

Coleta e envio de amostras para análise de produtos florestais não madeireiros oleaginosos

Andiroba, castanha-da-amazônia e copaíba

Laura Figueiredo Abreu

Introdução

No âmbito da Rede Kamukaia, sementes e óleos de diferentes localidades da região amazônica foram avaliados quanto às suas características físico-químicas e qualidade oxidativa, respectivamente. Contudo, por serem amostras perecíveis e coletadas em unidades de conservação ou parcelas permanentes, seu envio para o laboratório demandou uma logística diferenciada, tendo em vista as grandes distâncias, a dificuldade de acesso e a ausência de serviços como rede elétrica, o saneamento entre outros. Esses fatores normalmente exigem um procedimento prévio de amostragem e armazenamento no campo. Contudo, se eles não forem conduzidos adequadamente, o analito de interesse pode ter suas concentrações e características alteradas, causando desvios nos resultados de análise (KRUG, 2008).

Nesse capítulo, será apresentado um protocolo com orientações para coleta, armazenamento e envio de amostras de produtos florestais não madeireiros (PFNMs) de oleaginosas, que se destinam à realização de análises físico-químicas de caracterização, bem como uma breve abordagem sobre problemas de conservação de amostras de origem vegetal e análises de laboratório.

Esse protocolo foi desenvolvido e validado a partir dos experimentos com três PFMNs, provenientes de espécies oleaginosas bastante estudadas pela Rede Kamukaia: a andiroba, a castanha-da-amazônia e a copaíba. A obtenção de índices de oxidação significativamente abaixo dos limites estabelecidos pela legislação vigente (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2005) confirmou que os protocolos, quando devidamente aplicados no campo, são eficientes na manutenção da qualidade de sementes oleaginosas para fins analíticos.

Essas três espécies fornecem produtos oleaginosos com usos diversificados, que atendem tanto aos mercados cosmético e farmacêutico quanto ao alimentício e de combustível (MORAIS; GUTJAHR, 2009; SHANLEY; MEDINA, 2005). Dependendo do objetivo de sua utilização, existem exigências específicas de qualidade e, conseqüentemente, diferentes formas de conservação e avaliação.

Da semente de andiroba obtém-se um dos óleos medicinais mais vendidos na Amazônia. Esse óleo é considerado anti-inflamatório, cicatrizante e repelente de insetos, em razão de um grupo de substâncias denominadas limonoides. Antigamente, também foi muito utilizado como combustível para lâmparas e em movelaria.

As sementes de andiroba são coletadas no solo ou na margem de rios, sendo submetidas a altas cargas de contaminação, umidade e calor, além de serem atacadas por insetos e predadores, resultando constantemente em perdas de qualidade e produtividade. O óleo é obtido de forma artesanal, por cozimento e escoamento por gravidade, ou industrialmente por prensagem. Existem diferenças significativas entre os óleos obtidos por esses dois tipos de processos, principalmente, em relação ao seu índice de acidez. Já em termos de atividade química ou biológica, ainda não existem evidências comprovadas sobre essa diferença.

A castanha-da-amazônia atende principalmente ao setor alimentício e, em menor escala, à indústria cosmética, em virtude das propriedades antioxidantes e hidratantes do seu óleo. É um dos produtos mais tradicionais no extrativismo, com etapas de coleta e beneficiamento bem definidas e de escala variável, contudo, nem sempre eficientes. As longas distâncias para transporte no campo e a época chuvosa submetem as sementes a condições de umidade e temperaturas elevadas, bem como à contaminação por microrganismos do solo. Em razão disso, ainda são frequentes os problemas de deterioração de amêndoas e contaminação por fungos como o *Aspergillus*, que levam à produção de aflatoxinas (SANTOS et al., 2001).

O produto obtido da copaíba é um oleorresina extraído artesanalmente do tronco da copaibeira e muito utilizado nos setores cosmético e farmacêutico. Como o nome indica, o oleorresina é composto por uma fração resinosa, composta por ácidos diterpênicos, e outra de óleo essencial, rico em sesquiterpenos. É considerado bactericida, anti-inflamatório e cicatrizante, e seu óleo essencial é um excelente fixador de perfumes. Chama atenção a visível diferença de cor e consistência entre oleorresinas de diferentes espécies de *Copaifera*, bem como na composição química de seus óleos essenciais. Estudos também revelam que, em períodos distintos de extração, essas diferenças são observadas em óleos obtidos do mesmo indivíduo, sugerindo interferências fisiológicas, ambientais e de manejo (RIGAMONTE-AZEVEDO et al., 2004).

Dessa forma, as amêndoas de andiroba e castanha-da-amazônia devem ser preservadas principalmente quanto à degradação da sua fração lipídica. Pois, para incorporação em produtos cosméticos e farmacêuticos, precisam de estabilidade durante longos períodos de armazenamento. E, quando se trata de uso alimentício, deve-se ter em mente que a oxidação lipídica é facilmente detectada sensorialmente. Já, o oleorresina de copaíba, apesar de ser denominado de óleo, não possui ácidos graxos em sua composição, por isso não está tão susceptível a esse tipo de degradação como a castanha e a andiroba (MENDONÇA; FERRAZ, 2007).

Conceitos básicos sobre alterações microbiológicas, físicas e químicas de produtos de origem vegetal

Produtos de origem vegetal são perecíveis e estão sujeitos a diferentes tipos de alterações microbiológicas, químicas e físicas.

Microrganismos provenientes do solo, do ar, da água e de organismos vivos (animais e humanos) podem contaminar uma amostra causando alterações químicas importantes nos seus componentes principais, como os carboidratos, as proteínas e os lipídios. Essas alterações podem resultar na formação de ácidos e álcoois a partir de carboidratos; peptídios, aminoácidos e aminas biogênicas, a partir da hidrólise de proteínas; e de ácidos graxos livres, a partir de lipídios hidrolizados por enzimas. Dentre as alterações químicas, podem-se citar a oxidação de lipídios, o escurecimento enzimático e não enzimático. As mudanças de cor e textura são os fatores mais importantes de alteração física (AZEREDO, 2004).

No contexto dos PFNMs oleaginosos, pode-se considerar que a deterioração lipídica é a mais crítica. Ela pode ocorrer por dois tipos de reações: hidrolíticas e oxidativas. As reações hidrolíticas ocorrem principalmente por causa da ação de enzimas chamadas lipases, causando a liberação de ácidos graxos livres. As reações oxidativas representam uma sequência complexa de alterações químicas resultantes da interação dos lipídios com o oxigênio, envolvendo a ação de radicais livres, principalmente, hidroperóxidos. Ocorrem em três etapas denominadas de indução, propagação e terminação. Para a fase de coleta e armazenamento de PFNMs oleaginosos, a etapa de indução é a mais crítica, pois marca o início da formação de radicais livres (GUNSTONE; PADLEY, 1997; HILDER, 1997).

Essas alterações podem ser maximizadas tanto pela constituição da matéria-prima em questão, chamados de fatores intrínsecos, quanto pela ação de fatores ambientais, ou fatores extrínsecos. O tipo de ácido graxo predominante em uma amostra é um dos fatores intrínsecos mais importantes. Óleos ricos em insaturações (duplas ligações) são mais susceptíveis à oxidação do que os saturados (gorduras). Os fatores extrínsecos mais comuns são umidade, temperatura, incidência de luz e catalisadores de reação como alguns metais (HILDER, 1997).

Evitando-se, portanto, esses fatores nas etapas de coleta e durante o armazenamento, a oxidação lipídica será dificultada, e, conseqüentemente, a oxidação ocorrerá em velocidade bem reduzida.

Índices de avaliação

As análises mais utilizadas para a determinação preliminar da qualidade de óleos e produtos oleaginosos são as que determinam as suas taxas de oxidação. O início desse

processo é marcado pela quebra dos ácidos graxos, resultando em ácidos livres e aumento da acidez. Já a formação de peróxido de hidrogênio, ocorre a partir da reação do lipídio com o oxigênio do meio. Os produtos desses processos geralmente são determinados pela medição dos chamados índices de acidez e peróxidos (AMERICAN OIL CHEMIST SOCIETY, 1989; GUNSTONE, 2004; LUTRIA, 2004).

O índice de acidez é um dos índices de qualidade de óleos e gorduras que determina o teor de ácidos livres neles. É definido como a quantidade de hidróxido de potássio, em miligramas (mg), que é necessária para neutralizar os ácidos livres presentes em 1 g de óleo ou gordura (mgKOH g^{-1}). A amostra é dissolvida em solvente adequado, e os ácidos presentes são titulados com hidróxido de potássio.

O índice de peróxido é a medida da quantidade de oxigênio quimicamente ligado a um óleo ou gordura na forma de peróxidos, particularmente hidroperóxidos. É um dos parâmetros utilizados para avaliar o grau de oxidação, e aplicável a todos os óleos e gorduras. É definido como o número de miliequivalentes de oxigênio ativo por quilograma de gordura (mEq kg^{-1}). Essa metodologia baseia-se na reação da amostra com iodeto de potássio em uma mistura de clorofórmio e ácido acético glacial, em que o iodo formado pelos peróxidos é determinado por titulação com tiosulfato de sódio.

Recomendações para o controle de alterações durante o armazenamento

Algumas medidas simples podem ser tomadas para retardar ou evitar a ação de agentes internos e externos de deterioração sobre os PFNMs e que podem preservar suas características naturais para posterior avaliação em laboratório. Dentre elas estão a redução do oxigênio circundante, a redução ou eliminação de microrganismos deterioradores, a redução da umidade e o abrigo da luz. Essas ações podem ser conseguidas com auxílio de: processos de coleta que evitem o contato da matéria-prima com superfícies contaminadas; uso de agentes sanificantes; processos de secagem; e uso de sistemas de embalagem com baixa permeabilidade ao oxigênio, à umidade e à radiação ultravioleta.

A seguir estão resumidas algumas recomendações em termos de coleta, pré-tratamento, embalagem, armazenamento e transporte (GUNSTONE; PADLEY, 1997; JOYCE, 1993; O'BRIEN et al., 2000;).

Coleta

Para a coleta de sementes, devem ser evitadas altas variações de umidade, como, por exemplo, misturar sementes secas com úmidas, bem como o contato com superfícies

contaminadas de solo, recipientes e sacos com resíduos de coletas anteriores. Os utensílios de coleta (cestos, caixas, sacos de rafia e outros) devem ser higienizados e secos após cada atividade de coleta, evitando-se assim proliferação de fungos e contaminação cruzada entre coletas.

Danos físicos, como cortes, rachaduras e esmagamentos, devem ser evitados, para que não haja exposição das sementes ao oxigênio do ar e ativação de enzimas que iniciam os processos de oxidação.

No caso de coleta de oleorresina, deve-se evitar contaminação por sujidades externas como restos de madeira da árvore, folhas, terra, insetos e outros.

Em razão dos indícios de diferentes propriedades tecnológicas e medicinais relacionadas à espécie de *Copaifera*, o oleorresina deve ser coletado separadamente por árvore.

Pré-tratamento

Durante longos períodos no campo, as amostras de sementes a serem enviadas ao laboratório devem ser limpas e secas logo após a coleta. Sementes cobertas de lama devem ser lavadas e colocadas para secar. Essa secagem pode ser feita estendendo-se as sementes em lona plástica ao sol com revolvimentos periódicos durante três dias ou até percepção de que a casca esteja seca, ou em estufa a temperaturas entre 40 °C e 60 °C, por pelo menos 5 horas.

Embalagem para sementes, óleo e oleorresina

Uma das formas mais simples e eficazes de conservar um PFNM no campo é com o auxílio de diferentes sistemas de embalagem.

Materiais como sacos plásticos e baldes com tampa são eficazes contra a absorção de umidade, desde que o excesso de umidade tenha sido retirado no pré-tratamento, pois, caso contrário, ocorrerá um acúmulo de umidade na parte interna da embalagem, propiciando a proliferação de fungos e bactérias. São fabricados em resinas de polietileno de baixa ou de alta densidade (PEBD e Pead), ou polipropileno (PP), que apresentam alta barreira contra a umidade. Para o armazenamento de amostras úmidas, recomenda-se o uso de embalagens permeáveis ou semipermeáveis como sacos de rafia ou de tecido não tecido de polipropileno (TNT), permitindo, assim, que o excesso de umidade permeie pela embalagem evitando o abafamento. A manutenção dessas amostras úmidas em ambiente de ar condicionado ocasiona a evaporação do excesso de água da superfície das sementes.

Caixas de papelão, folhas de alumínio, garrafas escuras e opacas (para óleos) e sacos metalizados auxiliam na proteção de amostras contra a incidência de luz ultravioleta.

As embalagens para armazenamento de óleos e oleorresinas devem ser preferencialmente novas, ou devidamente higienizadas, e preenchidas na totalidade para evitar a ação do oxigênio residual do *headspace*.

Apesar da ausência de comprovação científica, durante o armazenamento, observa-se que o oleorresina de copaíba tem uma composição química capaz de interagir com embalagens plásticas, causando sua deformação e conseqüente vazamento dele. Dessa forma, recomenda-se o armazenamento em embalagens de vidro com tampas metálicas e sem selos de vedação (poliméricos). Contudo, as embalagens plásticas são mais práticas para o transporte no campo durante a etapa de coleta, não devendo exceder uma semana de armazenamento.

Armazenamento e transporte

O período de armazenamento e transporte de amostras para envio ao laboratório deve ocorrer com a maior brevidade possível, ou mantê-las sob resfriamento ou congelamento. Contudo, como nem sempre isso é possível, o principal cuidado é o de evitar altas temperaturas e umidade.

No caso de óleos, a incidência de radiação ultravioleta é um fator significativo para a oxidação, necessitando-se, assim, que o armazenamento seja em locais escuros (armários fechados, por exemplo).

Protocolos de coleta, pré-tratamento, embalagem, armazenamento e transporte

A equipe da Rede Kamukaia utiliza protocolos para envio de amostras de sementes de andiroba e castanha-da-amazônia e de óleo e oleorresina ao laboratório de análises químicas. As amostras utilizadas na validação desse protocolo destinaram-se à determinação de suas características físico-químicas em termos de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, fibra detergente ácido (FDA) e carboidratos, e qualidade oxidativa, a partir dos seus índices de acidez e de peróxidos.

Os procedimentos foram delineados de forma a garantir a maior representatividade possível das amostras, a quantidade mínima de material a ser enviado, os cuidados antes da embalagem e durante o armazenamento e envio.



Protocolo para envio de sementes de andiroba e castanha-da-amazônia

Forma de coleta: Coletar sementes de, pelo menos, dez árvores e homogeneizar, retirando uma amostra para o envio.

Quantidade mínima: 2 kg do total homogeneizado.

Preparo da amostra: Enviar sementes úmidas somente se mantidas sob congelamento. Caso contrário, secar as amostras. No campo, a secagem pode ser feita sobre lonas plásticas, por exposição ao calor do sol, com revolvimentos periódicos por cerca de três dias. E, no laboratório, com auxílio de estufa com circulação de ar a 50 °C, por 5 horas.

Armazenamento: Sementes úmidas devem permanecer embaladas em sacos plásticos (PEBD) e sob congelamento. Amostras secas devem ser mantidas em embalagens abertas ou permeáveis (ráfia ou TNT) e em ambiente com baixa umidade, como salas com ar condicionado ou dessecadores. O tempo de armazenamento para envio deve ser o menor possível.

Embalagem de transporte: Embalar imediatamente antes do envio. Acondicionar as amêndoas secas em saco de ráfia (polipropileno trançado) ou TNT e colocar dentro de caixa de papelão e lacrar.

Amostras congeladas devem ser embaladas em sacos plásticos (PEBD) e mantidas em caixas de isopor com auxílio de bolsas térmicas, durante todo o transporte. Etiquetar as amostras com um código de identificação.

Transporte: O período de transporte das amostras não deve exceder uma semana.

Protocolo para envio de óleo de andiroba e oleorresina de copaíba

Forma de coleta: Coletar de tal forma que evite a presença de sujidades no óleo.

Quantidade mínima: 200 mL. É importante que o frasco a ser utilizado seja totalmente preenchido pelo óleo ou oleorresina, evitando-se espaços vazios (headspace).

Preparo da amostra: Caso haja a presença de sujidades como folhas, pedra e outros, realizar filtração em peneira, saco de pano (malha grossa) ou gaze.

Armazenamento: As amostras devem ser mantidas embaladas em temperatura ambiente ou sob refrigeração, e ao abrigo da luz. O tempo de armazenamento para envio deve ser o menor possível. Se o oleorresina for armazenado em embalagens plásticas, não pode exceder uma semana.

Embalagem de transporte: Garrafas de vidro, com batoque e tampa sem *liner*.

Se for vidro transparente ou âmbar, envolver a garrafa totalmente em folha de alumínio ou jornal.

No caso do oleorresina de copaíba, evitar garrafas de boca pequena, preferir potes com tampas metálicas de pressão (sem rosca).

Cuidados com a embalagem: As garrafas devem estar rigorosamente limpas, de preferência novas. Devem ser lavadas, interna e externamente, com detergente (destampadas), enxaguadas, e em seguida aplicar álcool etílico ou acetona e colocar para secar (completamente) em estufa. Quando for o caso, as tampas devem ter o *liner* removido, serem borrifadas com álcool etílico e secas em estufa (no máximo a 60 °C).

Transporte: O período de transporte das amostras não deve exceder uma semana.

Os códigos de identificação das amostras são gerados pelo responsável em enviá-las ao laboratório. Devem estar relacionados às informações de coleta, tratamento e transporte. Abaixo estão descritas algumas das informações solicitadas aos responsáveis por envio de amostras, dentro da Rede Kamukaia:

Dados de origem

- Localização da amostra, informando o município, ponto de GPS central da parcela, ambiente (terra firme ou várzea) e outras informações relevantes.
- Identificação da espécie ou envio de material botânico para identificação (folhas, flores e frutos).

Descrição completa das condições de coleta da semente

- Data de coleta da amostra.
- Tratamento dado às sementes (lavagem, secagem ou outros).
- Outras informações relevantes.

Condições de armazenamento até o envio

- Local de armazenamento.
- Embalagem de armazenamento.
- Tempo de armazenamento.
- Temperatura de armazenamento.

Condições de transporte

- Data de envio.
- Temperatura de transporte.
- Meio de transporte.

Referências

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução – RDC Nº 270, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. **Diário Oficial da União**, 23 set. 2005. Disponível em: <http://www.oliva.org.br/assets/pdfs/RDC_270_2005_oleos_gorduras_vegetais_azeite_de_oliva.PDF>. Acesso em: 20 dez. 2016.
- AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official Methods and recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. 4th ed. Champaign: AOCS, 1989.
- AZEREDO, H. M. C. (Ed.). **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 195 p.
- GUNSTONE, F. D. **The chemistry of oils and fats: source, composition, properties and uses**. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. 288 p.
- GUNSTONE, F. D.; PADLEY, F. B. **Lipid technology and applications**. New York: Marcel Dekker, 1997. 834 p.
- HILDER, M. H. Oil storage, transport, and handling. In: GUNSTONE, F. D.; PADLEY, F. B. **Lipid technology and applications**. New York: Marcel Dekker, 1997, p. 169-198.
- JOYCE, D. A. Microbiological aspects of aseptic processing and packaging. In: WHILLHOFT, E. M. A. **Aseptic processing and packaging of particulate foods**. London: Chapman & Hall, 1993, p.160-164.
- KRUG, J. F. **Métodos de preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Piracicaba: Cena/USP, 2008. 340 p.
- LUTRIA, D. L. **Oil extraction and analysis: critical issues and comparative studies**. Illinois: AOCS Press, 2004. 275 p.
- MENDONÇA A. P.; FERRAZ, I. D. K. Óleo de andiroba: processo tradicional da extração, uso e aspectos sociais no estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 37, n. 3, p. 353-364, 2007.
- MORAIS, L. R. B.; GUTJAHN, E. **Química de oleaginosas: valorização da biodiversidade Amazônica**. Brasília, DF: Agência de Cooperação Técnica Alemã – GTZ, 2009. 83 p.
- O'BRIEN, R. D.; FARR, W. E.; WAN, P. J. **Introduction to fats and oils technology**. Illinois: AOCS, 2000. 618 p.
- RIGAMONTE-AZEVEDO, O. C.; WADT, P. G. S.; WADT, L. H. O. **Copaíba: ecologia e produção de óleo-resina**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2004. 28 p. (Embrapa Acre. Documentos, 91).
- SANTOS, J. C.; MENEZES, R. S.; SOUZA, J. M. L.; FIGUEIREDO, S. M. M.; FIGUEIREDO, E. O.; COSTA, J. S. R. **Demandas tecnológicas para o processamento de castanha (*Bertholletia excelsa Humb e Bompl*) no Estado do Acre**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2001. 17 p. (Embrapa Acre. Documentos, 70).
- SHANLEY, P.; MEDINA, G. **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica**. Belém: Cifor, Imazon, 2005. 304 p.