

Aplicação MCR-ALS e NIRS na avaliação da atividade antioxidante da Maca Peruana (*Lepidium Meyenii* Walp).

RESUMO

A Maca Peruana (*Lepidium Meyenii* Walp) é um alimento muito consumido nos Andes Peruanos e vem sendo utilizado no Brasil graças a propriedades medicinais atribuídas por culturas populares. Devido à falta de informações sobre este cultivar, foi proposto um estudo para avaliar o efeito da adição de Maca Peruana em óleo de soja transgênica. Para isso, foram medidos espectros das amostras de óleos de soja com e sem adição de Maca após aquecimento em diferentes temperaturas, nas regiões Visível e Infravermelho Próximo. Os resultados obtidos foram avaliados através de métodos quimiométricos de Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis – PCA*) e de Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternados (*Multivariate Curve Resolution with Alternating Least Squares – MCR-ALS*). Os resultados sugerem que a Maca Peruana inibe o surgimento de produtos de oxidação, o que é evidenciado ao se compararem os resultados obtidos para os óleos aquecidos sem e com adição de Maca Peruana.

PALAVRAS-CHAVE: MCR-ALS, NIRS, Maca Peruana, Óleo de Soja.

Daiane Ribeiro Soares

dayribeirosoares@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão-PR, Brasil

Rhayanna Priscila Gonçalves

rhayanna_pg@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão-PR, Brasil

Patricia Valderrama

patriciav@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão-PR, Brasil

Paulo Henrique Março

paulohmaco@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão-PR, Brasil

INTRODUÇÃO

A Maca é uma planta nativa da região dos Andes, que corresponde à espécie *Lepidium meyenii*, pertencente à família *Brassicaceae*, sendo cultivada pelos povos andinos há mais de dois mil anos (LEON, 1964). O tubérculo, devido ao seu alto valor nutritivo é consumido seco e na forma de suplemento em pó ou como infusão (CIKUTOVIC *et al.*, 2009).

De acordo com análises prévias, a Maca apresenta teores de proteína que variam entre 10 e 18%, teores de carboidrato de 59 a 68%, consideráveis teores de fibra (3,85 a 8,5%) e de lipídeos (0,2 a 2,2%), assim como uma elevada quantidade de aminoácidos livres além de minerais, como, cálcio e ferro (DINI *et al.*, 1994). Segundo alguns estudos, a Maca possui cerca de 9 dos 10 aminoácidos essenciais, o que lhe confere propriedades interessantes com apelo ao consumo (CANALES *et al.*, 2000).

Para extrair informações sobre constituintes químicos da Maca e alguns de seus efeitos, métodos capazes de correlacionar informações, tais como métodos multivariados podem ser utilizados. Estes métodos consideram a correlação entre muitas variáveis analisadas simultaneamente, permitindo a extração de uma quantidade muito maior de informação (BRUNS; FAIGLE, 1985). Dentre estes métodos, podemos citar a Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis* – PCA) e a Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes (*Multivariate Curve Resolution Alternating Least Squares* – MCR-ALS).

A PCA é um método de redução de dimensionalidade dos dados que, provavelmente, é o método quimiométrico mais amplamente difundido (BRERETOM, 2003). O MCR-ALS tornou-se um método quimiométrico popular utilizado para a resolução de sinais de múltiplos componentes em misturas complexas que recupera como resposta informações relacionadas aos espectros puros e suas respectivas concentrações relativas (TAULER, 1995, MARÇO, 2014). Para que o MCR consiga produzir resultados mais condizentes com as informações químicas, algumas restrições, tais como não-negatividade, balanço de massa, e unimodalidade (dentre outras) podem ser usadas. De qualquer forma, todas as operações de resolução via MCR-ALS dividem um passo comum na otimização que se inicia com obtenção das estimativas iniciais de concentração ou espectro puro, adaptadas de acordo com as informações químicas ou matemáticas incluídas no processo de otimização sob a forma de restrições (MARÇO, 2014).

O objetivo deste trabalho foi propor um método alternativo para avaliar a influência da Maca Peruana em alimentos. A proposta visa oferecer uma metodologia de baixo custo, rápida e sem geração de resíduos.

METODOS E PROCEDIMENTOS

Para avaliar a influência da Maca Peruana, fez-se uma comparação com uma matriz cujo comportamento já era conhecido. Para tanto, foram utilizadas amostras de óleo de soja transgênica, as quais foram aquecidas com e sem

adição de Maca Peruana. Para uma melhor visualização, foram analisadas farinhas (pó finamente dividido) de Maca provenientes de quatro fornecedores diferentes. Desta forma, para melhor avaliação da influência da Maca, o óleo de soja foi aquecido em diferentes temperaturas. Esta estratégia foi escolhida com base na literatura (GONÇALVES, MARÇO, VALDERRAMA, 2014).

Para realização dos testes envolvendo os óleos de soja transgênica, foram pesadas 2,5g de Maca de cada fornecedor, que foram adicionadas e misturadas empiricamente a quantidade de 50mL de óleo. Em seguida, as amostras foram submetidas à agitação por um período estimado em cerca de 10 minutos e, após agitação contínua, as misturas de Maca + óleo foram filtradas uma a uma utilizando-se vácuo.

Para as análises, o primeiro espectro da amostra foi adquirido na temperatura de 25°C, sendo aquecido de 30 até 170°C, com incrementos de 10 em 10°C, sendo um espectro coletado a cada incremento de temperatura. A temperatura de 170°C foi escolhida por estar próxima da temperatura de fritura de alimentos (GONÇALVES, MARÇO, VALDERRAMA, 2014). Para fins de comparação, o mesmo procedimento foi realizado para a amostra de óleo de soja transgênica sem adição de Maca.

Após o aquecimento as amostras foram armazenadas até resfriamento em temperatura ambiente (25°C) para então medir-se o espectro das amostras em cada temperatura na região Vis-NIR (de 400 a 2500 nm). Os dados foram processados utilizando-se software Matlab R2007® de propriedade do orientador. A aplicação de PCA foi realizada utilizando-se PLS toolbox 7.8 fornecido pela EMBRAPA Solos do Rio de Janeiro. O tratamento via MCR-ALS foi realizado utilizando-se os códigos disponíveis na webpage do MCR-ALS na internet (MCR-ALS webpage, 2016).

2.1 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

O método PCA encontra combinação de variáveis, ou *fatores*, que descreve a maior variabilidade nos dados. Esta técnica consiste em se fazer uma ortogonalização baseada em mudança de base vetorial. O primeiro passo para a análise de componentes principais é a formação de uma matriz de variância/covariância dos dados (**Z**) que irá isolar a fonte de variação dos dados (OTTO, 1999, BEEBE, KOWALSKI, 1987):

$$\mathbf{Z} = \mathbf{X}^T \mathbf{X}$$

1

A matriz de covariância é, então, diagonalizada por uma transformação unitária:

$$\Lambda = \mathbf{P}^{-1}\mathbf{Z}\mathbf{P}$$

2

em que Λ é uma matriz diagonal cujos elementos são autovalores de \mathbf{Z} ; \mathbf{P} é a matriz de autovetores, denominada “pesos” (*loadings*). Basicamente, os pesos formam uma nova base ortonormal que explica a variância dos dados de \mathbf{X} e a projeção dos dados nessa base é denominada “escores” (*scores*), (\mathbf{T}). Desse modo, os dados são decompostos por um conjunto de vetores pesos e escores (OTTO, 1999, BEEBE, KOWALSKI, 1987):

$$\mathbf{X}=\mathbf{T}\mathbf{P}^T$$

3

A combinação linear dos pesos e escores é denominada componente principal (PC). O número máximo de componentes principais obtidos (PCs) é igual ao número de vetores de dados utilizados (posto da matriz \mathbf{X} de dados independentes), sendo que, nem todas as PCs possuem informações úteis (BEEBE, PELL, SEASHOLTZ, 1998). Normalmente, as últimas PCs modelam ruído inerente aos dados. Sendo assim, a eliminação das PCs frequentemente aumenta a relação sinal/ruído (VANDEGINSTE et al, 1998; OTTO, 1999).

Idealmente, o número de PCs deveria ser igual ao número de espécies químicas presentes na amostra. Isso permite que técnicas quimiométricas que empregam PCA possam ser utilizadas em circunstâncias onde se deseja determinar apenas algumas espécies de interesse em um meio complexo (OTTO, 1999).

2.2 – Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes (MCR-ALS)

O modelo geral do MCR pode ser verificado em uma equação de forma:

$$\mathbf{X} = \mathbf{C} \mathbf{S}^T$$

4

em que, é a matriz de resposta instrumental, \mathbf{C} é a matriz de concentração relativa e \mathbf{S} é uma matriz de espectros puros.

O método de Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes (MCR-ALS, do inglês *Multivariate Curve Resolution with Alternating Least-Squares*) é um tipo de método de resolução no qual aproximações de resolução iterativa são consideradas mais populares empregadas mínimos quadrados alternantes (ALS). Para que o MCR consiga obter resultados mais condizentes com as informações químicas, aproximações de resolução iterativa são consideradas mais populares devido à sua flexibilidade para lidar com vários tipos de arranjos de dados e problemas químicos, além da habilidade para

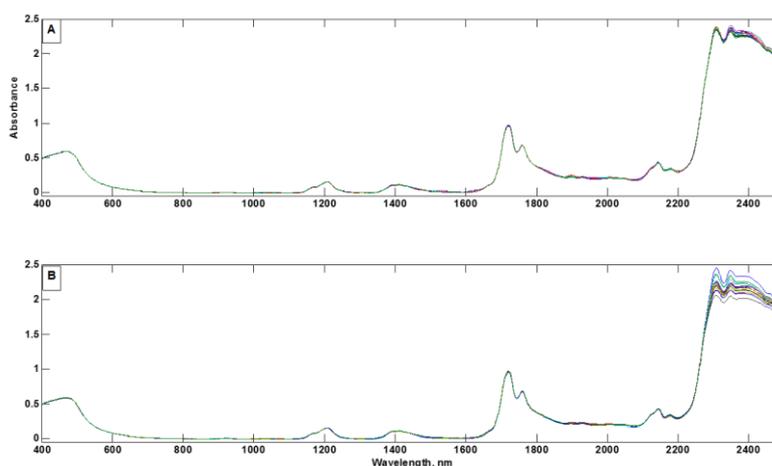
acomodar informações externas no processo de resolução. Todas elas dividem um passo comum na otimização (das matrizes C e/ou S^T) que se inicia com as estimativas iniciais de C e S^T , adaptadas de acordo com as informações químicas ou matemáticas incluídas no processo de otimização sob a forma de restrições (TAULER, 1995; MARÇO, 2014).

RESULTADO E DISCUSSÕES

Neste estudo, as amostras de óleo de soja contendo Maca e as isentas desta substância foram aquecidos em 16 diferentes temperaturas e, em seguida, coletadas e arrefecidas para serem medidas utilizando-se a região espectral Vis-NIR. Para analisar os dados espectrais obtidos, métodos quimiométricos foram utilizados a fim de se obter um perfil de degradação térmica relativo às espécies ativas na região de trabalho assim como seus respectivos perfis de concentração.

Ao avaliar os espectros das amostras, verificam-se alterações significativas no perfil espectral principalmente entre 2200 e 2500 nm. Após ajuste de linha de base, o perfil espectral das amostras de óleo aquecidas com e sem adição de Maca estão apresentados na Figura 1:

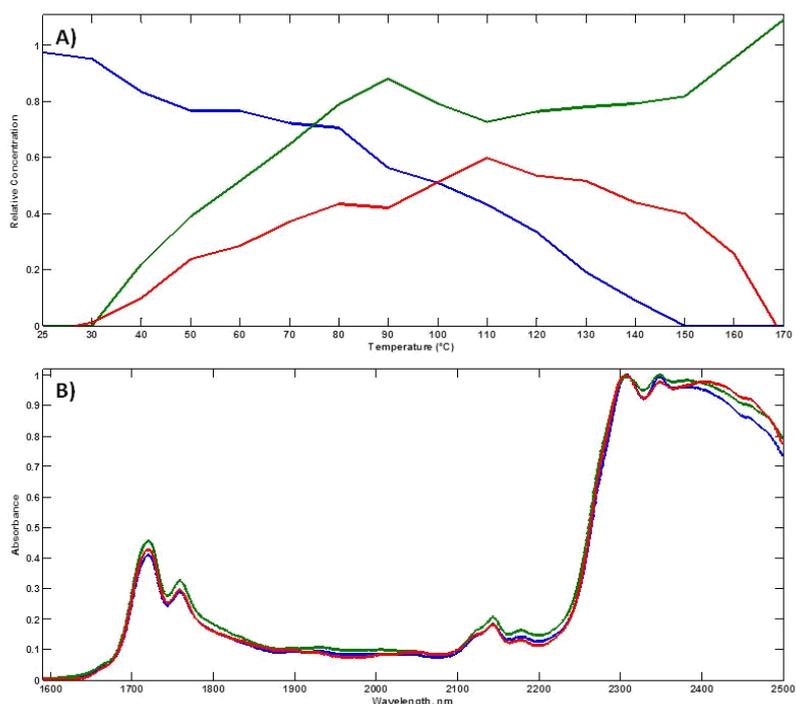
Figura 1 – Perfil espectral Vis-NIR das amostras de óleo de soja transgênica, aquecidos em diferentes temperaturas **(A)** sem adição e **(B)** com adição de Maca Peruana.



Como a região que apresentou variação mais significativa estava acima de 1600 nm, os espectros foram cortados para se utilizar a região mais informativa. Afim de explorar sobre o número de espécies que apresentavam sinal na região em questão, a aplicação de PCA mostrou que foram necessários 5 PCs para explicar 99,10% da variância total dos dados para a amostra sem Maca enquanto 3 PCs explicaram 99,08% da variância total para a amostra com a Maca. Considerando-se as informações provenientes da PCA, fez-se a aplicação de MCR-ALS para recuperação dos perfis de espectros puros e respectivas concentrações relativas, e os resultados estão apresentados na Figura 2 para a amostra com

Maca e Figura 3 para a amostra sem Maca. Os resultados foram os mesmos para as Macas dos 4 diferentes fornecedores, sugerindo coerência nos resultados.

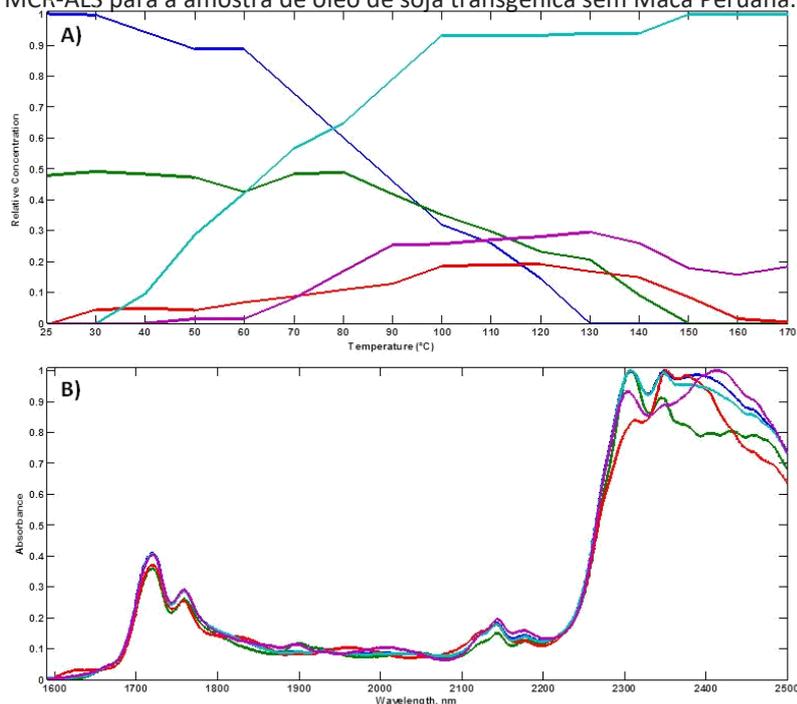
Figura 2 – (A) Concentração relativa e (B) respectivos perfis espectrais, recuperados por MCR-ALS para as amostras de óleo de soja transgênica com adição de Maca Peruana.



A Figura 3 apresenta o espectro recuperado por MCR-ALS do óleo de soja transgênica sem adição de Maca Peruana. Observa-se que a adição da Maca influenciou significativamente no número de espécies químicas ativas na região avaliada, inibindo o aparecimento de duas espécies que são verificadas apenas em óleo de soja transgênica no qual não foi realizada a adição de maca.

Os resultados sugerem que a Maca Peruana apresenta algum tipo de atividade inibitória, sugerindo-se potencial antioxidante, já que para amostras avaliadas sem a adição de Maca, a partir de 80°C observou-se o surgimento de produtos de oxidação (GONÇALVES, MARÇO, VALDERRAMA, 2014), não verificados com a adição de Maca. No entanto, os estudos realizados não possibilitam a identificação de quais foram as espécies inibidas pela adição da Maca. Desta forma, novos estudos são necessários para se afirmar qual está sendo a função exata da Maca na mistura. Porém, observa-se que o método proposto pode fornecer informações importantes para a avaliação da atividade de algumas substâncias sem a necessidade de utilização de reagentes tóxicos, empregando-se um método de custo relativamente baixo, que necessita do mínimo de preparo de amostra (adição da Maca em óleo e filtração), além de ser um método rápido e eficiente.

Figura 3 – (A) Concentração relativa e (B) respectivos perfis espectrais, recuperados por MCR-ALS para a amostra de óleo de soja transgênica sem Maca Peruana.



Assim, sugere-se que a quimiometria pode ser usada para fornecer informações para uma ampla variedade de campos científicos, além de oferecer estratégias alternativas permitindo uma análise rápida, de baixo (ou nenhum) consumo de reagente, além de outras vantagens em relação a interpretação.

CONCLUSÃO

A metodologia utilizada no estudo se mostrou promissora no sentido de permitir a extração de informações para avaliar a influência da adição deste alimento em amostra de óleo, utilizando-se espectroscopia Vis-NIR.

Os resultados obtidos pela adição das Macas dos quatro fornecedores diferentes sugerem coerência nos resultados que apontam para atividade inibitória com relação a formação de produtos, os quais não foram identificados neste estudo.

Para se concluir sobre o efeito exato da adição da Maca, novos estudos serão necessários.

A metodologia proposta pode ser empregada no estudo de outras matrizes alimentares, apresentando como principal vantagem à velocidade das medidas, a geração mínima de resíduos e a necessidade mínima de preparo de amostra.

MCR-ALS and NIRS applied on the evaluation of the *Lepidium meyenii* antioxidant activity

ABSTRACT

The Peruvian Maca (*Lepidium Meyenii* Walp) is a food which is widely consumed around the Peruvian Andes and has been used in Brazil thanks to medicinal properties attributed by popular culture. Due to lack of information on this cultivar, it was proposed a study to evaluate the effect of adding Peruvian Maca in transgenic soybean oil. For this purpose, the spectra of soybean oil samples with and without addition of Maca after heating at different temperatures were measured at Visible and Near Infrared regions. The results were evaluated by chemometric methods of Principal Component Analysis (PCA) and Multivariate Curve Resolution with Alternating Least Squares (MCR-ALS). The results suggest that Maca inhibits the appearance of oxidation products, which is evidenced when comparing the results obtained for the heated oil with and without addition of Maca.

KEY WORDS: MCR-ALS, NIRS, Peruvian Maca, Soybean Oil.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo suporte financeiro junto ao projeto de cadastro 485640/2013-9.

REFERÊNCIAS

BEEBE, K. R.; KOWALSKI, B. R. An Introduction to multivariate calibration and analysis, *Analytical Chemistry* (1987) 59:17, A1007-A1017.

BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. *Chemometrics: A practical guide*. Wiley, 1998.

BRERETON, R. G. *Chemometrics: Data Analysis for the laboratory and chemical plant*. John Wiley & Sons Inc: Chichester, 2003.

BRUNS, R. E.; FAIGLE, J. F. G.; Quimiometria, *Química Nova*, v.8, p.84-99, 1985.

CANALES, M.; AGUILAR, J.; PRADA, A.; MARCELO, A.; HUAMÁN, C. & CARVAJAL, L. Evaluación nutricional de *lipidium meyenii* (MACA) en ratones albinos y su descendencia. *Arch. Latinoam. Nutr.*, v. 50, p.126-33, 2000.

CIKUTOVIC, M.; FUENTES, N. & BUSTOS-OBREGÓN, E. Effect of intermittent hypoxia on the reproduction of rats exposed to high altitude in the Chilean Altiplano. *High Alt. Med. Biol.*, v.10, p.357-63, 2009.

LEON T. The Maca (*Lepidium meyenii*): A little known food plant of Peru. *Economic Botany*, v. 18, p.122-127, 1964.R.

MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P.; ALEXANDRINO, G. L.; POPPI, R. J.; TAULER, R. Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes: descrição, funcionamento e aplicações. *Química Nova*, v. 37 (9), p.1533-1537, 2014.

OTTO, M. *Chemometrics*. Weinheim: Wiley, 1999.

TAULER, Chemometr. *Intell. Lab. Syst.* v. 30, p. 133 – 146, 1995.

VANDEGINSTE, B. G. M.; MASSART, D. L.; BUYDENS, L. M. C.; JING, S.; LEWI, P. J.; SMEYERS-VERBEKE, J. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part B*. Amsterdam: Elsevier, 1998.

Recebido: 11 dez. 2014.

Aprovado: 12 mar. 2016.

DOI: 10.14685/rebrapa.v7n1.3464

Como citar:

SOARES, D. R.; GONÇALVES, R. P. VALDERRAMA, P.; MARÇO, P. H. Aplicação MCR-ALS e NIRS na avaliação da atividade antioxidante da Maca Peruana (*Lepidium meyenii* Walp). **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 7, n.1, p. 17-26, jan./abr. 2016. Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa>>

Correspondência:

Paulo Henrique Março

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Departamento de Engenharia de Alimentos, Campus Campo Mourão, Via Rosalina Maria dos Santos, 1233 CEP 87301-899 Caixa Postal: 271 Campo Mourão - PR - Brasil

Direito autoral: Este artigo está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.

