13,4%), da soja (15%), e do feijão branco (17,7%). Assim, pode-se notar o fato da quantidade de fibras da semente de chia ser uma das maiores entre as sementes consumidas no Brasil.

Para empresas de extração de óleo de chia, estas fibras, junto com as proteínas que nelas são encontradas, são consideradas como resíduos. Devido ao seu alto valor nutritivo, ressalta-se a oportunidade de um estudo sobre possíveis aplicações destes resíduos.

#### 4.2.3 Óleo de Chia

Dependendo das condições de plantio (solo, clima e manejo), como já mencionado na seção 3.2.1, o percentual, em peso, do óleo de chia pode variar. As sementes analisadas por Silva et al. (2017) apresentaram, em média, 31,16 g de óleo para cada 100 gramas de semente. Estes ácidos graxos, segundo o mesmo autor, são compostos de acordo com a Tabela 1.

**Tabela 1 Concentração de ácidos graxos a cada 100 g de semente de chia**

Ácido graxo	Concentração na semente (%)	Concentração em 100 g de óleo
Ácido hexadecanóico (16:00)	1,835	5,889
Ácido esteárico - 18:0	0,965	3,097
Ácido oleico - 18:1 (n-9)	1,55	4,974
Ácido oleico - 18:1 (n-7)	0,245	0,786
Ácido linoleico - 18:2 (n-6)	5,39	17,298
Ácido alfa-linolênico - 18:3 (n-3)	19,55	62,741
Saturado	2,805	9,002
Monoinsaturado	1,79	5,745
Poli-insaturado	26,74	85,815

Fonte: Adaptado de Silva et al. (2017)

Como pode ser observado, a concentração de ácido alfa-linolênico é uma das mais elevadas. O ácido linoleico e o alfa-linolênico, em humanos, são necessários para garantir boas condições para as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos, além de participar da transferência do oxigênio para o plasma sanguíneo e agirem na divisão celular. Porém, estes ácidos graxos não são sintetizados pelo organismo, por isso, a ingestão destes é essencial para o corpo humano (MARTIN et al., 2006, AGUIAR et al., 2010).

As Tabelas 2 e 3 apresentam as concentrações de ácido linoleico (18:2 (n-6)) e alfa-linolênico 18:3 (n-3) em diversas fontes não animais.

**Tabela 2 Concentração de ácido linoleico e alfa-linolênico em hortaliças, cereais e leguminosas**

Hortaliças	18:2 n-6 (g/100g)	18:3 n-3 (g/100g)	Cereais e leguminosas	18:2 n-6 (g/100g)	18:3 n-3 (g/100g)
Agrião	0,04	0,18	Arroz cozido	0,06	0,01
Alface	0,04	0,09	Arroz parboilizado cozido	0,31	0,02
Brócolis	0,05	0,11	Aveia	2,44	0,11
Beldroega	0,09	0,41	Ervilha cozida	0,14	0,03
Couve	0,14	0,18	Feijão cozido	0,08	0,11
Couve-flor	0,05	0,17	Lentilha Cozida	0,14	0,04
Espinafre	0,03	0,13	Milho cozido	5,86	0,18
Hortelã	0,03	0,2	Soja Cozida	4,46	0,6

Fonte: Adaptado de Martin et al. (2006)

**Tabela 3 Concentração de ácido linoleico e alfa-linolenico em frutas e óleos vegetais.**

Frutas	18:2 n-6 (g/100g)	18:3 n-3 (g/100g)	Óleos	18:2 n-6 (g/100g)	18:3 n-3 (g/100g)
Abacate	1,67	0,13	Canola	20,3	9,3
Banana	0,05	0,03	Linhaça	12,7	53,3
Mamão	0,01	0,03	Milho	52,3	1,16
Manga	0,04	0,01	Oliva	9,76	0,76
Morango	0,18	0,07	Soja	51	6,8

Fonte: Adaptado de Martin et al. (2006)

Comparando as Tabelas 1, 2 e 3 nota-se que, dentre as sementes apresentadas, a semente de chia possui maior concentração do ácido graxo 18:03 n-3, também conhecido como Ômega 3. Analisando as concentrações dos óleos da Tabela 2 e comparando com a concentração de ácido alfa-linolênico da Tabela 1, pode-se notar que, com 62,74 gramas, a cada 100 gramas de óleo de chia, este é o óleo com maior concentração de ácido alfa-linolênico (MARTIN et al., 2006, SILVA et al., 2017). Esta alta concentração é a principal razão deste óleo estar em alta no mercado nacional.

Atualmente, existem 88 registros de empresas produtoras de óleo de chia no Brasil (BRASIL, 2017). A pesquisa de mercado realizada pela empresa H. Larocca Carbonar ME, demonstrou que em 2012 existiam apenas 6 registros, demonstrando que o produto está em crescimento no mercado. Estes 88 registros ainda são divididos em diversas marcas, possuindo propriedades diferentes de acordo com os métodos de extração, encapsulamento e refino do óleo.

Os estudos de Gökmen et al. (2011) e Souza (2014), mostram que os ácidos poli-insaturados, como é o caso do Ômega 3, são suscetíveis à oxidação, podendo resultar em uma queda no valor nutricional do óleo de chia, sendo, então, interessante realizar um maior estudo sobre os processos envolvidos na produção de óleo de chia e como eles podem influenciar na qualidade do produto.

Capitani et al. (2012) encontraram  $5,7 \cdot 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$  de compostos fenólicos totais presentes no óleo de chia, sendo o composto mais abundante o ácido cafeico ( $4,8 \cdot 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Estes compostos têm recebido muita atenção nos últimos anos pelas suas propriedades antioxidantes.

A extração destes compostos é uma etapa muito delicada da análise, pois depende de vários fatores, como o tipo de amostra, tipo de compostos a serem

extraídos, temperatura de extração e o tipo de solvente a ser usado na extração (Mustafa e Turner, 2011).

#### 4.2.3.1 Extração do óleo de chia

O teor e a qualidade do óleo presentes na semente de chia, podem ser afetados por diversos fatores, sendo a extração um dos principais fatores (ALI et al., 2012). Segundo a pesquisa de Segura-Campos et al. (2014), o método de extração de *Franz von Soxhlet* descrito pela AOAC (do inglês, *Association of Official Analytical Chemists*), é realizado para a extração, além da determinação do rendimento de óleo e da recuperação de óleo. Todavia, em uma das etapas deste método, o hexano utilizado para a extração é aquecido até a fervura durante 4 horas de extração contínua, e, segundo o trabalho de Souza (2014), o óleo de chia sofre um processo de degradação após 2 horas mantido em uma temperatura de 75°C. Ali et al. (2012) afirmam que este é o método menos preferível devido ao uso de altas temperaturas as quais podem causar alterações no óleo.

Um processo que não envolve o uso de elevadas temperaturas é o de prensagem a frio, muito utilizado na elaboração de produtos naturais e que garante um óleo de elevada pureza. Por ser um método fácil, rápido e de baixo custo, é muito utilizado por empresas, apesar disto, sua eficiência quanto à quantidade de óleo extraída é muito menor do que a extração por solvente. A extração por prensagem a frio é afetada, também, por fatores como o teor de umidade e temperatura dos grãos, além de fatores como o dimensionamento do equipamento, entre outros (PIGHINELLI et al., 2008; SILVA et al., 2012; RIPKE, PALEZI, NOBRE, 2016).

Ixtaina et al. (2011) compararam a extração do óleo por meio de solvente (hexano) e por prensagem a frio de sementes da Guatemala e da Argentina. Em ambos os casos, a extração por solvente teve um rendimento muito maior na quantidade de óleo extraída, chegando a uma diferença de até 30%, no entanto, ao analisar as propriedades do óleo, nota-se que o índice de acidez do óleo obtido pela extração por solvente é muito maior que o do óleo obtido por prensagem a frio. Esta diferença foi de mais de 100% em ambas as sementes testadas.

Outra forma de se obter o óleo é a extração do óleo de sementes de chia utilizando o dióxido de carbono supercrítico, uma tecnologia de separação que utiliza

um solvente (CO<sub>2</sub>) no estado supercrítico, ou seja, em uma temperatura e pressão com valores acima do ponto crítico (GUINDANI et al., 2016).

Em 2011, Ixtaina et al. estudaram este método em sementes de chia do México, obtendo uma quantidade de óleo parecida com a de Franz von Soxhlet, sendo as concentrações de ácidos graxos levemente maiores utilizando o solvente supercrítico.

No trabalho de Ali et al. (2012) foram aplicados três processos de extração diferentes, e analisadas as características do óleo obtido em cada um deles. Estas características podem ser observadas no Quadro 1.

**Quadro 1 Comparação dos métodos de extração do óleo de chia**

Extração	Característica
Solvente	<p>Soxhlet usando n-Hexano (menos preferível que outros métodos).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Vantagem: favorece as características funcionais do óleo, tais como a retenção de água, capacidade de absorção de moléculas e estabilidade emulsionante.</li> <li>- Desvantagem: provoca uma ligeira perda de conteúdo de antioxidantes além de trazer questões de segurança à saúde e ao meio-ambiente devido à utilização de substâncias hexano.</li> </ul>
Prensagem	<p>Técnica de prensagem a frio, utilizando prensa de parafuso Komet com temperatura entre 25-30°C usando aquecimento de resistência elétrica e armazenamento a baixa temperatura (4°C) no escuro.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Vantagens: melhor preservação dos conteúdos antioxidantes (quercetina e miricetina) que a extração por solvente, e menor custo.</li> <li>- Desvantagem: A recuperação do óleo é parcial</li> </ul>
Fluidos Supercríticos	<p>Utilização de dióxido de carbono à pressão ideal (P = 408) a temperatura de 80°C.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Vantagem: Esse método garante melhor pureza e maiores teores de ácido alfa-linolênico e ácido linoleico no produto final. O aumento de pressão pode aumentar o rendimento de óleo, porém altas temperaturas pouco afetam a extração de óleo, mas podem causar alterações em suas propriedades.</li> <li>- A desvantagem deste método é o alto custo.</li> </ul>

Fonte: adaptado de Ali et al. (2012)

Pelas vantagens e desvantagens apresentadas no Quadro 1, pelos resultados dos trabalhos sobre os métodos de extração, pode-se concluir que o método de extração por prensagem a frio é o mais viável, pois não altera as propriedades do óleo, como a extração por solvente e não é economicamente viável a extração usando fluidos supercríticos.

#### 4.2.3.2 Acidez do óleo

Por ser um óleo vegetal, de acordo com a norma estabelecida pela ANVISA, o óleo de chia precisa apresentar um índice de acidez, expresso em teor de ácido oleico a cada 100 gramas de óleo, menor que 0,3% (BRASIL, 1999).

Como mencionado na seção anterior, vários fatores podem influenciar as características do óleo. Sendo assim, o processo de extração deve ser escolhido cuidadosamente.

Recentemente, em seus estudos sobre a composição química das sementes de chias plantadas em diferentes lugares do Brasil, Silva et al. (2017) demonstraram que as características climáticas e condições do solo e outros fatores geográficos influenciam na composição da semente.

Dentre os estudos sobre a extração do óleo apresentados anteriormente, a prensagem a frio realizada por Ixtaina et al. (2011) foi a menor, porém em nenhum dos trabalhos apresentados sobre a composição do óleo, a concentração de ácido oleico ficou dentro dos padrões exigidos pela ANVISA.

Como a maioria dos trabalhos analisados para este estudo tinham como objetivo avaliar as características do óleo *in natura*, entende-se que nenhum realizou processo de refino destes óleos.

#### 4.2.3.3 Estabilidade Oxidativa

Segundo Souza et al. (2014), a composição lipídica do óleo da semente de chia faz com que ele apresente uma forte susceptibilidade à degradação termo oxidativa, e, quando a oxidação acontece, torna-se um óleo nocivo ao consumo humano. Ixtaina, Nolasco e Tomás (2012) também explicam que a elevada

concentração de ácidos graxos insaturados diminui a estabilidade oxidativa do óleo, reduzindo, assim, o seu tempo de armazenamento. A oxidação de lipídios é influenciada por fatores como: oxigênio, luz, umidade e calor, os quais são responsáveis pela formação de radicais livres que dão início à reação de oxidação. Esta reação resulta na formação de aromas e produtos de degradação que são desagradáveis ao consumidor, podendo, ainda, ser prejudiciais à saúde. Este processo muda, também, as estruturas químicas dos ácidos graxos, invalidando os benefícios destes à saúde (INÁCIO, 2017).

Os primeiros compostos formados na oxidação de ácidos graxos são os peróxidos. Então, determinar o índice de peróxidos é uma maneira de analisar a estabilidade oxidativa do óleo. Este índice expressa, em miliequivalentes de oxigênio, a quantidade de peróxido presente em 1 kg da amostra.

A legislação determina que óleos e gorduras prensados a frio devem apresentar um índice de peróxido máximo de 15 meq peróxido/kg (ANVISA, 2005).

#### 4.2.3.4 Degradação Térmica do Óleo de Chia

Diversos autores pesquisaram, de diversas maneiras, a influência da temperatura na degradação do óleo da semente de chia. Como mencionado anteriormente, Souza (2014), afirma que o óleo da semente de *Salvia hispanica* sofre um processo de degradação após 2 horas mantido em uma temperatura de 75°C. Já o trabalho de Inácio (2017) buscou analisar o tempo necessário para iniciar a oxidação do óleo em temperaturas de 110, 120, 130 e 140°C, como pode ser observado na Tabela 4.

**Tabela 4 Tempo de indução da oxidação do óleo de chia em diferentes temperaturas**

Temperatura (°C)	Tempo de indução da Oxidação (min)
110	186,92
120	88,96
130	56,64
140	33,9

Fonte Adaptado de Inácio (2017)



#### 4.2.3.5 Refino do óleo de chia

Não foram encontradas literaturas sobre o refino do óleo de chia. Porém, como foi apresentado anteriormente, para serem comercializados, segundo a ANVISA, os óleos vegetais precisam ter uma acidez muito baixa, e os óleos de chia nem sempre apresentam este teor quando extraídos.

Para retirar a acidez de óleos vegetais, Zeldenrust (2012) explica o processo de refino alcalino do óleo. A neutralização alcalina envolve a reação de ácidos graxos livres com uma solução alcalina, normalmente sendo utilizado o hidróxido de sódio. Este método, estabelecido principalmente nos Estados Unidos para refinar o óleo de soja, é uma combinação de degomagem e neutralização.

O processo de refino alcalino (neutralização por saponificação) é composto por quatro etapas. A primeira é o aquecimento do óleo a 90°C, seguida pela etapa de condicionamento, onde ocorre a transformação dos fosfolipídios não hidratáveis na sua forma hidratável por desagregação dos complexos de metal ou de fosfatina com um ácido forte. Em seguida é realizada a neutralização pela saponificação dos ácidos graxos livres, utilizando hidróxido de sódio. A terceira etapa é a lavagem com água quente para retirada do sabão e, por fim, a quarta etapa é a retirada da umidade sob vácuo. (DORSA; EICKHOFF, 2004)

Zeldenrust (2012) ainda menciona outros métodos de refino alcalino, como o Refino Miscella, utilizado em óleo extraído por solventes; o método *Winterisation*, utilizado para óleos que possuem ácidos graxos de cadeia longa, os quais cristalizam em baixas temperaturas e o método de refino a frio, que é uma variação do método *Winterisation*, porém utilizado em óleos que apresentam baixa concentração de ácidos graxos livres.

Destes métodos, a neutralização por saponificação é a única aplicável ao óleo de chia extraído por prensagem a frio (objeto de estudo deste trabalho). No entanto, não foram encontrados estudos publicados sobre a aplicação deste método para este óleo. Este trabalho analisará quais alterações este processo pode acarretar no óleo da semente de chia, realizando a caracterização do óleo antes e após o refino, buscando identificar as alterações em sua composição.

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 ESTUDO DE CASO

A primeira etapa da pesquisa foi o estudo do processo de extração, filtragem e refino do óleo, com a visita em empresas produtoras e consumidoras de óleo de chia na região de Bauru-SP e Sorocaba-SP.

### 5.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ANTES E APÓS O REFINO

Foram utilizadas duas amostras de um mesmo lote de óleo da semente de *Salvia hispanica* extraído por compressão a frio, ambas fornecidas pela empresa H. Larocca Carbonar, sendo a primeira amostra o óleo obtido diretamente após a extração, e a segunda, submetida ao processo de refino alcalino para a realização deste trabalho.

Ambas as amostras foram caracterizadas, tendo como foco os fatores que dão destaque para o óleo de chia para o consumo humano, ou seja, suas propriedades antioxidantes e concentração de ácidos graxos, além dos índices de acidez e peróxidos, fatores de análise exigida pela ANVISA para a comercialização do óleo.

Foi realizada a extração dos compostos fenólicos com base na adaptação de Gambacorta et al. (2010) para os estudos de Montedoro et al. (1992), obtendo-se os componentes fenólicos por uma extração líquido-líquido usando metanol e hexano como solventes. Pesaram-se de 5 g de cada amostra de óleo, adicionando-se, a cada uma delas, 2 mL de metanol 70% e 2 mL de hexano. Cada amostra foi misturada por *vortex* por um minuto e depois em *shaker* por vinte minutos. Após a mistura, foi realizada a centrifugação (3577g, 9,5 °C), por dez minutos, para separar, da fase oleosa, a fase hidroalcoólica contendo os compostos fenólicos, sendo esta centrifugada novamente, nas mesmas condições, por sete minutos.

A determinação dos compostos fenólicos seguiu o protocolo apresentado por Granato e Nunes (2016). Adicionaram-se 75 µL de cada um dos extratos obtidos na segunda centrifugação, em tubos *Falcon* Cônicos. Em seguida, foram adicionados, em cada um dos tubos, 2475 µL de água e 150 µL do reativo de Folin-Ciocalteu. Em

outro tubo, para realização do padrão, foram adicionados 150 µL de Ácido Gálico 80% e 150 µL do reativo de Folin-Ciocalteu. As três amostras ficaram em repouso por três minutos, em seguida, adicionaram-se, a cada uma delas, 300 µL de carbonato de sódio 10%. As três amostras foram agitadas em *vortex* por vinte segundos e, em seguida, armazenadas ao abrigo da luz por 120 minutos. Decorridos 60 minutos, foi preparado o branco utilizado no espectrofotômetro UV, adicionando-se 25 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 200 µL de água ultra-pura. Após cinco minutos, foram adicionados 25 µL da solução de carbonato de cálcio 20% e agitou-se por vinte segundos. Por fim, 60 minutos depois, foi registrada a absorbância de todas as amostras, no comprimento de onda de 725 nm.

As análises físico-químicas para determinar o índice de acidez foram realizadas de acordo com o AOCS (2003). Foi recolhida uma amostra de cada óleo, garantindo que ambas estivessem homogeneizadas e completamente líquidas. Pesaram-se, então, 7,05 g da amostra em frasco Erlenmeyer de 125 mL. Então, adicionaram-se 75 mL de álcool etílico 95% neutralizado. Colocaram-se 2 mL do indicador fenolftaleína em cada uma das amostras. As misturas foram aquecidas até 65°C e, por fim, foi realizada a titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 M até o aparecimento da coloração rósea persistente por 30 segundos.

Os resultados do índice de acidez das amostras foram obtidos com os cálculos indicados pelo AOCS (2003):

$$IA = \frac{Vg \times 28,2 \times F}{Pa}$$

Onde:

IA = Índice de Acidez

Vg = Volume gasto de NaOH na titulação

F = Fator da solução de NaOH

Pa = Peso da amostra

A análise do índice de peróxido foi feita com uma adaptação do método indicado pelo AOCS (1990). Primeiramente, pesou-se ( $5 \pm 0,05$ ) g de cada amostra de óleo em frascos Erlenmeyer de 250 mL. Em cada uma delas, adicionaram-se 30 mL de solução ácido acético-clorofórmio 3:2 e foram agitadas até a dissolução das amostras. Adicionou-se, então, o volume de 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio. Após isto, as amostras foram abrigadas da luz e deixadas em repouso por

exatamente um minuto. Em seguida, foram acrescentados uma quantidade de 50 mL de água destilada em cada amostra, e 1 mL da solução de amido, o que fez com que as amostras apresentassem um tom azulado. Estas soluções foram tituladas com solução de Tiosulfato de Sódio 0,1N. Para o branco da titulação, repetiu-se o procedimento, porém, sem a adição da amostra de óleo.

Os valores do índice de peróxido (IP) foram encontrados de pelo método indicado pelo AOCS (1990) com os seguintes cálculos:

$$\text{IP (meq por 1000g de amostra)} = \frac{(A-B) \times N \times 1000}{P}$$

Onde:

A = número de mL de tiosulfato de sódio gasto na titulação da amostra

B = número de mL de tiosulfato de sódio gasto na titulação do branco

N = Normalidade da solução de tiosulfato

P = Peso, em g, da amostra

Pelo fato da instituição não possuir coluna para cromatografia gasosa de óleos, e considerando-se elevado custo deste material, assim como o do padrão necessário para realizar a quantificação de ácidos graxos por este método, optou-se por contratar o Laboratório de Óleos da Unicamp. Esta análise foi realizada com auxílio do Edital 01/2018 – Apoio ao TCC, da PROGRAD/PROERC. A análise foi realizada de acordo com o AOCS (2003) em Cromatógrafo Gasoso Capilar - CGC *AGILENT 68650 SERIES GC SYSTEM*, com uma Coluna Capilar DB-23 *AGILENT (50% cyanopropil) methylpolysiloxane*, com dimensões: comprimento de 60m, diâmetro interno de 0,25mm, e 0,25 µm do filme. As condições de operações aplicadas foram as seguintes:

- Fluxo coluna: 1,00mL/min.;
- Velocidade linear: 24cm/s;
- Temperatura do detector: 280°C;
- Temperatura do injetor: 250°C;
- Temperatura do forno: 110°C - 5 min.; 110 - 215°C (5°C/min), 215°C - 24 min.;
- Gás de arraste: Hélio; Volume Injetado: 1,0 µL.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 ESTUDO DE CASO

Ao visitar empresas de extração de óleos, notou-se que a forma de extração varia muito, levando em conta a quantidade final necessária e a destinação do produto. Os estabelecimentos visitados fazem a extração por prensagem a frio, em maior número, algumas utilizam solventes e poucas aplicam o método com Fluidos Supercríticos. Notou-se que a maioria das empresas realiza o refino alcalino para diminuir o índice de acidez do óleo, tendo como fator principal para a escolha do método, o custo benefício deste. Foi observado, também, que o refino normalmente não se faz necessário quando o óleo é obtido de sementes recém colhidas e cujo plantio se fez em condições favoráveis de clima e temperatura, o que está de acordo com o trabalho de Silva (2017).

### 6.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO

#### 6.2.1 Extração e determinação de compostos fenólicos

Após passados os 120 minutos de armazenamento ao abrigo da luz, notou-se que apenas a amostra padrão (tubo com tampa amarela) tornou-se límpida. A amostra adquirida do óleo não refinado (O2.1) tornou-se levemente uma mistura heterogênea, com uma fase branca menos densa e uma fase azulada pouco transparente. Já a amostra obtida da extração do óleo refinado (O2.2) tornou-se uma mistura levemente azulada e um pouco mais transparente que a primeira. Tentou-se, mesmo assim, realizar a análise por espectrofotômetro ultravioleta, no entanto, devido ao fato de ambas as amostras estarem turvas, o equipamento não conseguiu fazer a leitura. Repetiu-se os experimentos, porém, os resultados continuaram os mesmos. Pesquisando-se em outras literaturas, concluiu-se que isto ocorreu pelo fato de que a centrífuga utilizada não atinge a aceleração e temperatura usadas pelos autores consultados, os quais utilizaram o padrão de 7000 g e 4°C. Com isso, acredita-se que

parte do óleo possa ter ficado na solução hidroalcoólica que continha os compostos fenólicos. No entanto, é possível notar que ambas as amostras passaram a ter uma cor azulada, como pode-se observar na Figura 1, que compara as duas amostras com o padrão. Esta coloração indica a presença de compostos fenólicos, sendo que, na solução obtida do óleo não refinado a tonalidade azul mais forte, qualitativamente, indica maior presença de compostos fenólicos quando comparada com a amostra O2.2, do óleo refinado.

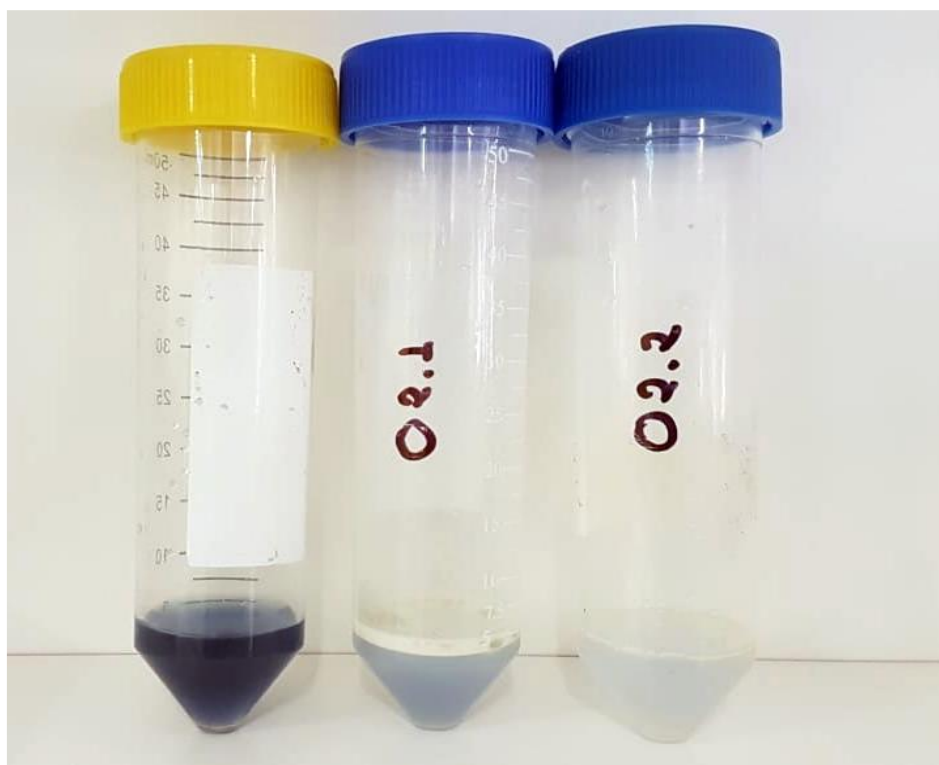


Figura 1 Análise qualitativa da concentração de compostos fenólicos

### 6.2.2 Índice de acidez

Óleo não refinado

$$IA = \frac{36,255 \times 28,2 \times 0,01}{7,1} = 1,44 \% \text{ de ácido oléico}$$

Óleo Refinado

$$IA = \frac{0,72306 \times 28,2 \times 0,01}{7,08} = 0,288 \% \text{ de ácido oleico}$$

Assim, nota-se que o refino foi eficiente para redução do índice de acidez, sendo que a amostra não refinada estava acima do limite determinado pela ANVISA de 0,3% de ácido oleico (BRASIL 1999).

### 6.2.3 Índice de peróxido

Óleo não refinado

$$\frac{(0,4 - 0,1) \times 0,1 \times 1000}{4,97} = 6,0362173 \text{ meq/1000g}$$

Óleo refinado

$$\frac{(0,7 - 0,1) \times 0,1 \times 1000}{5,043} = 11,89768 \text{ meq /1000g}$$

Ambos os valores estão dentro do limite de 15 meq/kg determinado pela ANVISA, no entanto, nota-se um significativo aumento (97%) no índice de peróxido após o refino do óleo. Este aumento pode ser justificado pelo fato de que, segundo Moraes Iguti e Correia (2015), o uso de altas temperatura catalisa a reação de rancidez oxidativa dos óleos. Além disso, segundo Marineli et al. (2015), o baixo índice de peróxido encontrado normalmente neste tipo de óleo se deve, entre outros fatores, à presença de compostos fenólicos. Analisando o IP de cada um dos óleos, é possível relacioná-lo com o resultado qualitativo da determinação destes compostos, pois a amostra com maior facilidade de oxidação foi a que apresentou coloração azul mais fraca, podendo, assim, se afirmar que o processo de refino diminui a quantidade destes compostos no óleo de *Salvia hispanica*.

#### 6.2.4 Cromatografia gasosa

A análise em cromatografia gasosa permitiu determinar o perfil dos ácidos graxos que compõe o óleo de chia. A partir dos relatórios do experimento, fornecidos pelo Laboratório de Óleos da Universidade Estadual de Campinas, os quais estão presentes nos anexos deste trabalho, foi possível calcular a porcentagem dos ácidos graxos na composição do óleo de chia. As Tabelas 5 e 6 foram adaptadas do relatório com os resultados da análise cromatográfica da amostra de óleo não refinado (amostra P732), e as Tabelas 7 e 8 apresentam os valores para o óleo refinado (amostra P733), apresentados no Anexo A deste trabalho.

Por fim, as leituras das áreas e suas respectivas percentagens permitem identificar a quantidade de cada ácido graxo. Considerando os dados das Tabelas 5, 6, 7 e 8 obteve-se a composição para as amostras, apresentada na Tabela 9, a qual compara os valores do óleo não refinado e do refinado.

**Tabela 5 Resultados da primeira análise em cromatografia gasosa do óleo não refinado**

Pico	Tempo de Retenção (min)	Largura (min)	Área (pA *s)	Altura (pA)	Área %
1	16,881	0,0332	7,31347	3,37938	0,23028
2	20,679	0,033	6,60960	3,21098	0,20812
3	22,424	0,037	0,70468	0,31721	0,02219
4	24,096	0,0342	232,73192	107,53609	7,32817
5	24,624	0,0349	3,10630	1,34508	0,09781
6	25,654	0,0348	1,68799	0,79447	0,05315
7	26,132	0,0542	1,66495	0,51215	0,05243
8	27,225	0,0381	122,55830	50,89184	3,85907
9	27,708	0,0388	242,33691	98,08426	7,63061
10	27,830	0,0384	244,45340	10,03070	0,76972
11	28,436	0,0493	7,40304	2,19490	0,23310
12	28,656	0,0424	616,99139	208,95575	19,42758
13	28,918	0,0447	2,96157	0,99575	0,09325
14	29,392	0,0457	9,03693	2,87487	0,28455
15	29,938	0,0586	1.872,40906	431,96970	58,95766
16	30,861	0,0484	10,39865	3,33057	0,32743
17	31,534	0,0509	6,05564	1,77245	0,19068
18	35,932	0,0628	3,69969	0,81690	0,11649
19	43,626	0,1101	3,73817	0,56609	0,11771
Totais			3.175,85359	929,57914	

Fonte: Adaptado do Anexo A



**Tabela 6 Resultados da segunda análise em cromatografia gasosa do óleo não refinado**

Pico	Tempo de Retenção (min)	Largura (min)	Área (pA *s)	Altura (pA)	Área %
1	16,880	0,0345	5,70811	2,61119	0,11733
2	20,677	0,0321	5,76145	2,78872	0,11842
3	22,427	0,0352	1,00215	0,473942	0,02060
4	24,103	0,0364	357,78146	158,02379	7,35392
5	24,652	0,0351	4,38656	1,95762	0,09016
6	25,655	0,0429	3,84408	1,32486	0,07901
7	26,134	0,0471	1,62796	0,576137	0,03346
8	27,235	0,0410	189,20145	71,12191	3,888889
9	27,719	0,0397	372,09698	141,62242	7,64817
10	27,835	0,0394	37,88352	15,55798	0,77864
11	28,450	0,0518	11,40135	3,10739	0,23435
12	28,672	0,0449	948,99402	292,30606	19,50584
13	28,926	0,0526	5,68662	1,55655	0,11688
14	29,401	0,0507	13,51555	4,07193	0,27780
15	29,970	0,0643	2868,94385	573,68536	58,96894
16	30,863	0,0454	15,90344	3,33057	0,32688
17	31,537	0,0523	9,18504	2,79704	0,18879
18	35,933	0,0552	5,80641	1,29882	0,11935
19	43,617	0,1224	6,44789	0,877667	0,13253
<b>Totais</b>			<b>4865,17789</b>	<b>1280,9984</b>	

Fonte: Adaptado do Anexo A

**Tabela 7 Resultados da primeira análise em cromatografia gasosa do óleo refinado**

Pico	Tempo de Retenção (min)	Largura (min)	Área (pA *s)	Altura (pA)	Área %
1	16,8790	0,0344	6,1434	2,8162	0,1688
2	20,6770	0,0311	5,7733	2,7934	0,1586
3	22,4240	0,0376	0,9856	0,4363	0,0271
4	24,0990	0,0340	287,6744	128,8721	7,9037
5	24,6240	0,0351	3,9049	1,7430	0,1073
6	25,6530	0,0344	2,2868	1,0514	0,0628
7	26,1320	0,0390	0,9224	0,3939	0,0253
8	27,2260	0,0374	146,3439	60,1896	4,0207
9	27,7110	0,0397	307,2134	116,5886	8,4405
10	27,8300	0,0398	30,2874	12,2505	0,8321
11	28,4360	0,0504	8,6852	2,4461	0,2386
12	28,6600	0,0398	704,0531	235,6964	19,3434
13	28,9170	0,0438	3,1192	1,0765	0,0857
14	29,3960	0,0475	10,2757	3,2842	0,2823
15	29,9440	0,0567	2092,6489	481,3805	57,4942
16	30,8600	0,0512	12,9088	4,0457	0,3547
17	31,5310	0,0504	6,0833	1,8023	0,1671
18	35,9280	0,0604	5,4201	1,2066	0,1489
19	43,6170	0,1120	5,0263	0,7479	0,1381
<b>Totais</b>			<b>36.939,75624</b>	<b>1.058,82105</b>	

Fonte: Adaptado do Anexo A

**Tabela 8 Resultados da segunda análise em cromatografia gasosa do óleo refinado**

Pico	Tempo de Retenção (min)	Largura (min)	Área (pA *s)	Altura (pA)	Área %
1	16,8780	0,0334	4,2706	1,9618	0,20356
2	20,6760	0,0327	4,8053	2,2719	0,22904
3	22,4240	0,0488	1,1503	0,3932	0,05483
4	24,0910	0,0337	169,4564	77,0190	8,0771
5	24,6210	0,0339	2,5734	1,2076	0,12266
6	25,6520	0,0370	1,4808	0,6668	0,07058
7	26,1300	0,0482	0,9793	0,3386	0,04668
8	27,2210	0,0359	86,0174	36,0012	4,10000
9	27,7050	0,0375	183,2657	75,0977	8,73532
10	27,8270	0,0384	17,2432	7,09345	0,82189
11	28,4240	0,0499	5,0479	1,5122	0,24061
12	28,6420	0,0407	395,5156	145,6153	18,85216
13	29,3930	0,0482	6,1640	1,98801	0,29381
14	29,9110	0,0530	1201,9934	318,48871	57,29274
15	30,8620	0,0475	7,6671	2,44886	0,36545
16	31,5350	0,0526	3,4901	1,02776	0,16635
17	35,9350	0,0757	3,1584	0,695599	0,15054
18	43,6100	0,1243	3,7066	0,496818	0,17667
Totais			2.097,98538	674,32442	

Fonte: Adaptado do Anexo A

Com os valores das Tabelas 4, 5, 6 e 7 foi possível definir a composição média de cada uma das amostras de óleo, estes valores podem ser observados na Tabela 9.

**Tabela 9 Composição dos ácidos graxos (% m/m) das amostras de óleo antes e após o refino.**

	Óleo Não Refinado	Óleo Refinado
C12:0 láurico	0,18	0,19
C14:0 mirístico	0,17	0,2
C15:0 pentadecanóico	0,02	0,04
C16:0 palmítico	7,34	7,99
C16:1 palmitoléico	0,1	0,12
C17:0 margárico	0,07	0,07
C17:1 cis-10-heptadecenóico	0,04	0,04
C18:0 esteárico	3,88	4,06
C18:1 oléico	8,41	9,42
C18:2 trans t-linoléico	0,23	0,24
C18:2 linoléico	19,46	19,09
C18:3 trans t-linolênico	0,39	0,33
C18:3 linolênico	58,94	57,37
C20:0 araquídico	0,33	0,36
C20:1 eicosenóico	0,19	0,17
C22:0 behênico	0,12	0,15
C24:0 lignocérico	0,13	0,16

Fonte: O Autor

Como pode ser observado, a variação na composição dos ácidos graxos não se mostrou tão relevante. Isto pode ser explicado por alguns fatores: segundo o trabalho de Souza (2014), a degradação do óleo a uma temperatura de 75°C acontece após duas horas, e no processo de refino esta duração varia de acordo com o índice de acidez do óleo *in natura*. Além disso, os estudos de Inácio (2017) demonstraram que o óleo pode sofrer alterações em temperaturas mais altas, no entanto, entre as temperaturas de 75°C e 110°C não foram encontradas pesquisas com este óleo, sendo então um tema para uma nova pesquisa no futuro.

## 7 CONCLUSÃO

O estudo de caso demonstrou que diversas empresas estão aplicando o método de refino alcalino, mesmo sem um estudo prévio da consequência deste na composição e nas características físico-químicas do óleo, e demonstrou que a extração por prensagem a frio é a mais utilizada.

As análises realizadas mostram que o processo de refino do óleo é eficaz na intenção de diminuir o índice de acidez do óleo. Quando se trata da composição dos ácidos graxos do Ômega 3 e Ômega 6, a queda de suas concentrações após o refino foi pouco significativa, garantindo assim, neste aspecto, a qualidade do óleo. No entanto, quando se observa o índice de peróxido, o aumento deste, que é prejudicial para a qualidade do produto, foi de aproximadamente 92%, o que pode se tornar um fator de risco, caso a oxidação continue ocorrendo, pois pode ultrapassar o limite estipulado por lei, podendo ser nocivo à saúde.

Considerando-se que a análise quantitativa de compostos fenólicos não pôde ser concluída, indica-se a busca de outro método, viável à instituição, que possa ser realizado no futuro, pois esta análise pode indicar fatores importantes sobre a oxidação do óleo.

Estando o óleo refinado dentro dos padrões exigidos pela legislação, pode-se afirmar que o processo de refino alcalino é viável, porém, pode interferir no prazo de validade do produto.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, A. C. et al. Quantificação de ácido alfa-linolênico em caules e folhas de linho (*Linum usitatissimum* L.) colhidos em diferentes estágios de desenvolvimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 6, p.1500-1506, 2010.

ALI, N. M.; YEAP, S. K.; HO, W. Y.; BEH, B. K.; TAN, S. W.; TAN, S. G. The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, Cairo, 2012, p. 1–9, 2012.

AMERICAN OIL CHEMISTS´ SOCIETY. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists` Society. 4th ed. Champaign, USA, AOCS, 1990.*

AMERICAN OIL CHEMISTS´ SOCIETY. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists` Society. 5th ed. Champaign, USA, AOCS, 2003.*

ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 3, n. 2. p. 145-154, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n. 18, de 30 de abril de 1999.** Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Brasília, 1999

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução nº 482, de 23 de setembro de 1999.** Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais. Diário Oficial da União, Brasília, publicada em 20 de junho de 2000, n. 3029.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Resolução RDC 270 de 22 de setembro de 2005.** Regulamento Técnico Para Óleos Vegetais, Gorduras

Vegetais e Creme Vegetal. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 07 de agosto. 2017.

BRASIL. **Resultado da Consulta de Produtos - Alimentos: Óleo de Chia.** 2017. Disponível em: <[http://consultas.anvisa.gov.br/#/alimentos/q/?nomeProduto=óleo de chia&categoria=4300030](http://consultas.anvisa.gov.br/#/alimentos/q/?nomeProduto=óleo%20de%20chia&categoria=4300030)>. Acesso em: 26 maio 2017.

CAPITANI, M. I. et al. *Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (Salvia hispanica L.) seeds of Argentina.* **Lwt - Food Science And Technology**, v. 45, n. 1, p.94-102, 2012.

CARVALHO, P. O. et al. Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p.75-80, 2003.

COATES, W., AYERZA, R. *Production potential of chia in northwestern Argentina.* **Industrial Crops And Products**, v. 5, n. 3, p.229-233, 1996.

DHINGRA, D. et al. *Dietary fibre in foods: a review.* **Journal Of Food Science And Technology**, v. 49, n. 3, p.255-266, 2011.

DORSA, R.; EICKHOFF, K. **Basics of Alkali Refining of Vegetable Oils.** 2004.

Disponível em:

<<http://old.iupac.org/symposia/proceedings/Tunis04/eickhoff.pdf>>. Acesso em: 28 maio 2017.

FERREIRA, T. R. B. **Caracterização nutricional e funcional da farinha de chia (Salvia hispanica) e sua aplicação no desenvolvimento de pães.** 2013.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

FIGUEIREDO, R. C. et al. Obesidade e sua relação com fatores de risco para doenças cardiovasculares em uma população nipo-brasileira. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 9, p.1474-1481, 2008.

GAMBACORTA, G. et al. *Effects of Olive Maturation and Stoning on Quality Indices and Antioxidant Content of Extra Virgin Oils (cv. Coratina) during Storage*. **Journal Of Food Science**, v. 75, n. 3, p.229-235, abr. 2010. Wiley-Blackwell.

GRANATO, D.; NUNES, Domingos. **Análises Químicas, Propriedades Funcionais e Controle de Qualidade de Alimentos e Bebidas: Uma Abordagem Teórico-Prática**. Elsevier, 2016. 576 p.

GÖKMEN, V. et al. *Development of functional bread containing nanoencapsulated omega-3 fatty acids*. **Journal Of Food Engineering**, v. 105, n. 4, p.585-591, 2011.

GUINDANI, C.; PODESTÁ, R. ; BLOCK, J. M. ; ROSSI, M. J. ; MEZZOMO, N. ; FERREIRA, S. R. S. Valorization of chia (*Salvia hispanica*) seed cake by means of supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids** , v. 112, p. 67-75, 2016.

ILLIAN, T. G; CASEY, J. C. ; A BISHOP, P. *Omega 3 Chia Seed Loading as a Means of Carbohydrate Loading*. **Journal Of Strength And Conditioning Research**, v. 25, n. 1, p.61-65, 2011.

INÁCIO, A. G. **AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE CHIA MICROENCAPSULADO**. 2017. 51 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Parnaá, Campo Mourão, 2017.

IXTAINA, V. Y. et al. *Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction*. **Journal Of Food Composition And Analysis**, v. 24, n. 2, p.166-174, 2011.

IXTAINA, V. Y.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. *Oxidative Stability of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Oil: Effect of Antioxidants and Storage Conditions*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, n. 6, p. 1077–1090, 2012.

JEONG, S. K. et al. *Effectiveness of Topical Chia Seed Oil on Pruritus of End-stage Renal Disease (ESRD) Patients and Healthy Volunteers*. **Annals Of Dermatology**, v. 22, n. 2, p.143-148, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Óleos E Gorduras. **Métodos Físicos-Químicos Para Análise de Alimentos**, 589–625, 2008

MARINELI, Rafaela da Silva et al. *Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (Salvia hispanica L.)*. **Lwt - Food Science And Technology**, v. 59, n. 2, p.1304-1310, 2014.

MARINELI, R. S. et al. **CHIA (SALVIA HISPANICA L.):** composição, propriedades tecnológicas e seus efeitos na saúde. Campinas: Novas Edições Acadêmicas, 2015. 82 p.

MARTIN, C. A. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p.761-770, 2006.

MARTÍNEZ, M. L. et al. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. **Lwt - Food Science And Technology**, v. 47, n. 1, p.78-82, 2012.

MILINSK, M. C. et al. *Comparative analysis of eight esterification methods in the quantitative determination of vegetable oil fatty acid methyl esters (FAME)*. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 8, p.1475-1483, 2008.

MONTEDORO, G. et al. *Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC*. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 40, n. 9, p.1571-1576, 1992.



MORAES, M. C. ; IGUTI, A. M. ; CORREIA, J. F. AVALIAÇÃO DO ÓLEO DE SOJA SUBMETIDO AO PROCESSO DE FRITURA DE BATATAS CONGELADAS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 15., 2015, Ribeirão Preto. **Anais do Conic-Semesp**. Ribeirão Preto: 2015. v. 3. Disponível em: <<http://conic-semesp.org.br/anais/anais-conic.php?ano=2015&idautor=43387564899&act=pesquisar>>. Acesso em: 09 out. 2018.

MUSTAFA, A. ; TURNER, C. *Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review*. **Analytica Chimica Acta**, v. 703, n. 1, p.8-18, 2011.

OLIVOS-LUGO, B. L.; VALDIVIA-LOPEZ, M. A.; TECANTE, A.. *Thermal and Physicochemical Properties and Nutritional Value of the Protein Fraction of Mexican Chia Seed (Salvia hispanica L.)*. **Food Science And Technology International**, v. 16, n. 1, p.89-96, 2010.

RIPKE, V. ; PALEZI, S.; NOBRE, L. Estudo da oxidação lipídica em óleos de sementes de chia obtidos por diferentes métodos de extração. **Unoesc & Ciência - ACET**, v. 7, n. 1, p. 69-76, 2016.

PIGHINELLI, Anna Leticia Montenegro Turtelli et al. Otimização da prensagem a frio de grãos de amendoim em prensa contínua tipo *expeller*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p.66-71, 2008.

RENDÓN-VILLALOBOS, R. et al. *Formulation, Physicochemical , Nutritional and Sensorial Evaluation of Corn Tortillas Supplemented with Chia Seed (Salvia hispanica L.)*. **Czech Journal Of Food Sciences**, Praga, v. 2, n. 30, p.118-125, 2012.

REYES-CAUDILLO, E.; TECANTE, A.; VALDIVIA-LÓPEZ, M.a.. *Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (Salvia hispanica L.) seeds*. **Food Chemistry**, v. 107, n. 2, p.656-663, 2008.

SANKHLA, M. et al. *The Ominous Link between Obesity and Abdominal Adiposity with Diabetes and Diabetic Dyslipidemia in Diabetic Population of Developing Country*. **Clinical Laboratory**, v. 59, n. 0102/2013, p.155-161, 2013.

SEGURA-CAMPOS, M. R. et al. *Physicochemical characterization of chia (Salvia hispanica) seed oil from Yucatán, México*. **Agricultural Sciences**, v. 05, n. 03, p.220-226, 2014. Scientific Research Publishing, Inc.,

SILVA, B. P. et al. *Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places*. **Food Chemistry**, v. 221, p.1709-1716, 2017.

SILVA, N. K. et al. Obtenção e caracterização de óleo de semente de romã (*Punica granatum*) por prensagem a frio. em: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 19., 2012. **Anais...** Búzios, 2012.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J. A. Jr. *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.16, n.3, p.144-158, 1965.

SOUZA, A. L. et al. **Avaliação da estabilidade termo-oxidativa do óleo de chia (Salvia hispanica L.) através de RMN de <sup>1</sup>H**. Em: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 37., 2014, Natal. Anais. 2014.

SOUZA, M. F. **PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE CHIA ENCAPSULADO EM PARTÍCULAS DE ÁCIDO ESTEÁRICO**. 2014. 32 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

ZELDENRUST, R. S. **Alkali Refining: Edible Oil Processing**. 2012. Disponível em: <<http://lipidlibrary.aocs.org/OilsFats/content.cfm?ItemNumber=40319>>. Acesso em: 28 maio 2017.

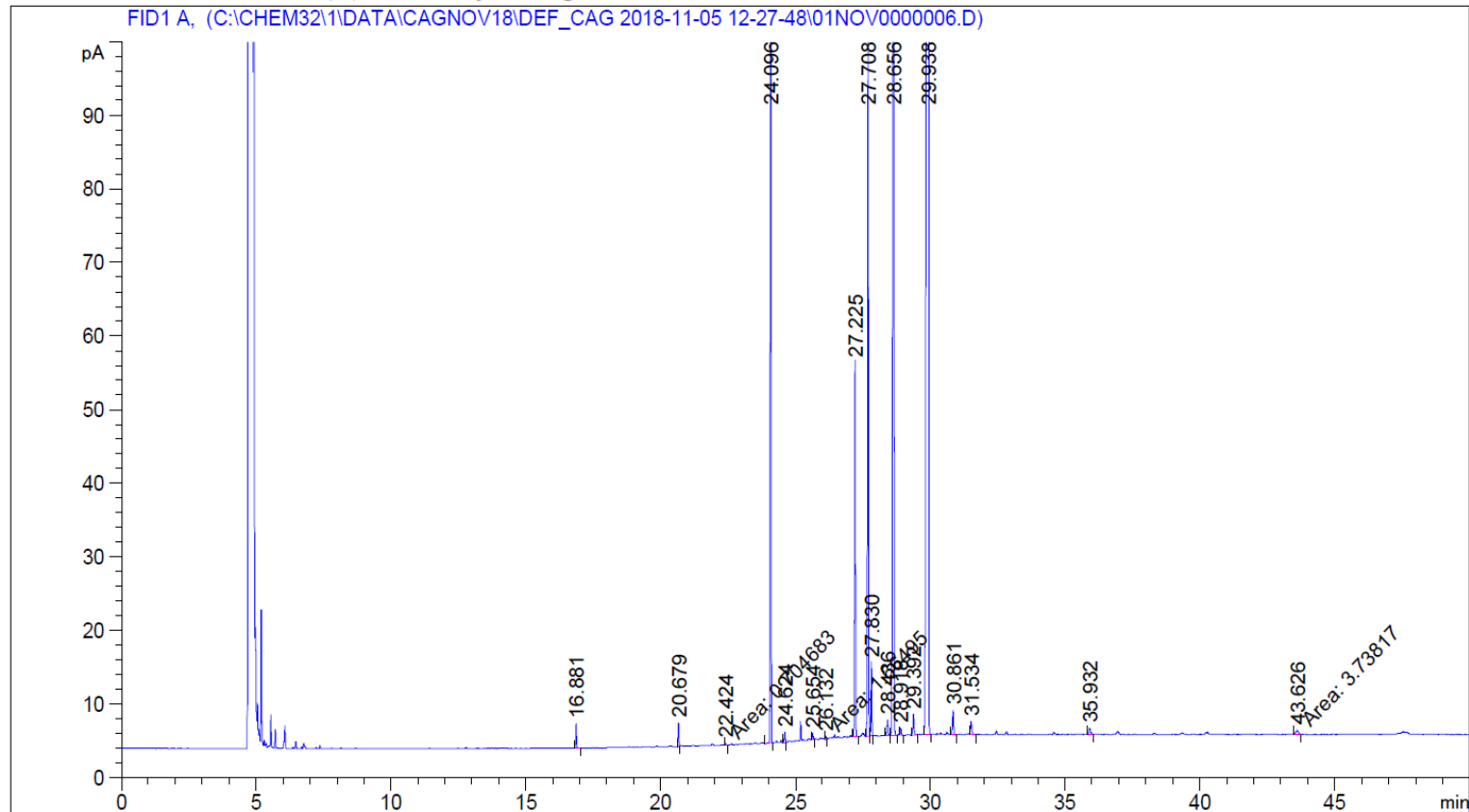
**ANEXO A** - Resultados da análise em cromatografia gasosa das amostras de óleo de chia fornecidos pelo Laboratório de Óleos da Unicamp

Sample Name: P 732 - 1

```

=====
Acq. Operator   : SISTEMA                               Seq. Line :    6
Acq. Instrument : Instrumento 1                         Location  :    5
Injection Date  : 05/11/2018 16:57:42                 Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl
Acq. Method    : C:\Chem32\1\Data\CAGNOV18\def_CAG 2018-11-05 12-27-48\CAG.M
Last changed   : 05/11/2018 12:27:48 by SISTEMA
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAGm.M
Last changed   : 21/08/2018 18:59:24 by SISTEMA
Method Info    : CAG
    
```

Additional Info : Peak(s) manually integrated



Area Percent Report

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	16.881	BB	0.0332	7.31347	3.37938	0.23028
2	20.679	BB	0.0330	6.60960	3.21098	0.20812
3	22.424	MM	0.0370	7.04683e-1	3.17205e-1	0.02219
4	24.096	BB	0.0342	232.73192	107.53609	7.32817
5	24.624	BB	0.0349	3.10630	1.34508	0.09781
6	25.654	BB	0.0348	1.68799	7.94470e-1	0.05315

Sample Name: P 732 - 1

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
7	26.132	MM	0.0542	1.66495	5.12152e-1	0.05243
8	27.225	BB	0.0381	122.55830	50.89184	3.85907
9	27.708	BV	0.0388	242.33691	98.08426	7.63061
10	27.830	VB	0.0384	24.44534	10.03070	0.76972
11	28.436	BB	0.0493	7.40304	2.19490	0.23310
12	28.656	BB	0.0424	616.99139	208.95575	19.42758
13	28.918	BB	0.0447	2.96157	9.95753e-1	0.09325
14	29.392	BB	0.0457	9.03693	2.87487	0.28455
15	29.938	BB	0.0586	1872.40906	431.96970	58.95766
16	30.861	BB	0.0484	10.39865	3.33057	0.32743
17	31.534	BB	0.0509	6.05564	1.77245	0.19068
18	35.932	BB	0.0628	3.69969	8.16902e-1	0.11649
19	43.626	MM	0.1101	3.73817	5.66087e-1	0.11771

Totals :                                   3175.85359   929.57914

=====  
\*\*\* End of Report \*\*\*

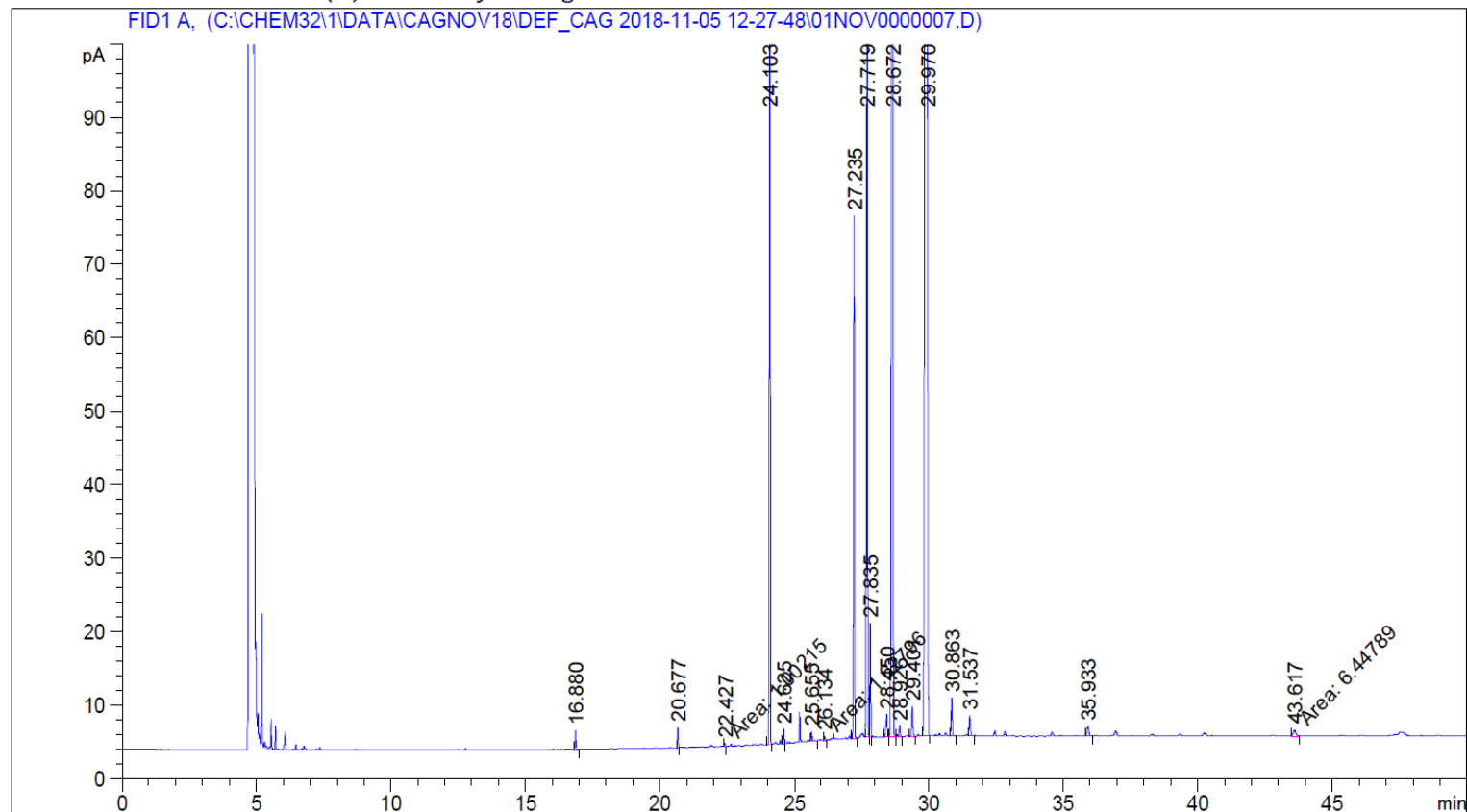
Sample Name: P 732 - 2

```

=====
Acq. Operator   : SISTEMA                               Seq. Line :    7
Acq. Instrument : Instrumento 1                         Location  :    6
Injection Date  : 05/11/2018 17:51:24                Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\Chem32\1\Data\CAGNOV18\def_CAG 2018-11-05 12-27-48\CAG.M
Last changed   : 05/11/2018 12:27:48 by SISTEMA
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAGm.M
Last changed   : 21/08/2018 18:59:24 by SISTEMA
Method Info    : CAG
  
```

Additional Info : Peak(s) manually integrated



```

=====
                          Area Percent Report
=====
  
```

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	16.880	BB	0.0345	5.70811	2.61119	0.11733
2	20.677	BB	0.0321	5.76145	2.78872	0.11842
3	22.427	MM	0.0352	1.00215	4.73942e-1	0.02060
4	24.103	BB	0.0364	357.78146	158.02379	7.35392
5	24.625	BB	0.0351	4.38656	1.95762	0.09016
6	25.655	BB	0.0429	3.84408	1.32486	0.07901

Sample Name: P 732 - 2

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
7	26.134	MM	0.0471	1.62796	5.76137e-1	0.03346
8	27.235	BB	0.0410	189.20145	71.12191	3.88889
9	27.719	BV	0.0397	372.09698	141.62242	7.64817
10	27.835	VB	0.0394	37.88352	15.55798	0.77867
11	28.450	BB	0.0518	11.40135	3.10739	0.23435
12	28.672	BB	0.0449	948.99402	292.30606	19.50584
13	28.926	BB	0.0526	5.68662	1.55655	0.11688
14	29.401	BB	0.0507	13.51555	4.07193	0.27780
15	29.970	BB	0.0643	2868.94385	573.68536	58.96894
16	30.863	BB	0.0454	15.90344	5.23876	0.32688
17	31.537	BB	0.0523	9.18504	2.79704	0.18879
18	35.933	BB	0.0552	5.80641	1.29882	0.11935
19	43.617	MM	0.1224	6.44789	8.77667e-1	0.13253

Totals :                           4865.17789 1280.99814

=====  
\*\*\* End of Report \*\*\*

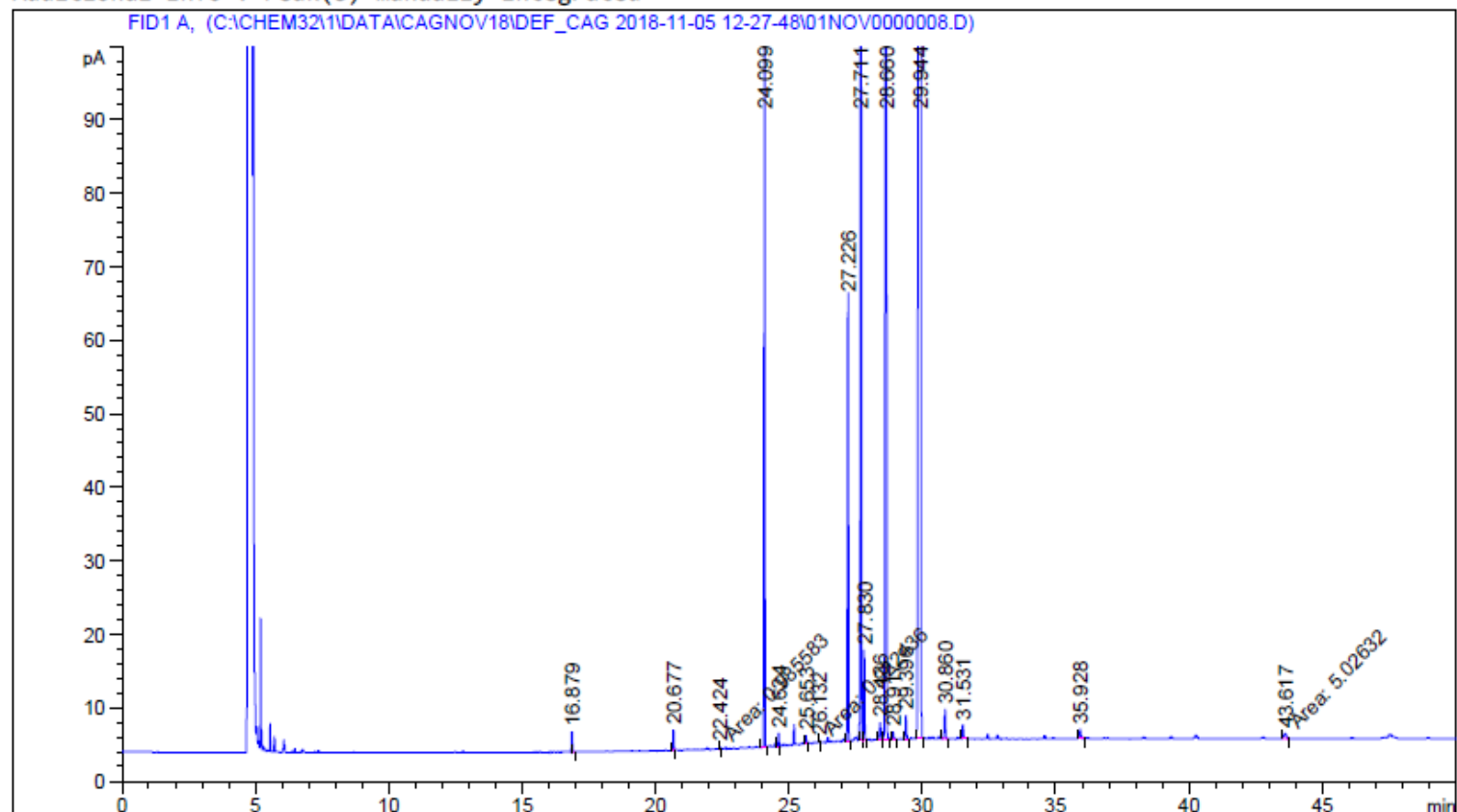
Sample Name: P 733 - 1

```

=====
Acq. Operator   : SISTEMA                               Seq. Line :    8
Acq. Instrument : Instrumento 1                          Location  :    7
Injection Date  : 05/11/2018 18:45:10                 Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\Chem32\1\Data\CAGNOV18\def_CAG 2018-11-05 12-27-48\CAG.M
Last changed   : 05/11/2018 12:27:48 by SISTEMA
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAGm.M
Last changed   : 21/08/2018 18:59:24 by SISTEMA
Method Info    : CAG
  
```

Additional Info : Peak(s) manually integrated



```

=====
                          Area Percent Report
=====
  
```

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	16.879	BB	0.0344	6.14340	2.81623	0.16879
2	20.677	BB	0.0311	5.77329	2.79340	0.15862
3	22.424	MM	0.0376	9.85583e-1	4.36308e-1	0.02708
4	24.099	BB	0.0340	287.67444	128.87210	7.90367
5	24.624	BB	0.0351	3.90490	1.74302	0.10728
6	25.653	BB	0.0344	2.28682	1.05142	0.06283



Sample Name: P 733 - 1

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
7	26.132	MM	0.0390	9.22436e-1	3.93883e-1	0.02534
8	27.226	BB	0.0374	146.34390	60.18961	4.02071
9	27.711	BV	0.0397	307.21338	116.58856	8.44049
10	27.830	VB	0.0398	30.28740	12.25049	0.83213
11	28.436	BB	0.0504	8.68523	2.44614	0.23862
12	28.660	BB	0.0398	704.05310	235.69641	19.34341
13	28.917	BB	0.0438	3.11922	1.07650	0.08570
14	29.396	BB	0.0475	10.27565	3.28416	0.28232
15	29.944	BB	0.0567	2092.64893	481.38046	57.49421
16	30.860	BB	0.0512	12.90880	4.04566	0.35466
17	31.531	BB	0.0504	6.08332	1.80226	0.16714
18	35.928	BB	0.0604	5.42013	1.20656	0.14891
19	43.617	MM	0.1120	5.02632	7.47869e-1	0.13810

Totals : 3639.75624 1058.82105

=====  
\*\*\* End of Report \*\*\*

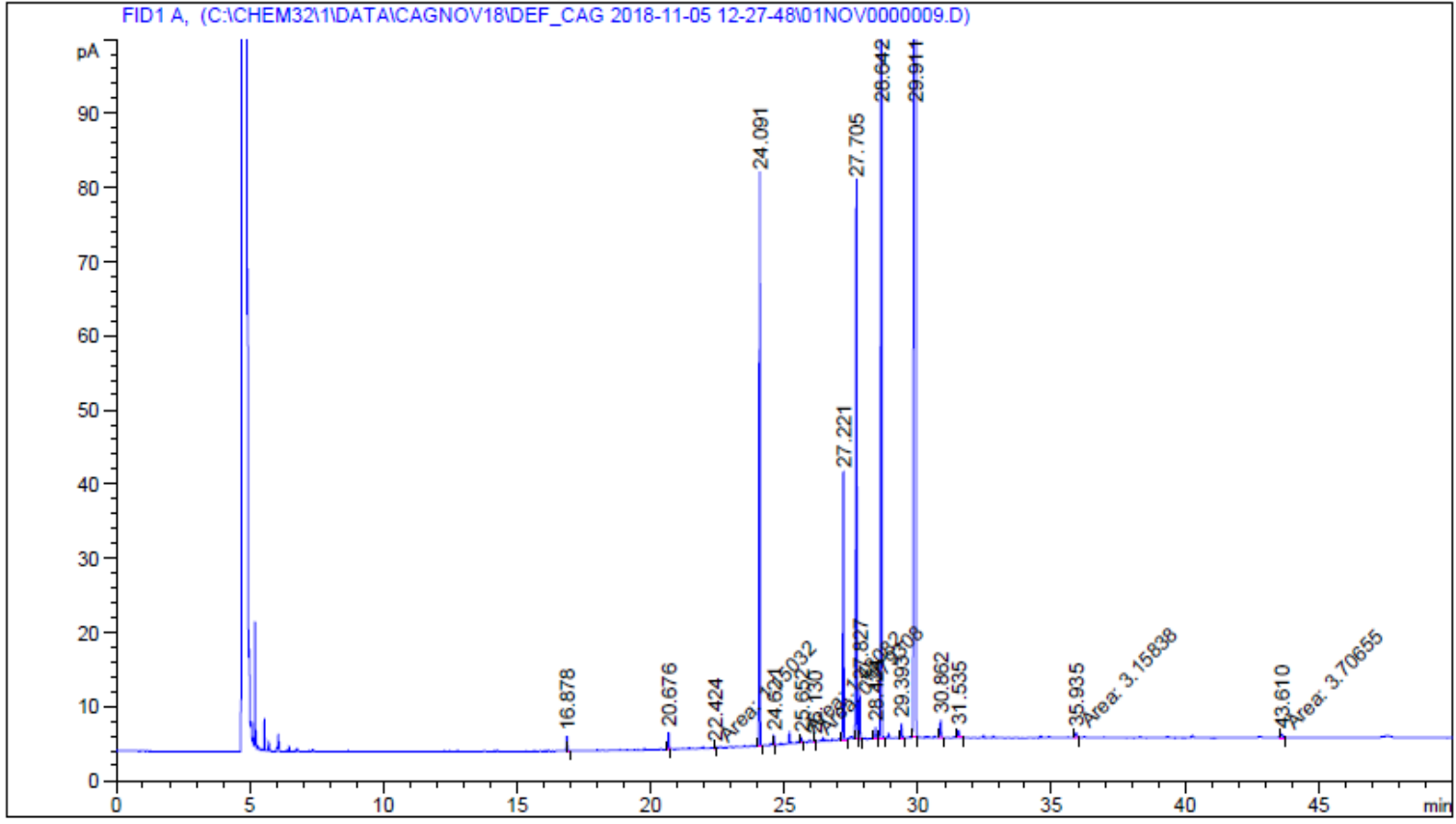
Sample Name: P 733 - 2

```

=====
Acq. Operator   : SISTEMA                               Seq. Line :    9
Acq. Instrument : Instrumento 1                         Location  :    8
Injection Date  : 05/11/2018 19:38:50                Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method     : C:\Chem32\1\Data\CAGNOV18\def_CAG 2018-11-05 12-27-48\CAG.M
Last changed    : 05/11/2018 12:27:48 by SISTEMA
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAGm.M
Last changed    : 21/08/2018 18:59:24 by SISTEMA
Method Info     : CAG
    
```

Additional Info : Peak(s) manually integrated



Area Percent Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	16.878	BB	0.0334	4.27056	1.96181	0.20356
2	20.676	BB	0.0327	4.80529	2.27188	0.22904
3	22.424	MM	0.0488	1.15032	3.93155e-1	0.05483
4	24.091	BB	0.0337	169.45644	77.01897	8.07710
5	24.621	BB	0.0339	2.57342	1.20764	0.12266
6	25.652	MM	0.0370	1.48082	6.66780e-1	0.07058

Sample Name: P 733 - 2

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
7	26.130	MM	0.0482	9.79308e-1	3.38583e-1	0.04668
8	27.221	BB	0.0359	86.01737	36.00118	4.10000
9	27.705	BV	0.0375	183.26567	75.09770	8.73532
10	27.827	VB	0.0384	17.24319	7.09345	0.82189
11	28.424	BB	0.0499	5.04786	1.51220	0.24061
12	28.642	BB	0.0407	395.51556	145.61530	18.85216
13	29.393	BB	0.0482	6.16401	1.98801	0.29381
14	29.911	BB	0.0530	1201.99341	318.48871	57.29274
15	30.862	BB	0.0475	7.66712	2.44886	0.36545
16	31.535	BB	0.0526	3.49008	1.02776	0.16635
17	35.935	MM	0.0757	3.15838	6.95599e-1	0.15054
18	43.610	MM	0.1243	3.70655	4.96818e-1	0.17667

Totals :                    2097.98538   674.32442

=====  
\*\*\* End of Report \*\*\*