

Promotores e inibidores da oxidação lipídica

Lipid oxidation: Promoters and inhibitors

Resumo:

Na atualidade os óleos alimentares provêm de uma ampla variedade de fontes e são importantes para a indústria de alimentos, uma vez que são componentes de uma grande variedade de produtos alimentares, assim como um meio para os alimentos serem processados. No entanto, a maioria dos óleos são suscetíveis à oxidação, como resultado dos seus ácidos gordos insaturados. A oxidação lipídica está na origem do desenvolvimento do ranço, na produção de compostos responsáveis por offflavors e offodors, além de provocarem outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, mas também à integridade e segurança dos alimentos. O objetivo deste trabalho foi testar o comportamento do ácido ascórbico, sulfato de cobre, de um agente quelante (EDTA) e antioxidante sintético (BHA) num óleo alimentar normal e um outro óleo alimentar de milho, de forma a percebermos a contribuição destes agentes para a oxidação lipídica, se a potencializam ou inibem. Verificamos que no caso do ácido ascórbico irá desempenhar o seu papel como antioxidante inibindo a reação de oxidação, no entanto quando presente o CuSO₄, essa propriedade deixa de existir. O CuSO₄ será catalisador da reação de oxidação, quando presente. O EDTA como agente quelante irá inibir a reação de oxidação, assim como o BHA. Na determinação do Malonaldeído, para a quantificação de hidroperóxidos formados durante o processo oxidativo observamos que uma maior inibição da oxidação lipídica ocorreu quando utilizado em conjunto o ácido ascórbico, BHA e EDTA.

Abstract:

Nowadays food oils come from a wide variety of sources and are important for the food industry, since they are components of a wide variety of food products as well as a means for the food being cooked. However, most oils are susceptible to oxidation as a result of their unsaturated fatty acids. Lipid oxidation is the source of the development of rancidity in the production of compounds responsible for off flavors and off odors, and also cause other changes that will affect not only the nutritional quality, but also the integrity and safety of food. The aim of this study was to test ascorbic acid behavior, copper sulfate, a chelating agent (EDTA) and synthetic antioxidant (BHA) in a normal cooking oil and other edible oil corn in order to realize the contribution of these agents lipid oxidation, to potentiate or inhibit. We found that in the case of ascorbic acid will fulfill its role as an antioxidant, inhibiting the oxidation reaction when present in the CuSO₄ However, this property ceases. The SARA CuSO₄ catalyst of the oxidation reaction when present. EDTA as a chelating agent will inhibit the oxidation reaction, as BHA. In the determination of malondialdehyde, for the quantification of hydroperoxides formed during the oxidative process inibição we observed that greater the lipid oxidation occurred when used in conjunction ascorbic acid, BHA, and EDTA.



**Amanda Priscila Silva Nascimento¹,
Ana Luisa Pinto¹, Maria Elita
Martins Duarte², Francinalva
Cordeiro de Sousa**

¹Aluna do Curso de Engenharia de Alimentos, Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola, UFCG, Campina Grande, PB, E-mail: amandapriscil@yahoo.com.br¹-Aluna do Curso de Engenharia de Alimentos, Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola, UFCG, Campina Grande, PB, E-mail: amandapriscil@yahoo.com.br

¹Aluna do Mestrado de Biotecnologia e Qualidade Alimentar, Escola de Ciências da Vida e do Ambiente, Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, E-mail: analuisapinto91@gmail.com

²Engenharia Agrícola, Professora. Doutora, Unidade Acadêmica de Engenharia de Engenharia Agrícola, UFCG, Campina Grande, PB, E-mail: elita@deag.ufcg.edu.br *Autor para correspondências.

Contato principal
Ana Luisa Pinto¹



Palavras chave: Oxidação lipídica. Ácido ascórbico. EDTA, BHA.

Keywords: Lipid oxidation. Ascorbic acid. EDTA. BHA



INTRODUÇÃO

Desde os tempos antigos que a degradação de óleos e gorduras tem sido motivo de interesse, essencialmente devido aos problemas que traz no armazenamento destes produtos. Além disso, na atualidade os óleos alimentares provêm de uma ampla variedade de fontes e são importantes para a indústria alimentar, uma vez que são componentes de uma grande variedade de produtos alimentares, assim como um meio para os alimentos serem cozinhados (SALAS et al., 2000). No entanto, a maioria dos óleos são suscetíveis à oxidação, como resultado dos seus ácidos gordos insaturados (LAGUERRE et al., 2007).

Os ácidos gordos insaturados são especialmente suscetíveis ao processo oxidativo, devido à presença de ligações duplas na sua estrutura (REPETTO. M et al., 2012). A oxidação lipídica está na origem do desenvolvimento do ranço, na produção de compostos responsáveis por offflavors e offodors, além de provocar outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também à integridade e segurança dos alimentos, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (PAIVA-MARTINS et al., 2007).

Os lípidos podem ser oxidados segundo diferentes vias: reações hidrolíticas (são catalisadas pelas enzimas lipase ou pela ação de calor e umidade, com formação de ácidos graxos livres); oxidação enzimática (oxidação por via enzimática, ocorre pela ação das enzimas lipoxigenases); fotoxidação (promovido essencialmente pela radiação UV em presença de fotossensibilizadores como a clorofila, mioglobina, riboflavina e outros) e autooxidação (principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras).

A autooxidação realiza-se segundo um mecanismo de auto propagação, consistindo em três passos básicos: iniciação, propagação e terminação. Para que este processo tenha início, é necessária a geração de um radical livre. Nos alimentos, os radicais livres podem ser gerados de várias formas, mas provavelmente a mais importante é a decomposição de hidroperóxidos. Os hidroperóxidos podem formar-se quando uma molécula de oxigénio singuleto ataca a dupla ligação de um ácido gordo insaturado (PINCHUK et al., 2012).

Para além da intervenção do oxigénio e radicais livres na oxidação dos lípidos, também os íons metálicos de transição, como o ferro e o cobre, podem catalizar a formação de novos radicais livres (REPETTO. M. G. et al., 2010). Assim como a luz, altas temperaturas e ainda a atividade de água entre, $0,2 < a_w < 0,8$. (FRANKEL E.N., 2014).

Para o controle da oxidação lipídica nos alimentos, existem diversos inibidores como: $a_w > 0,25$ e $a_w > 0,8$, a refrigeração, agentes complexantes, antioxidantes o branqueamento, a utilização de gases inertes (atmosferas modificadas), embalagens opacas e a hidrogenação dos ácidos gordos (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Além disso, para que exista a oxidação lipídica é necessário oxigénio, e desta forma a eliminação do oxigénio pode ser uma solução. Esta estratégia utiliza-se em muitos produtos alimentares, nos quais se substitui o oxigénio por nitrogénio, ou utilizando embalagens que são impermeáveis ao oxigénio (NAM; AHN, 2003).

O objetivo deste trabalho foi testar o comportamento do ácido ascórbico, sulfato de cobre, de um agente quelante (EDTA) e oxidante sintético (BHA) num óleo alimentar normal (composto principalmente de soja) e um outro óleo alimentar de milho, de forma que se possa perceber a sua contribuição destes agentes para a oxidação lipídica. Concedendo primeiramente a reação de oxidação num sistema modelo e só depois procedeu-se à sua análise no óleo alimentar normal.

MATERIAIS EMÉTODOS

Inicialmente preparou-se a emulsão de ácido linoléico (18:2n) de massa 0,74g e volume 0.5 ml tween 20. Ajustou-se o volume para 24,5ml da solução tampão fosfato de sódio com pH 6.8. Emulsionou-se a mistura com ajuda de um dispersor e diluiu-se de 1:10 com o tampão fosfato. Foi então posto em 6 tubos de ensaio cada uma das combinações apresentadas na Tabela 1.

Foi utilizado este procedimento para um óleo alimentar (constituído por óleo de soja refinado, e óleo de girassol refinado, ácido linoléico 2%) e óleo de milho (óleo 100% vegetal obtido através de germen de milho selecionado).

Os tubos então foram colocados em banho de maria a 60°C durante 1 hora. Neste período foram registradas as mudanças de cor do tubo.

Determinação do malonaldeído:

O teste de TBA quantificaram o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos da decomposição dos hidroperóxidos de ácidos gordos polinsaturados, formados durante o processo oxidativo (CECCHI, 1999).

Transferiu-se 1ml de cada tratamento para 6 tubos de ensaio. Adicionou-se a cada tubo 0.3ml EDTA a 0.5%, 0.2ml HCL a 1 %, 0.5ml Etanol a 95% e 2ml TBA a 0.3%. Colocaram-se em banho de maria a 60°C durante 1 h. Adicionou-se 7 mL de etanol a 62% e posterior homogeneização. E por fim leu-se a absorbância a 535 nm.

Tabela 1. Oxidação num sistema modelo.

Tubo	Ácido Linoleico diluído (ml)	Ácido Ascórbico (ml)	CuSO ₄ (ml)	EDTA (ml)	BHA (ml)
1	2,5	-	-	-	-
2	2,5	0,1	0,1	-	-
3	2,5	0,1	0,1	0,1	-
4	2,5	0,1	0,1	-	0,1
5	2,5	0,1	-	-	-
6	2,5	-	0,1	-	-

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram utilizados dois óleos distintos para que se conseguisse verificar a diferenças entre os dois tipos de óleos utilizados na experiência, o óleo de milho e o

outro óleo comum. Os resultados referentes à oxidação num sistema modelo (utilizando dois tipos de óleo) encontram-se na tabela 2.

Tabela 2- Resultados da oxidação de dois diferentes óleos, na fase da oxidação num sistema modelo.

Tubo	Óleo alimentar (comum)*	Óleo de milho
1	Transparente	Transparente
2	Laranja (Claro)	Laranja (muito claro)
3	Azul	Azul (muito claro)
4	Laranja (mais escuro)	Laranja (mais escuro)
5	Laranja escuro	Laranja (quase transparente)
6	Transparente	Azul (praticamente transparente)

*Contituído por diferentes tipos de óleos provenientes de diferentes fontes vegetais.

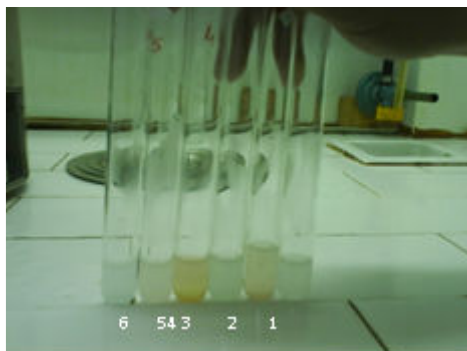


Figura 1 – Resultados da oxidação lipídica para o óleo de milho.

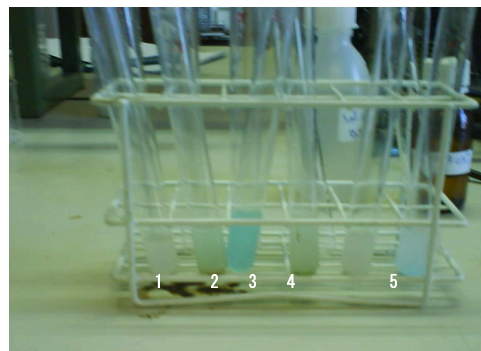


Figura 2 – Resultados da oxidação lipídica para o óleo alimentar

Analisando a tabela 2 e as figuras 1 e 2, é possível verificar que:

O tubo 1 constituiu um controle logo, não se verificou qualquer mudança de cor, pois este só continha o ácido linoleico.

No tubo 2 (ácido linoleico, ácido ascórbico e o CuSO₄), o ácido ascórbico funciona como antioxidante, portanto inibidor da oxidação lipídica e o CuSO₄ como

um catalisador metálico, que acelera a reação de oxidação. Embora a presença de um antioxidante pudesse impedir o desenvolvimento da reação esse fato não se constatou devido à presença do catalisador metálico, que faz com que o ácido ascórbico perca a sua estabilidade e seja oxidado a ácido desidroascórbico, deixando assim de expressar a sua propriedade antioxidante. Como o CuSO₄ é um íon metálico promove a reação de oxidação lipídica,

e o ácido ascórbico não pode desenvolver seu papel antioxidante, a cor resultante é um pouco mais intensa e por consequência há uma maior formação de hidroperóxidos e uma maior oxidação lipídica (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Por outro lado, a utilização de antioxidantes nos alimentos é um dos métodos eficazes para retardar a oxidação lídica. No entanto, muitos fatores tem impacto na sua atividade, havendo por isso antioxidantes que retardam a oxidação lipídica, e em determinadas condições acabam por proverem a mesma. (REISCHE et al. 2002). Benedet e Shibamoto (2008) estudaram a oxidação de óleo de bacalhau utilizando o sistema de Fenton contendo metais de transição Fe (II), Cr (II), Pb (II), e de Cd (II) e verificaram que são potencializadores da oxidação lipídica mesmo quando presentes em quantidades mínimas, contribuindo para diversas doenças.

No tubo 3 (ácido linoleico, ácido ascórbico, CuSO₄ e EDTA), a ocorrência de reação é menos notória pela introdução do EDTA. O EDTA (ácido etileno diamino tetra acético) atua como um agente quelante, complexa com os íons metálicos presentes em solução, cobre e ferro que catalisam a oxidação lipídica (RAMALHO; JORGE, 2006). O efeito antioxidante do EDTA na oxidação lipídica tem sido bastante estudada. Polavarapu et al. (2012) em seu estudo verificaram que a utilização de EDTA foi eficaz para maximizar a estabilidade oxidativa em emulsões com pectina de beterraba, preparadas a partir de óleo de peixe e óleo de azeite virgem. Lee e Decker (2011) estudaram a estabilidade da riboflavina em emulsões e determinaram que a adição de EDTA diminuiu a formação de hidropéroxidos, embora dependente da concentração utilizada.

No tubo 4 (ácido linoleico, ácido ascórbico, CuSO₄ e BHA), verificou-se que sendo o BHA (butil-hidroxi-anisol) um antioxidante sintético, a formação de hidroperóxidos é reduzida (KAHL, 1984). No tubo 3 foi originada uma coloração menos intensa do que no tubo 4, o que significa que no tubo 3 houve uma maior inibição de formação de hidroperóxidos do que no tubo 4, logo podemos afirmar que o EDTA é um inibidor mais forte do que BHA. BHA é um antioxidante mais efetivo na eliminação da oxidação em gorduras animais que em óleos vegetais. Como a maior parte dos antioxidantes fenólicos, sua eficiência é limitada em óleos insaturados de vegetais ou sementes (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os antioxidantes são compostos químicos que podem prevenir ou diminuir os danos oxidativos, ou seja, os antioxidantes possuem a capacidade de reagir com os radicais livres e assim restringir os efeitos maléficos (COUTO et al. 2010). Tubo 5 (ácido linoleico e ácido ascórbico) quando adicionado o ácido ascórbico, ou vitamina C, ocorreu a inibição da formação de hidroperóxidos, por este motivo foi observado uma coloração praticamente transparente.

No tubo 6 (ácido linoleico e o CuSO₄) era esperado a ocorrência da reação (tendo os tubos uma coloração

forte) pois o CuSO₄ é um promotor da formação de hidroperóxidos. No entanto tal fator não se verificou no nosso trabalho prático., varios faores podem ser indicados para este fato, dentre eles o fato da temperatura do banho maria ter sido insuficiente para estas condições e desta maneira o desencademaneto da reação.

Na segunda fase do trabalho verificou-se a determinação do malonaldeído, para a quantificação de hidroperóxidos formados durante o processo oxidativo, sendo os resultados apresentados na tabela 2 apenas para o óleo alimentar comum.

Uma das técnicas mais utilizadas para se avaliar a oxidação lipídica é o teste do malondialdeído (MDA). O MDA é um dialdeído formado como um produto secundário durante a oxidação dos ácidos gordos polinsaturados. Em condições apropriadas de incubação (meio ácido e aquecimento), reage eficientemente com uma variedade de agentes nucleófilos para produzir cromogéneos com alta absorvidade molar no espectro visível (CECCHI, 1999).

Tabela 2- Determinação do Malonaldeído para o óleo alimentar comum. *

Tubo	Absorvância (535 nm)
1	0,019
2	0,034
3	0,010
4	0,009
5	0,012
6	0,025

*Constituído por diferentes tipos de óleos provenientes de diferentes fontes vegetais.

Pela análise do gráfico 1, podemos observar de forma mais eficaz a oxidação ocorrida nos seis tubos utilizados na primeira fase.

No controle observou-se absorbâncias reduzidas o que seria o esperado. Uma maior inibição da oxidação lipídica ocorreu quando utilizado o ácido ascórbico, EDTA, BHA e o CuSO₄ (tubo 4), o que seria de se esperar uma vez que reúne todos os compostos que retardam a oxidação, um antioxidante natural e um sintético e ainda um agente quelante, mesmo estando presente o íon metálico o mesmo não será suficiente para o desencadeamento da reação.

No tubo 3, o EDTA e o ácido ascórbico demonstraram ser bastante eficazes na inibição da reação de oxidação lipídica. Foram observados valores muito semelhantes aos do tubo 4, o que demonstra que a presença do BHA não irá contribuir de forma tão significativa para a inibição da reação de oxidação lipídica devido à proximidade dos valores observados.

Uma maior produção de hidroperóxidos, foi obtida na presença do ácido ascórbico e CuSO₄ (tubo 2), o que de certa forma não seria esperado, o mais provável teria sido, uma maior produção de hidroperóxidos no tubo (6) onde estava presente apenas o CuSO₄ catalisador da

oxidação lipídica. Este fato mais uma vez comprova que a atividade antioxidante do ácido ascórbico em determinadas condições pode favorecer o desenvolvimento da reação de oxidação lipídica.

Determinação do Malonaldeído

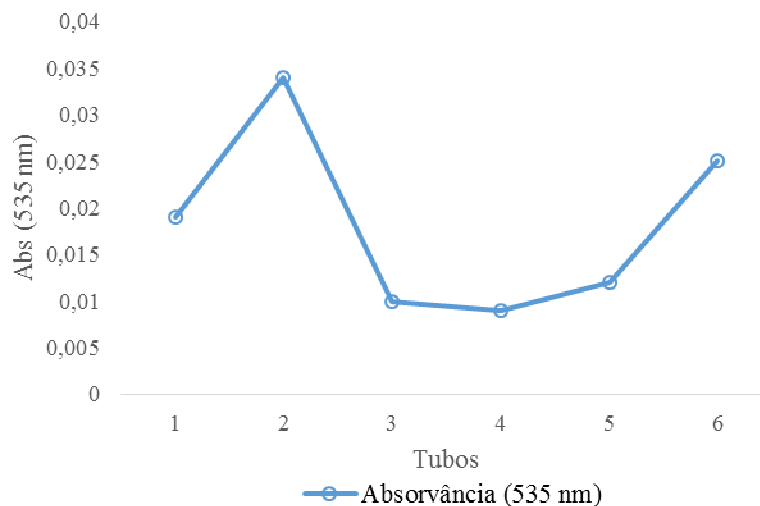


Gráfico 1. Determinação do malonaldeído para o óleo alimentar comum

CONCLUSÕES

A oxidação lipídica é umas das principais causas da deterioração da qualidade de alimentos naturais ou processados o que traz preocupações a níveis econômicos para a indústria alimentar. Por outro lado, esta questão pode ser contornada, quando utilizados aditivos de forma adequada.

Analisando esse estudo verifica-se que a atividade antioxidante do ácido ascórbico está muito dependente das condições utilizadas, embora apresente uma atividade antioxidante importante, na presença de íons metálicos essa atividade não é expressada, podendo contribuir até para o desenvolvimento da oxidação lipídica. No entanto quando utilizado isoladamente, manifesta a sua atividade antioxidante de forma satisfatória.

Os íons metálicos CuSO_4 , funcionaram como catalisadores da reação, ou seja, aceleraram o desenvolvimento da reação de oxidação lipídica.

O EDTA, um agente quelante, complexa com os íons metálicos, não permitindo assim o desenvolvimento da reação de oxidação. No entanto, o único inconveniente está relacionado ao fato de ser um composto sintético o que pode levantar algumas preocupações quer para os consumidores como produtores. Por isso os estudos estão

cada vez mais direcionados para a identificação e utilização de agentes quelantes naturais como o ácido cítrico por exemplo, no entanto menos eficaz, assim como apresentam problemas tecnológicos e sensoriais.

Quando quantificado a produção de hidroperóxidos através do MA, uma menor absorvância foi observada quando utilizados todos os inibidores da oxidação lipídica (BHA, EDTA e ácido ascórbico). Por outro lado, uma maior produção de hidroperóxidos foi obtida quando presente o ácido ascórbico e o CuSO_4 , ou seja, embora o ácido ascórbico apresente propriedade antioxidante determinada condição pode favorecer o desenvolvimento da reação de oxidação lipídica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- BIANCHI, M. D. L. P & ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev Nutr*, 12, 123-130, 1999.
- CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Editora da Unicamp, 1999.
- COUTO, M. A. A; CANNIATTI-BRAZACA & GUIDOLIN, S. Quantificação de vitamina C e capacidade

- antioxidante de variedades cítricas. Ciênc. Tecnol. Aliment., 30, 15-19, 2010.
- FRANKEL, E. N. Lipid Oxidation. Elsevier Science, 2014.
- KAHL, R. Synthetic antioxidants: Biochemical actions and interference with radiation, toxic compounds, chemical mutagens and chemical carcinogens. Toxicology, 33, 185-228, 1984.
- LAGUERRE, M; LECOMTE, J; VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Prog. Lipid Res. 46: 244–282, 2007.
- LEE, J; DECKER, E. A. Effects of Metal Chelator, Sodium Azide, and Superoxide Dismutase on the Oxidative Stability in Riboflavin-Photosensitized Oil-in-Water Emulsion Systems. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 6271-6276, 2011.
- NAM, K. C; AHN, D. U. Combination of aerobic and vacuum packaging to control lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated raw turkey breast. Meat Science, 63, 389-395, 2013.
- PAIVA-MARTINS, F; CORREIA, R; FÉLIX, S; FERREIRA, P. & GORDON, M.H.P. Effects of Enrichment of Refined Olive Oil with Phenolic Compounds from Olive Leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 4139-4143, 2007.
- PALAVARAPU, S; OLIVER, C.M; AJLOUNI; AUGUSTIN, M.A. Impact of Extra Virgin Olive Oil and Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) on the Oxidative Stability of Fish Oil Emulsions and Spray-Dried Microcapsules Stabilized by Sugar Beet Pectin. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60, 444-450, 2012.
- PINCHUK, I; SHOVAL, H; DOTAN, Y. & LICHTENBERG, D. Evaluation of antioxidants: Scope, limitations and relevance of assays. Chemistry and Physics of Lipids, 165, 638-647, 2012.
- RAMALHO, V.C; JORGE, N. Ramalho, V. C. & Jorge, N. (2006) Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. Química Nova, 755-760, 2006
- REISCHE, D.W; LILLARD, D.A; ETENMILLER, R.R. Antioxidants. In: Akoh, C.C., and Min, D.B., Eds., Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. Marcel Dekker, New York, 2002.
- REPETTO, M; BOVERIS, A; SEMPRINE, J. Lipid peroxidation: chemical mechanism, biological implications and analytical determination. INTECH Open Access Publisher, 2012.
- REPETTO, M. G; FERRAROTTI, N. F & BOVERIS, A. The involvement of transition metal ions on iron-dependent lipid peroxidation. Arch Toxicol, 84, 255-262, 2010.
- SALAS, J.J; S'ANCHEZ; RAMLI.U.S; MANAF.A.M; WILLIAMS,M; HARWOOD, J.L. Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. Prog. Lipid Res. 39: 151–180, 2000.