

# A RANCIDEZ OXIDATIVA EM ALIMENTOS

Os lipídios ocorrem em quase todas as matérias-primas alimentícias, sendo as principais classes os triglicérides (também conhecidos como triacilgliceróis), que ocorrem nas células de armazenagem de gordura de plantas e animais, e os fosfolipídios, que ocorrem nas membranas biológicas.

No processamento de uma grande variedade de alimentos, as gorduras podem ser adicionadas como parte da formulação. As gorduras adicionadas são um importante componente de muitos alimentos, tais como a maionese, a margarina e os óleos de fritura. Essas gorduras são quase totalmente triglicérides, sendo esses as fontes potenciais mais significativas de oxidação nesses alimentos. Os fosfolipídios, presentes em todas as membranas biológicas dos tecidos vegetais ou animais usados em alimentos, podem ser um importante substrato para a deterioração oxidativa.

## OS CAMINHOS PARA A OXIDAÇÃO LIPÍDICA

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 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.

## PRODUTOS DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA

Os componentes formados na fase inicial da auto-oxidação são os hidroperóxidos, sendo estes também os produtos formados na oxidação catalisada pela lipoxigenase. Apesar 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-flavours* 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 *off-flavours* de oxidação são os sabores de feijão cru, que se desenvolvem geralmente 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 (veja Tabela 1)

TABELA 1 – AROMAS DE ALDEÍDOS ALIFÁTICOS			
Nº de átomos de carbono	Saturados	Séries homólogas	
		2-Enals	2,4-Dienals
C2	fresco, picante		
C3	fresco, leitoso		
C4	↓	Doce, picante	
C5		Doce, verde	
C6	Fresco, verde	↓	
C7	↓		Doce, oleoso
C8	Fresco, cítrico		↓
C9	↓	Doce, gorduroso, Verde	
C10		↓	
C11	Gorduroso	Doce, gorduroso	↓
C12	↓	↓	

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.

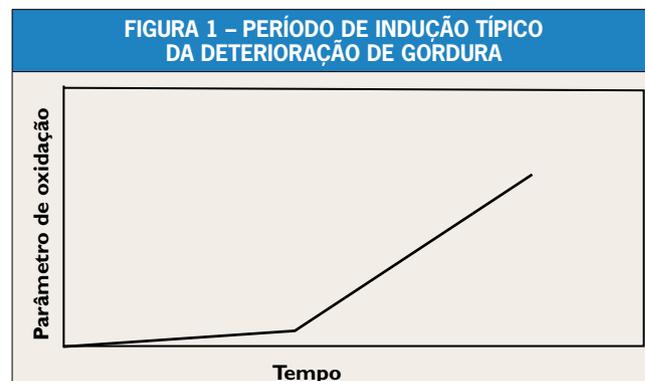
Nos óleos de fritura, o aumento da concentração de radicais livres é muito mais elevado do que em alimentos armazenados ou processados em temperaturas moderadas. Nas temperaturas elevadas usadas em fritura, que normalmente são de 180°C, os radicais livres chegam a concentrações nas quais as combinações 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 ocorrem 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 suplementos 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 DA RANCIDEZ

As reações de auto-oxidação apresentam normalmente um período de indução, que é o período durante o qual muita pouca mudança ocorre nos lipídios. Após o término do período de indução, a deterioração oxidativa dos lipídios ocorre mais rapidamente, conforme mostra a Figura 1.



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-flavour* após o término do período de indução, é que a taxa de deterioração dos alimentos é relativamente insensível com relação ao conteúdo exato de gordura dos alimentos.

O período de indução (IP) é muito sensível a pequenas concentrações de componentes, que encurtam o IP, como os pró-oxidantes, ou que prolongam, como os antioxidantes. Os íons metálicos são os mais importantes pró-oxidantes em alimentos, enquanto que 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-flavour* 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 formam é, normalmente, característica dos produtos da auto-oxidação, não importando como os hidroperóxidos iniciais são formados.

## MECANISMO DA AUTO-OXIDAÇÃO

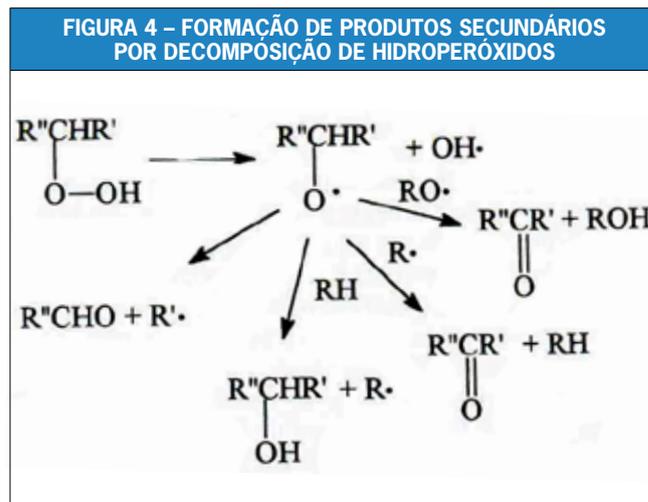
Como uma reação de radicais livres, a auto-oxidação ocorre em três etapas distintas (veja Figura 2)

FIGURA 2 – MECANISMO DA AUTO-OXIDAÇÃO LIPÍDICA	
Inicialização	$X^{\bullet} + RH \rightarrow R^{\bullet} + XH$
Propagação	$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$ $ROO^{\bullet} + R'H \rightarrow ROOH + R'^{\bullet}$
Término	$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOR + O_2$ $ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow ROOR$ $R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow RR$
Segunda iniciação	$ROOH \rightarrow RO^{\bullet} + ^{\bullet}OH$ $2 ROOH \rightarrow RO^{\bullet} + ROO^{\bullet} + H_2O$
Inicialização catalisada por metais:	$M^{n+} + ROOH \rightarrow RO^{\bullet} + ^{\bullet}OH + M^{(n+1)+}$ $M^{(n+1)+} + ROOH \rightarrow ROO^{\bullet} + H^{\bullet} + M^{(n)+}$

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. Estas 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 peróxi estão presentes em concentrações 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



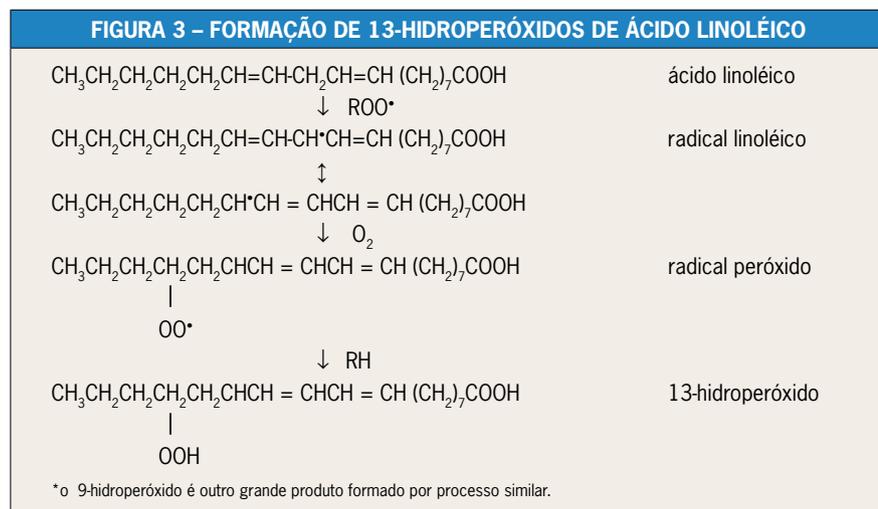
de dissociação da ligação C-H é reduzida pela proximidade da funcionalidade alqueno, a eliminação de hidrogênio ocorre mais rapidamente no grupo metileno, entre os dois grupos alqueno em um ácido graxo poliinsaturado (PUFA). O radical formado inicialmente de um PUFA é deslocado ao longo de cinco átomos 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, como demonstrado na Figura 3.

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 glicérol quando o ácido graxo está presente como um glicérido. Também pode ocorrer a formação de alcoóis não-voláteis e cetonas, como mostra a Figura 4.

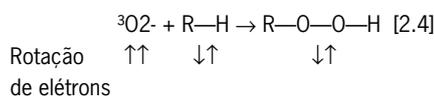
Os aldeídos voláteis são particularmente importantes como contribuintes



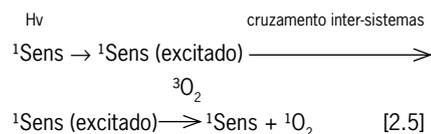


## A rancidez cetônica é um problema que pode ser encontrado em alguns produtos, como o coco ralado, que contenham ácidos graxos saturados de cadeia curta.

se encontram em dois orbitais moleculares degenerados, distintos. A reação direta de uma molécula  $^3\text{O}_2$  com uma molécula lipídica, RH, violaria o princípio da conservação do momento angular da rotação, uma vez que a molécula lipídica e uma molécula de hidropéroxido produzidas estariam ambas no estado singlete eletrônico. Daí a reação do oxigênio com a molécula lipídica, de acordo com a reação [2.4], que resultará em uma mudança no momento angular da rotação.



No entanto, o oxigênio triplete pode ser excitado por luz em oxigênio singlete na presença de um sensibilizante, como a clorofila, de acordo com a reação [2.5]. O oxigênio singlete reage muito mais rápido do que o oxigênio triplete com os lipídios insaturados, através de reações, produzindo hidropéroxidos alílicos através da transferência de uma ligação dupla.



O oxigênio singlete formado pode reagir com um ácido graxo poliinsaturado para formar um hidropéroxido. Nenhuma mudança na rotação ocorre durante esta reação que é, portanto, permitida, ocorrendo mais de 1.500 vezes mais rápido do que a reação entre o oxigênio triplete e um ácido graxo poliinsaturado.

## RANCIDEZ CETÔNICA

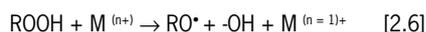
A rancidez cetônica é um problema que pode ser encontrado em alguns produtos, como o coco ralado, que contenham ácidos graxos saturados de cadeia curta. Fungos, como o *Eurotium amstelodami*, degradam triglicérides na presença de quantidades limitadas de ar e água. Os ácidos graxos livres são liberados inicialmente e depois de sofrem  $\beta$ -oxidação com a formação de metil cetonas e álcoois alifáticos. O ranço cetônico caracteriza por uma nota de mofado, velho no produto.

## OXIDAÇÃO LIPÍDICA POR CATALISE DE METAIS

Todos os materiais de origem biológica contêm pequenas quantidades de metais de transição, que não podem ser

completamente removidos pelo processamento normal de alimentos. Os metais de transição, como Fe, Cu, Co, que possuem dois ou mais estados de valência com um potencial de oxidação-redução adequada, afetam tanto a velocidade da auto-oxidação quanto a direção da quebra dos hidropéroxidos em compostos voláteis.

Íons metálicos de transição, em seu estado de valência mais baixos ( $\text{M}^{n+}$ ), reagem muito rapidamente com hidropéroxidos. Agem como doadores de um elétron para formar um radical alcóxi, o que pode ser considerado como uma ramificação da etapa de propagação:

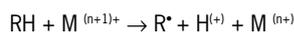


Em uma reação consecutiva lenta, o estado reduzido do íon metálico pode ser regenerado por moléculas de hidropéroxido:



Devido à presença de água ou metal complexante, a regeneração não é completa. Os radicais produzidos nas equações [2.6] e [2.7], entram na seqüência de propagação e diminuem o período de indução. A atividade catalítica de metais pesados depende, na realidade, não somente das espécies de íons e seu potencial redox, mas também dos ligantes ligados a ela, do sistema de solvente, da presença de doadores de elétrons, tais como o ascorbato e a cisteína, que mantém o íon metálico em seu estado de baixa valência, e do pH. A máxima degradação de peróxidos ocorre em pH entre 5,0 a 5,5.

De acordo com a equação [2.8], os metais podem abstrair um átomo de hidrogênio dos próprios ácidos graxos, mas a presença ubíqua de traços de hidropéroxidos em óleos assegura que a decomposição dos hidropéroxidos é a reação normal de inicialização.



## EFEITOS ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes em alimentos podem ser definidos como qualquer substância capaz de adiar, retardar ou impedir o desenvolvimento de sabor rançoso ou outras deteriorações aromáticas em alimentos, decorrendo 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 seqüestrante), sendo neste caso descrito como um *antioxidante primário*, ou por um mecanismo que não envolve uma atividade seqüestrante direta de radicais livres, caso em que o composto é um *antioxidante secundário*. 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/seqüestro de oxigênio, conversão de hidroperóxidos em espécies não-radicaais, 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 seqüestrantes, 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.

## MECANISMOS DE OXIDAÇÃO CATALISADA POR LIPOXIGENASE

As lipoxigenases (linoleato: oxigênio oxido-redutase - EC 1.13.11.12) são dioxiogenases que catalisam a adição do oxigênio molecular ao sistema *cis, cis, 1,4* - pentadieno dos ácidos graxos poliinsaturados, formando hidroperóxidos dos ácidos graxos correspondentes. As lipoxigenases vegetais utilizam o ácido linolênico (C18:3) ou ácido linoléico (C18:2) como substrato e estão associadas a importantes processos fisiológicos, tais como: biossíntese de compostos regulatórios, crescimento e desenvolvimento, senescência, germinação de sementes, resposta a ferimento, proteína de reserva vegetativa e resistência a insetos e patógenos. Quando os tecidos da planta são danificados por patógenos ou mecanicamente, ocorre uma degradação seqüencial de lipídios, cujo produto inicial são os hidroperóxidos resultantes da ação das lipoxigenases. Entre os vários produtos formados, tem-se a taumatina, o ácido jasmônico, os aldeídos voláteis e os oxiácidos.

Nos tecidos vegetais ocorrem várias enzimas que provocam a conversão de hidroperóxidos para outros produtos, alguns dos quais são importantes como compostos de aroma. Estas enzimas incluem a hidroperóxido-liase, que catalisa a formação de aldeídos e ácidos oxo; a peroxigenase hidroperóxido-dependente e a epoxigenase, que catalisam a formação de ácidos graxos epóxi e hidróxi; e a hidroperóxido isomerase, que catalisa a formação de ácidos graxos epóxi-hidroxi e ácidos graxos trihidroxi. A lipoxigenase produz aromas voláteis similares aos produzidos durante a auto-oxidação, embora as proporções relativas dos produtos possam variar muito, dependendo da especificidade da enzima e as condições da reação (veja Tabela 3).

As moléculas de lipoxigenase contêm um átomo de ferro. O átomo de ferro está em estado de alta rotação Fe (II) na forma original de repouso da lipoxigenase, devendo ser oxidado para Fe (III) pelo produto da reação, ou seja, ácido graxo hidroperóxido ou peróxido de hidrogênio antes que seja ativado como um catalisador de oxidação. Como consequência deste requisito para a oxidação do ferro da enzima, um período de latência é observado, quando a enzima é usada com substratos de ácidos graxos puros. Todo o caminho da oxidação catalisada pela lipoxigenase é apresentado na Figura 7.

TABELA 3 – COMPOSIÇÃO DA FRAÇÃO VOLÁTIL PRODUZIDA POR (A) LIPOXIGENASE DE ERVILHA E (B) POR AUTO-OXIDAÇÃO					
Substrato de ácido linoléico			Substrato de ácido linolênico		
Produto	% (a)	% (b)	Produto	% (a)	% (b)
<i>n</i> -pentanal	7	0,7	Acetaldeído	5	
<i>n</i> -hexanal	41	67	Propanal	27	*
<i>n</i> -hept-2-enal	15	6	<i>n</i> -but-2-enal	3	1
<i>n</i> -oct-2-enal	10	18	<i>n</i> -pent-2-enal	22	10
<i>n</i> -nona-2,4-dienal	5	0,4	<i>n</i> -hex-2-enal	2	1
<i>n</i> -deca-2-dienal	20	5	<i>n</i> -hex-3-enal	-	14
			<i>n</i> -hepta-2,4-dienal	38	50

\* Detectada como um dos principais produtos da auto-oxidação de ácido linolênico. As concentrações dos isômeros *cis* e *trans* estão resumidos na tabela.

