

## OS TIPOS E OS EFEITOS DA RANCIDEZ OXIDATIVA EM ALIMENTOS

*A rancidez oxidativa é a principal responsável pela deterioração de alimentos ricos em lipídios, porque resulta em alterações indesejáveis de cor, sabor, aroma e consistência do alimento. A oxidação lipídica envolve uma série extremamente complexa de reações químicas, que ocorre entre o oxigênio atmosférico e os ácidos graxos insaturados dos lipídios.*



### CARACTERÍSTICAS E PROCESSAMENTO DA RANCIDEZ OXIDATIVA

A rancidez, deterioração da gordura, constitui um importante problema técnico nas indústrias de alimentos e pode ocorrer através de duas formas diferentes: rancidez oxidativa, causada pela auto-oxidação dos triacilgliceróis com ácidos graxos insaturados por oxigênio atmosférico; ou rancidez hidrolítica, causada pela hidrólise da ligação éster por lipase ou agente químico na presença de umidade.

ou cobre, ou a enzima lipoxigenase, podem atuar no processo pelo qual a deterioração oxidativa é iniciada. A lipoxigenase está presente nos tecidos vegetais, como os da soja, ervilha e tomate. A enzima pode causar a deterioração oxidativa dos lipídios durante a separação do óleo das sementes oleaginosas, mas também atua na formação de sabores positivos nos vegetais durante a mastigação.

Os componentes formados na fase inicial da auto-oxidação são os hidroperóxidos, sendo estes também os produtos formados na oxidação catalisada pela lipoxigenase. Apesar

em óleo de soja; os sabores de peixe, que se desenvolvem no óleo de peixe; e os sabores cremosos ou metálicos, que podem se desenvolver na gordura do leite. Os aldeídos geralmente contribuem para os *off flavours* que se desenvolvem durante a oxidação lipídica.

Além do desenvolvimento de aromas rançosos, a deterioração oxidativa dos lipídios pode causar o branqueamento de alimentos, devido à reação dos pigmentos, especialmente os carotenóides, com os intermediários reativos, chamados radicais livres, que são formados durante a oxidação lipídica. Os radicais livres também podem levar a uma redução da qualidade nutricional, por reagir com vitaminas, especialmente a vitamina E, a qual se perde quando da sua ação como antioxidante no alimento.

Nos óleos de fritura, o aumento da concentração de radicais livres é muito mais elevado do que em alimentos armazenados ou processados em temperaturas moderadas. Nas temperaturas elevadas usadas em frituras, que normalmente são de 180°C, os radicais livres chegam a concentrações nas quais as combinações formando dímeros tornam-se significativas. Isso provoca aumento na viscosidade do óleo. A formação de ácidos graxos livres, escurecimento do óleo e aumento da formação de espuma e fumaça também ocorrerem durante a fritura. De acordo com as recomendações da Sociedade Alemã de Pesquisa de Gordura (*German Society for Fat Research - DGF*), uma gordura de fritura deve ser considerada deteriorada se contiver mais de 24% de material polar ou 12% de material polimérico. A essa altura, uma parte considerável dos tocoferóis, juntamente com uma parte dos ácidos graxos poliinsaturados presentes no óleo, terá sido perdida.

Os *off flavours* que se desenvolvem durante a oxidação lipídica normalmente servem de aviso que o alimento já não é mais comestível, embora isso não se aplique aos su-

### RANCIDEZ HIDROLÍTICA OU LIPOLÍTICA

É a reação ocasionada pela ação de enzimas como a lipase/lipoxigenase e/ou por agentes químicos (ácidos/bases) que rompem a ligação éster dos lipídios, liberando ácidos graxos. Na rancidez hidrolítica ou lipolítica forma-se ácidos graxos livres, saturados e insaturados.

A rancidez lipolítica ou hidrolítica diminui a qualidade das gorduras destinadas principalmente a frituras, alterando especialmente as características organolépticas, como a cor (escurecimento), o odor e o sabor dos alimentos.

A presença de água acelera a rancidez hidrolítica; além disso, quando as gorduras contendo ácidos graxos livres são emulsionadas em água, estes ácidos graxos livres, mesmo em baixas concentrações, proporcionam sabor e odor desagradável. Deve-se evitar o uso prolongado da mesma gordura no processamento de alimentos (frituras), especialmente se estes alimentos forem ricos em água.

A rancidez hidrolítica pode ser inibida pela inativação térmica das enzimas e pela eliminação da água no lipídio.

A reação espontânea do oxigênio atmosférico com os lipídios, conhecida como auto-oxidação, é o processo mais comum que leva à deterioração oxidativa. Os ácidos graxos poliinsaturados apresentam potencial de decomposição deste processo, estando presentes como ácidos graxos livres, ou como triglicérides (ou diglicérides ou monoglicérides) ou como fosfolipídios. Quando a luz e um agente sensibilizante como, a clorofila, estão presentes, a ativação do oxigênio em oxigênio singlete pode desempenhar um papel importante na indução da deterioração oxidativa. Alternativamente, os metais, incluindo ferro

dos hidroperóxidos serem não voláteis e inodoros, são compostos relativamente instáveis e se decompõem espontaneamente ou em reações catalisadas para formar compostos aromáticos voláteis que são percebidos como *off flavours*. A natureza dos *off flavors* detectados depende principalmente da composição em ácido graxo do substrato e do grau de oxidação, embora as condições de oxidação também possam afetar os compostos voláteis produzidos e as propriedades sensoriais do óleo oxidado. Exemplos de *off flavours* de oxidação são os sabores de feijão cru, que se desenvolvem geralmente

plementos lipídicos poliinsaturados tomados na forma de cápsula. Existe certa preocupação de que a excessiva ingestão de hidroperóxidos lipídicos possa levar a efeitos adversos à saúde. Na teoria, se os hidroperóxidos são absorvidos, eles passam a ser uma potencial fonte de radicais, o que pode causar efeitos danosos *in vivo*. Os radicais livres produzidos pela decomposição dos hidroperóxidos podem causar danos às proteínas, incluindo enzimas, ou ao DNA, podendo também gerar substâncias cancerígenas. No entanto, muitas fontes de radicais livres ocorrem *in vivo* e a presença de antioxidantes na dieta, ou endógenos, normalmente, garante que os tecidos humanos continuem a ser saudáveis.



## TIPOS E EFEITOS

As reações de auto-oxidação apresentam normalmente um período de indução, que é o período durante o qual ocorrem poucas mudanças nos lipídios. Após o término do período de indução, a deterioração oxidativa dos lipídios ocorre mais rapidamente.

Os *off flavours* tornam-se mais aparentes após o término do período de indução. Uma consequência do aumento acentuado na concentração de componentes de *off flavours* após o término desse período, é que a taxa de deterioração dos alimentos é relativamente insensível com relação ao conteúdo exato de gordura dos alimentos.

O período de indução é muito sensível a pequenas concentrações de componentes, que encurtam esse período, como os pró-oxidantes, ou que o prolongam, como os antioxidantes. Os íons metálicos são os mais importantes pró-oxidantes em alimentos, enquanto os antioxidantes incluem compostos que sequestram os radicais, estimulam a quelatação de metais ou de outros mecanismos. A presença de um período de indução é uma característica das reações químicas que seguem um mecanismo de radicais livres. O nível de radicais livres no óleo é geralmente baixo, mas, em frituras,

a rápida formação de radicais livres pode conduzir a uma combinação de radicais livres para formar dímeros de triglicérides.

Os hidroperóxidos podem se formar por auto-oxidação, mas uma via alternativa é através da ação da enzima lipoxigenase nos ácidos graxos poliinsaturados. A lipoxigenase ocorre em diversos vegetais, como grão de soja, milho, batata, tomate, pepino, grãos de aveia e de cevada. A lipoxigenase é significativa no desenvolvimento de aroma em vegetais, mas em sementes oleaginosas a sua ação, antes e durante a extração do óleo, pode levar à hidroperóxidos, que posteriormente se decompõem para formar *off flavours* no óleo. Os hidroperóxidos podem também se formar por foto-oxidação, se houver atuação de luz sobre a gordura na presença de um sensibilizante. No entanto, a decomposição dos hidroperóxidos é uma reação de baixo consumo energético para a iniciação da auto-oxidação e a composição dos *off flavours* voláteis que se forma é, normalmente, característica dos produtos da auto-oxidação, não importando como os hidroperóxidos iniciais são formados.

## AUTO-OXIDAÇÃO

Como uma reação de radicais livres, a auto-oxidação ocorre em três etapas distintas. O primeiro passo é a

inicialização, onde os radicais lipídicos são formados a partir de moléculas lipídicas. A separação de um átomo de hidrogênio por espécies reativas, como um radical hidroxila, pode conduzir à inicialização da oxidação lipídica. No entanto, nos óleos existem muitas vezes traços de hidroperóxidos, que podem ter sido formados pela ação da lipoxigenase no vegetal, antes e durante a extração do óleo. A inicialização secundária, por clivagem hemolítica de hidroperóxidos, é uma reação de relativa baixa energia e é, normalmente, a principal reação de inicialização em óleos comestíveis. Esta reação é normalmente catalisada por íons metálicos.

Após a inicialização, ocorrem as reações de propagação, nas quais um radical lipídico é convertido em um radical lipídico diferente. Essas reações geralmente envolvem a eliminação de um átomo de hidrogênio de uma molécula lipídica ou a adição de oxigênio para um radical alquila. A entalpia da reação é relativamente baixa quando comparada com a das reações de inicialização, ou seja, as reações de propagação ocorrem rapidamente em comparação com as reações de inicialização. Em pressão atmosférica normal de oxigênio, a reação dos radicais alquila com o oxigênio é muito rápida, e os radicais peróxí estão presentes em concentra-

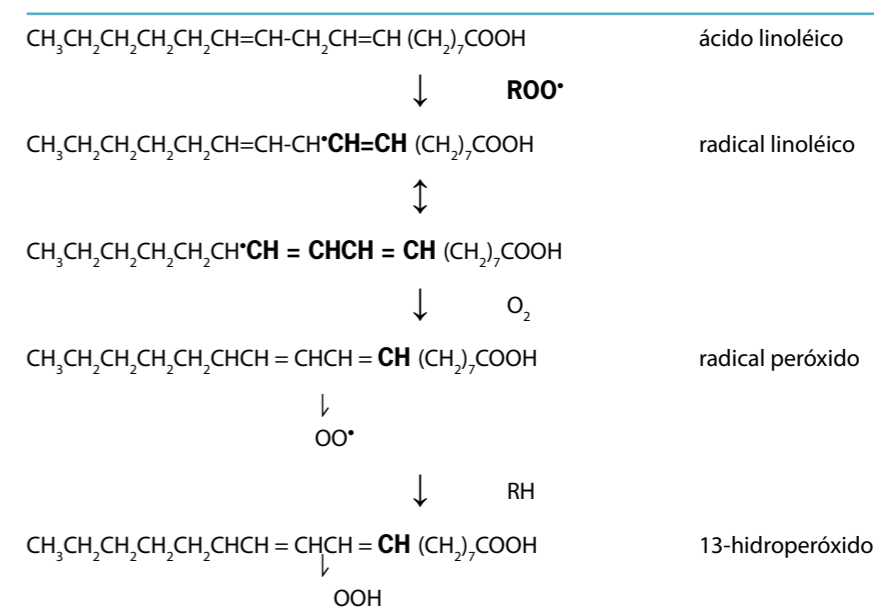
ções muito superiores aos de radicais alquila. A eliminação de hidrogênio ocorre, preferencialmente, nos átomos de carbono, onde a energia de dissociação da ligação é baixa. Como a energia de dissociação da ligação C-H é reduzida pela proximidade da funcionalidade alqueno, a eliminação de hidrogênio ocorre mais rapidamente no grupo metileno, entre os dois grupos alqueno em um ácido graxo poliinsaturado (PUFA). O radical formado inicialmente de um PUFA é deslocado ao longo de cinco átomos de carbono da molécula 1,4-pentadienil, e a reação com o oxigênio ocorre, preferencialmente, através da adição em um dos carbonos finais dessa estrutura. Isto leva a formação de 9- e 13-hidroperóxidos de ácido linoléico (veja Figura 1).

As reações de término, nas quais os radicais livres se combinam para formar moléculas com uma gama completa de elétrons são reações de baixa energia, mas são limitadas pela baixa concentração de radicais e pela exigência de radicais com a orientação correta para as suas reações colidirem. No entanto, em óleos de fritura as reações de terminação são importantes, com os dímeros e alto polímeros contribuindo para o aumento da viscosidade do óleo.

Os radicais alcoxi formados pela decomposição de hidroperóxidos podem decompor-se para liberar hidrocarbonetos voláteis, alcoóis ou aldeídos que não são mais ligados a estrutura glicerol quando o ácido graxo está presente como um glicerídeo. Também pode ocorrer a formação de alcoóis não voláteis e cetonas.

Os aldeídos voláteis são particularmente importantes como contribuintes para o aroma dos óleos oxidados, e o hexanal é comumente monitorado para avaliar a formação de produtos secundários da oxidação durante a oxidação lipídica. O hexanal normalmente é formado em quantidades relativamente grandes durante

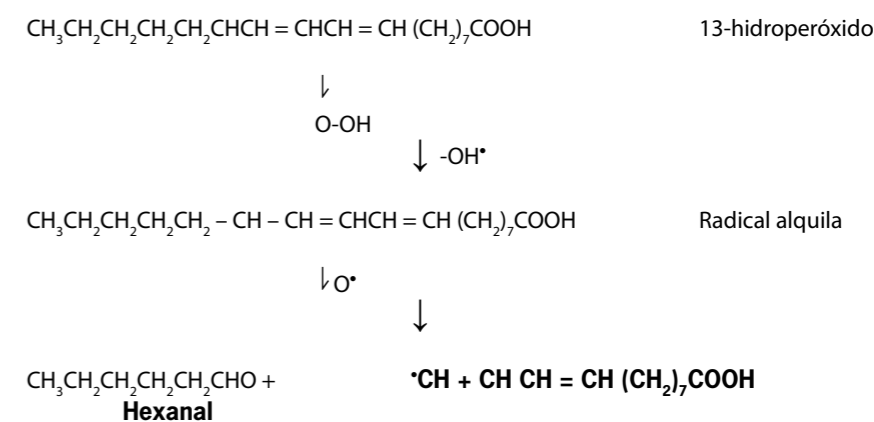
FIGURA 1 - FORMAÇÃO DE 13-HIDROPERÓXIDOS DE ÁCIDO LINOLÉICO



\*o 9-hidroperóxido é outro grande produto formado por processo similar.

a oxidação de lipídios, através de 13-hidroperóxidos (veja Figura 2), embora não seja um dos aldeídos aos quais o paladar é mais sensível.

FIGURA 2 - DECOMPOSIÇÃO DE 13-HIDROPERÓXIDOS A PARTIR DO ÁCIDO LINOLÉICO PARA FORMAR HEXANAL



Consequentemente, outros produtos voláteis podem contribuir mais do que o hexanal para a percepção de *off flavors* na avaliação sensorial de óleos oxidados. Os valores limiares de aroma de alguns aldeídos formados na auto-oxidação do ácido linoléico são apresentados na Tabela 1.



voláteis similares aos produzidos durante a auto-oxidação, embora as proporções relativas dos produtos possam variar muito, dependendo da especificidade da enzima e das condições da reação (veja Tabela 2).

**TABELA 2 - COMPOSIÇÃO DA FRAÇÃO VOLÁTIL PRODUZIDA POR LIPOXIGENASE (A) DE ERVILHA E POR AUTO-OXIDAÇÃO (B)**

Substrato de ácido linoléico			Substrato de ácido linolênico		
Produto	% (a)	% (b)	Produto	% (a)	% (b)
n-pentanal	7	0,7	Acetaldeído	5	
n-hexanal	41	67	Propanal	27	*
n-hept-2-enal	15	6	n-but-2-enal	3	1
n-oct-2-enal	10	18	n-pent-2-enal	22	10
n-nona-2,4-dienal	5	0,4	n-hex-2-enal	2	1
n-deca-2-dienal	20	5	n-hex-3-enal	-	14
			n-hepta-2,4-dienal	38	50

## EFEITOS ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes em alimentos podem ser definidos como qualquer substância capaz de adiar, retardar ou impedir o desenvolvimento de sabor rançoso ou de outras deteriorações aromáticas em alimentos, decorrentes da oxidação. Os antioxidantes retardam o desenvolvimento de *off flavours*, ampliando o período de indução. A adição de antioxidantes após o término deste período é ineficaz no retardo do desenvolvimento de rancidez.

Os antioxidantes podem inibir ou retardar a oxidação de duas formas: pela eliminação de radicais livres (atividade sequestrante), sendo neste caso descrito como um antioxidante primário, ou por um mecanismo que não envolve uma atividade sequestrante direta de radicais livres, caso em que o composto é um antioxidante secundário. Os antioxidantes primários incluem compostos fenólicos, como a vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol). Esses componentes são consumidos durante o período de indução.

Os antioxidantes secundários agem através de uma variedade de mecanismos, incluindo a ligação de íons metálicos, eliminação/sequestro

de oxigênio, conversão de hidroperóxidos em espécies não radicais, absorção de radiação UV ou desativação de oxigênio singlete. Normalmente, os antioxidantes secundários só apresentam atividade antioxidante quando um segundo componente menor está presente. Isso pode ser observado no caso de agentes sequestrantes, como o ácido cítrico, que são eficazes apenas na presença de íons metálicos, e no caso dos agentes redutores, como o ácido ascórbico, que são eficazes na presença de tocoferóis ou outros antioxidantes primários.

## FATORES QUE INFLUENCIAM A OXIDAÇÃO DE LIPÍDIOS NOS ALIMENTOS

Em alimentos, os principais fatores relacionados à ocorrência ou controle destas reações estão relacionados à quantidade de  $O_2$  presente, uma vez que a rancidez oxidativa não ocorre na ausência de  $O_2$ ; à composição da gordura, ou seja, o tipo de ácido graxo insaturado e o grau de saturação têm influência significativa na oxidação (os ácidos linoléico e linolênico oxidam-se 64 e 100 vezes mais rápido do que o ácido oléico, respectivamente); à exposição à luz, sendo que

a mesma acelera as reações de oxidação e, por isso, na medida do possível, deve-se evitar sua incidência direta nos alimentos suscetíveis a oxidação; e a temperatura de armazenamento, quanto maior a temperatura, maior será a velocidade com que a reação se desenvolve. A cada aumento de  $10^\circ C$  na temperatura, a reação do oxigênio com a gordura insaturada duplica. Esse efeito pode ser minimizado com o armazenamento de alimentos sob refrigeração e congelamento.

Outros fatores que influenciam a oxidação lipídica são a presença de catalisadores, chamados de pró-oxidantes, os quais aceleram a reação de oxidação (metais e grupo heme da mioglobina); e a atividade de água (*aw*) dos alimentos, sendo que a presença de água livre aumenta a atividade catalítica dos metais, portanto, o risco de oxidação aumenta a medida que atividade de água aumenta.

Na indústria de alimentos, além do controle dos procedimentos físicos (temperatura, luz e  $O_2$ ) pode-se também acrescentar aos alimentos agentes antioxidantes, que bloqueiam as reações de oxidação, retardando a formação de compostos desagradáveis.

## MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DA RANCIDEZ OXIDATIVA

O método frequentemente utilizado para determinar a rancidez oxidativa é o Índice de Peróxido (I.P.) / Índice de TBA. Este método é utilizado para caracterizar óleos e gorduras com relação à rancidez oxidativa. O Índice de Peróxido é o teste mais empregado e mede a quantidade de peróxido produzido. O Índice de Peróxido é um dos métodos mais utilizados para medir o estado de oxidação de óleos

e gorduras. Como os peróxidos são os primeiros compostos formados quando uma gordura deteriora, toda gordura oxidada dá resultado positivo.

O Índice de Peróxido de uma gordura é facilmente determinado dissolvendo-se um peso de gordura em uma solução de ácido acético-clorofórmio, adicionando-se iodeto de potássio e titulando o iodo liberado (o I é oxidado a  $I_2$  pelo peróxido da amostra) com solução padrão de tiosulfato de sódio, usando amido como indicador. O resultado é expresso como equivalente de

peróxido por 100g da amostra.

No caso da deterioração causada por rancidez hidrolítica, o método utilizado é o Índice de Acidez (I.A.), que avalia o grau de deterioração pela medida de ácidos graxos livres. O Índice de Acidez é definido como o número de miligramas de KOH requerido para neutralizar os ácidos graxos livres em 1g de amostra. O procedimento está baseado na dissolução da gordura em um solvente misto e neutralizado com uma solução padrão de NaOH, na presença de fenolftaleína como indicador.

## LOS TIPOS Y EFECTOS DE LA RANCIDEZ OXIDATIVA EN LOS ALIMENTOS

Rancidez, deterioro de la grasa, es un problema técnico importante en las industrias alimentarias y puede ocurrir a través de dos maneras diferentes: Rancidez oxidativa causada por auto-oxidación de los ácidos grasos insaturados en los triacilglicerolos por el oxígeno atmosférico; o rancidez hidrolítica, causado por la hidrólisis del enlace ester de la lipasa o agente químico en presencia de humedad.

La reacción espontánea de oxígeno atmosférico con los lípidos, conocido como auto-oxidación, es el proceso más común que lleva a deterioro oxidativo. Los ácidos grasos poliinsaturados presentan potencial de descomposición de este proceso, estando presente como ácidos grasos libres o como triglicéridos (o diglicéridos o monoglicéridos) o fosfolípidos. Cuando la luz y el agente de sensibilización como la clorofila, están presentes, la activación del oxígeno singlete de oxígeno puede desempeñar un papel importante en la inducción de deterioro oxidativo. Alternativamente, los metales, incluyendo hierro o cobre o la enzima lipoxigenasa pueden actuar en el proceso por el cual se inicia el deterioro oxidativo.

Los componentes formados en la etapa inicial de la auto-oxidación son hidroperóxidos, aunque no volátil y sin olor, los compuestos son relativamente inestables y se descomponen espontáneamente o catalizaron reacciones para formar compuestos aromáticos volátiles que se perciben como indeseables aromas. Además del desarrollo de aromas rancios, el deterioro oxidativo de los lípidos puede causar la decoloración de los alimentos, debido a la reacción de los pigmentos, especialmente los carotínidos con intermedios reactivos, llamados

radicales libres, que se forman durante la oxidación de lípidos.

En los alimentos, los principales factores que intervienen en la aparición y el control de estas reacciones están relacionadas con la cantidad de  $O_2$  presente, desde la rancidez oxidativa no se produce en ausencia de  $O_2$ ; la composición de la grasa, o el tipo de ácido graso insaturado y el grado de saturación tienen una influencia significativa sobre la oxidación (ácidos linoleico y linolênico se oxidan 64 y 100 veces más rápido que el ácido oleico, respectivamente); la exposición a la luz, ya que acelera las reacciones de oxidación y, por lo tanto, en la medida de lo posible, se debe evitar la incidencia directa en los alimentos susceptibles a la oxidación; y la temperatura de almacenamiento, mayor es la temperatura, mayor será la velocidad a la cual se desarrolla la reacción. Cada aumento de temperatura  $10^\circ C$  la reacción de oxígeno con dobles grasa insaturada. Este efecto puede ser minimizado con el almacenaje del alimento bajo refrigeración y congelación. Otros factores que influyen en la oxidación de lípidos son la presencia de catalizadores, llamado pró-oxidantes, que acelera la reacción de oxidación (metales y grupo hemo de la mioglobina); y la actividad de agua (*aw*) de los alimentos y la presencia de agua libre aumenta la actividad catalítica de metales, por lo tanto, el riesgo de oxidación aumenta conforme aumenta la actividad de agua.

En la industria alimentaria, más allá del control de los procesos físicos (temperatura, luz y  $O_2$ ) también pueden añadir a los alimentos antioxidantes que bloquean las reacciones de oxidación, lo que retrasa la formación de compuestos desagradables.

