

# Lipídeos 4

*D. Julian McClements e Eric A. Decker*

## CONTEÚDO

4.1	Introdução . . . . .	132			
4.2	Componentes lipídicos principais. . . . .	132			
4.2.1	Ácidos graxos . . . . .	132			
4.2.1.1	Nomenclatura dos ácidos graxos saturados . . . . .	132			
4.2.1.2	Nomenclatura dos ácidos graxos insaturados . . . . .	133			
4.2.2	Acilgliceróis . . . . .	134			
4.2.2.1	Composição das gorduras . . . . .	134			
4.2.3	Fosfolipídeos. . . . .	136			
4.2.4	Esfingolipídeos . . . . .	137			
4.2.5	Esteróis . . . . .	137			
4.2.6	Ceras . . . . .	138			
4.2.7	Lipídeos diversos . . . . .	138			
4.3	Propriedades físico-químicas dos lipídeos . . . . .	138			
4.3.1	Propriedades físicas dos triacilgliceróis . . . . .	139			
4.3.1.1	Propriedades reológicas . . . . .	139			
4.3.1.2	Densidade. . . . .	141			
4.3.2	Cristalização e derretimento de lipídeos alimentares . . . . .	142			
4.3.3	Mecanismos físico-químicos de transições de fase lipídica . . . . .	144			
4.3.3.1	Super-resfriamento. . . . .	144			
4.3.3.2	Nucleação. . . . .	144			
4.3.3.3	Crescimento de cristais . . . . .	146			
4.3.3.4	Eventos pós-cristalização. . . . .	147			
4.3.4	Estrutura cristalina . . . . .	147			
4.3.4.1	Morfologia . . . . .	147			
4.3.4.2	Polimorfismo . . . . .	148			
4.4	Processamento de lipídeos: isolamento, purificação e modificação. . . . .	149			
4.4.1	Refino de lipídeos . . . . .	149			
4.4.1.1	Degomagem . . . . .	150			
4.4.1.2	Neutralização . . . . .	150			
4.4.1.3	Branqueamento . . . . .	150			
4.4.1.4	Desodorização . . . . .	150			
4.4.2	Alteração do conteúdo de gordura sólida (SFC) em alimentos lipídicos . . . . .	150			
4.4.2.1	Mistura . . . . .	150			
4.4.2.2	Intervenções dietéticas . . . . .	150			
4.4.2.3	Manipulação genética . . . . .	150			
4.4.2.4	Fracionamento . . . . .	150			
4.4.2.5	Hidrogenação . . . . .	151			
4.4.2.6	Interesterificação . . . . .	152			
4.5	Funcionalidade dos triacilgliceróis em alimentos. . . . .	152			
4.5.1	Textura . . . . .	153			
4.5.2	Aparência . . . . .	154			
4.5.3	Sabor . . . . .	155			
4.6	Deterioração química de lipídeos: reações hidrolíticas . . . . .	155			
4.7	Deterioração química de lipídeos: reações oxidativas. . . . .	156			
4.7.1	Mecanismos da oxidação lipídica. . . . .	156			
4.7.2	Pró-oxidantes . . . . .	158			
4.7.2.1	Pró-oxidantes que promovem a formação de hidroperóxidos lipídicos . . . . .	159			
4.7.2.2	Pró-oxidantes que promovem a formação de radicais livres. . . . .	162			
4.7.2.3	Pró-oxidantes que promovem a decomposição de hidroperóxidos . . . . .	162			
4.7.3	Formação de produtos de decomposição da oxidação de lipídeos. . . . .	163			
4.7.3.1	Reações de $\beta$ -clivagem . . . . .	163			
4.7.3.2	Produtos de reações adicionais da decomposição de ácidos graxos. . . . .	165			
4.7.3.3	Oxidação do colesterol. . . . .	165			
4.7.4	Antioxidantes . . . . .	165			
4.7.4.1	Controle de radicais livres . . . . .	165			
4.7.4.2	Controle de pró-oxidantes . . . . .	170			

4.7.4.3	Controle de intermediários da oxidação . . . . .	170
4.7.4.4	Interações entre antioxidantes . .	171
4.7.4.5	Localização física dos antioxidantes . . . . .	171
4.7.5	Outros fatores que influenciam na velocidade de oxidação de lipídeos . . . .	171
4.7.6	Medição da oxidação de lipídeos . . . . .	172
4.7.6.1	Análise sensorial . . . . .	172
4.7.6.2	Produtos primários da oxidação de lipídeos . . . . .	172
4.7.6.3	Produtos secundários da oxidação de lipídeos . . . . .	173
4.8	Lipídeos de alimentos e saúde . . . . .	174
4.8.1	Bioatividade dos ácidos graxos . . . . .	174
4.8.1.1	Ácidos graxos <i>trans</i> . . . . .	174
4.8.1.2	Ácidos graxos $\omega$ -3 . . . . .	174
4.8.1.3	Ácido linoleico conjugado . . . . .	174
4.8.1.4	Fitoesteróis . . . . .	175
4.8.1.5	Carotenoides . . . . .	175
4.8.2	Lipídeos de baixa caloria . . . . .	175
4.9	Resumo . . . . .	176
	Referências . . . . .	176

## 4.1 INTRODUÇÃO

Os lipídeos são um amplo grupo de compostos quimicamente diversos que são solúveis em solventes orgânicos. Em geral, os alimentos lipídicos são indicados como gorduras (sólidos) ou óleos (líquidos), correspondendo a seu estado físico a uma temperatura ambiente. Os alimentos lipídicos também são classificados como apolares (p. ex., triacilglicerol e colesterol) e polares (p. ex., fosfolipídeos), o que indica diferenças em sua solubilidade e em suas propriedades funcionais. Os lipídeos polares costumam apresentar uma “cabeça” hidrofílica, com alta afinidade por água, ligada a uma “cauda” hidrofóbica, que apresenta alta afinidade por óleos [1]. Os lipídeos surfactantes podem alterar as propriedades de alimentos por meio de uma série de mecanismos físico-químicos, incluindo absorção a interfaces, estabilização de partículas, interação com biopolímeros e modificação da nucleação, do crescimento e da estrutura de cristais [1-5] (ver Capítulo 13, para mais detalhes).

O conteúdo total e a composição de lipídeos em alimentos podem variar muito. Como os lipídeos desempenham um papel importante na qualidade dos alimentos, pois contribuem com atributos como textura, sabor, nutrição e densidade calórica, sua manipulação tem tido uma ênfase especial na pesquisa e no desenvolvimento de alimentos, nas últimas décadas. Essa investigação está focada na alteração da composição de lipídeos, a fim de modificar a textura, alterar a composição de ácidos graxos e colesterol, diminuir o conteúdo total de gordura, alterar a biodisponibilidade e tornar os lipídeos mais estáveis diante da oxidação. Além disso, a estabilidade física deles é importante para a qualidade do alimento, já que muitos lipídeos existem como dispersões/emulsões, sendo termodinamicamente instáveis. Para que se

efetuem mudanças na composição de lipídeos, com garantia de produção de alimentos de alta qualidade, o conhecimento básico das suas propriedades químicas e físicas é indispensável. Este capítulo dará ênfase a composição química dos lipídeos, suas propriedades físicas e comportamento na cristalização, métodos de modificação da composição de ácidos graxos e triacilgliceróis e, portanto, propriedades físico-químicas dos lipídeos, propensão ao sofrimento de deterioração oxidativa e papel dos lipídeos na saúde e nas doenças. Descrições de métodos analíticos para alimentos lipídicos são fornecidas em outras publicações [6,7].

## 4.2 COMPONENTES LIPÍDICOS PRINCIPAIS

A seguinte seção é uma breve descrição da nomenclatura das principais classes de lipídeos encontrados em alimentos. Para mais informações sobre nomenclatura de lipídeos, consulte O’Keefe [8] ou a página na *internet* da International Union for Pure and Applied Chemistry (IUPAC), <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/lipid>.

### 4.2.1 Ácidos graxos

Os componentes principais dos lipídeos são os ácidos graxos, compostos que contêm uma cadeia alifática e um grupo ácido carboxílico. A maioria dos ácidos graxos de ocorrência natural possui número par de carbonos em uma cadeia linear, devido ao processo biológico de alongamento da cadeia, no qual dois carbonos são adicionados cada vez. Exceções de ácidos graxos com número ímpar de carbonos e cadeias ramificadas podem ser encontrados nos microrganismos e na gordura do leite. A maioria dos ácidos graxos da natureza apresenta entre 14 e 24 carbonos. Embora algumas gorduras contenham ácidos graxos com menos de 14 carbonos, níveis significativos de ácidos graxos de cadeia curta são encontrados principalmente em óleos tropicais e na gordura do leite. Os ácidos graxos costumam ser classificados como saturados e insaturados, sendo que os insaturados apresentam ligações duplas. Os ácidos graxos podem ser descritos por nomes sistemáticos, comuns e abreviados.

#### 4.4.1.1 Nomenclatura dos ácidos graxos saturados

A IUPAC tem padronizado as descrições sistemáticas dos ácidos graxos, seu sistema nomeia os hidrocarbonetos parentais do ácido graxo com base no número de carbonos (p. ex., 10 carbonos: decano). Como os ácidos graxos possuem um grupo ácido carboxílico, a terminação *o* do nome do hidrocarboneto é substituída por *oico* (p. ex., decanoico; Tabela 4.1). Muitos dos nomes comuns originaram-se da fonte da qual o ácido graxo foi isolado de forma comum ou tradicional (p. ex., ácido palmítico e óleo de palma). Um sistema numérico pode ser usado para a abreviatura dos nomes. O primeiro número nesse sistema designa o número de carbonos do ácido graxo, enquanto o segundo designa o número de ligações duplas (p. ex., hexadecanoico = palmítico = 16:0). Obviamente, o segundo número será sempre zero para os ácidos graxos saturados.

TABELA 4.1 Nomes sistemáticos, comuns e numéricos dos ácidos graxos encontrados em alimentos

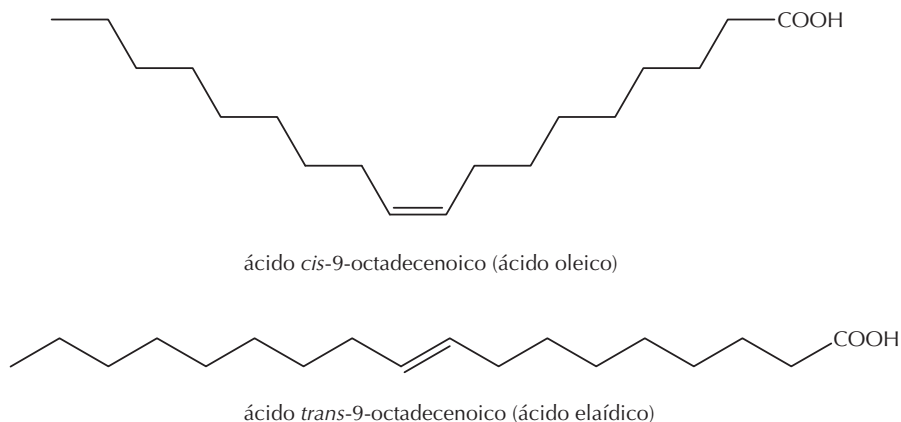
Nome sistemático	Nome comum	Abreviação numérica
<i>Ácidos graxos saturados</i>		
Hexanoico	Caproico	6:0
Octanoico	Caprílico	8:0
Decanoico	Cáprico	10:0
Dodecanoico	Láurico	12:0
Tetradecanoico	Mirístico	14:0
Hexadecanoico	Palmítico	16:0
Octadecanoico	Esteárico	18:0
<i>Ácidos graxos insaturados</i>		
<i>cis</i> -9-octadecenoico	Oleico	18:1 $\Delta$ 9
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12-octadecadienoico	Linoleico	18:2 $\Delta$ 9
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15-octadecatrienoico	Linolênico	18:3 $\Delta$ 9
<i>cis</i> -5, <i>cis</i> -8, <i>cis</i> -11, <i>cis</i> -14-eicosatetraenoico	Araquidônico	20:4 $\Delta$ 5
<i>cis</i> -5, <i>cis</i> -8, <i>cis</i> -11, <i>cis</i> -14, <i>cis</i> -17-eicosapentaenoico	EPA	20:5 $\Delta$ 5
<i>cis</i> -4, <i>cis</i> -7, <i>cis</i> -10, <i>cis</i> -13, <i>cis</i> -16, <i>cis</i> -19-docosa-hexaenoico	DHA	22:6 $\Delta$ 4

#### 4.2.1.2 Nomenclatura dos ácidos graxos insaturados

Os ácidos graxos que contêm ligações duplas em sua cadeia alifática são chamados de ácidos graxos insaturados. No sistema da IUPAC, a designação *anoico* é modificada para *enoico*, como designação da presença de uma ligação dupla (Tabela 4.1). Com base no número de ligações duplas, os termos *di*-, *tri*-, *tetra*- e assim por diante são adicionados. Também existem nomes comuns para ácidos graxos insaturados (com exceção de alguns ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa). Nesse caso, o sistema de abreviações numéricas é similar ao dos ácidos graxos saturados, com o segundo número como indicação do número de ligações duplas (p. ex., octadecadienoico = 18:2). As posições das ligações duplas no sistema IUPAC estão numeradas por delta ( $\Delta$ ), que indica a posição da ligação dupla a partir do ácido carboxílico. Por exemplo, o ácido oleico, que tem 18 carbonos e uma ligação dupla, seria ácido 9-octadecenoico e o ácido linoleico, que tem 18 carbonos e duas ligações duplas, seria ácido 9,12-octadecadienoico. O sistema de numeração alternativa que indica a

posição das ligações duplas a partir do grupo metil terminal do ácido graxo é conhecido como sistema ômega ( $\omega$ ) (em alguns casos, designado pela notação taquigráfica e “*n*”). O sistema  $\omega$  é útil em alguns casos, pois pode agrupar os ácidos graxos, com base em sua atividade biológica e sua origem biossintética, já que muitas enzimas reconhecem os ácidos graxos a partir da terminação metil da molécula, quando esterificada ao glicerol. De fato, os ácidos graxos  $\omega$ -3 geralmente apresentam atividade biológica similar em sua capacidade de diminuir níveis sanguíneos de triacilgliceróis [9].

A configuração natural das ligações duplas em ácidos graxos insaturados é a configuração *cis*. Nesta configuração, os carbonos da cadeia alifática estão do mesmo lado da ligação dupla, enquanto as ligações duplas *trans* teriam os carbonos em lados opostos (Figura 4.1). As ligações duplas em ácidos graxos poli-insaturados (com mais de duas ligações duplas) estão, na maioria dos casos, numa configuração interrompida por grupo metileno, que costuma ser chamada de sistema pentadieno. Neste, as duas ligações duplas encontram-se nos carbonos 1 e 4. Em outras palavras, as ligações duplas não estão conjugadas, mas separadas por um carbono

FIGURA 4.1 Diferenças entre as ligações duplas *cis* e *trans*, em ácidos graxos insaturados.

metilênico (Figura 4.2). Isso significa que as ligações duplas da maioria dos ácidos graxos insaturados estão afastadas por três carbonos (p. ex., 9, 12, 15 octadecatrienoico). Desse modo, é possível que se preveja a posição de todas as ligações duplas na maioria dos ácidos graxos insaturados de ocorrência natural, se a localização da primeira ligação dupla for conhecida. Isso justifica a razão pela qual o sistema de abreviação numérica, em alguns casos, dará apenas o número de ligações duplas e a posição da primeira (p. ex., 9, 12, 15 octadecatrienoico = 18:3,  $\Delta$ 9 = 18:3,  $\omega$ 3).

A presença de ligações duplas influencia no ponto de fusão dos ácidos graxos. As ligações duplas em configuração *cis* farão com que o ácido graxo se organize em uma configuração curvada. Logo, os ácidos graxos insaturados não são lineares, dificultando sua auto-orientação em configurações muito empacotadas. Devido ao impedimento espacial para o empacotamento, as interações de van der Waals entre ácidos graxos insaturados são relativamente fracas. Portanto, esses ácidos ocorrem mais no estado líquido, a temperatura ambiente, ou seja, seu ponto de fusão/temperatura de solidificação é relativamente baixo. Quanto mais ligações duplas forem adicionadas, mais curvada se tornará a molécula, mais fracas as interações de van der Waals e menor o ponto de fusão. Os ácidos graxos com ligações duplas na configuração *trans* são mais lineares que os ácidos graxos na configuração *cis*, o que resulta em um empacotamento mais forte das moléculas e em pontos de fusão mais elevados. Por exemplo, o ponto de fusão do ácido esteárico (octadecanoico) é de aproximadamente 70°C, o do ácido oleico (*cis*-9-octadecenoico) é 5°C e o do ácido eláidico (*trans*-9-octadecenoico) é 44°C [10].

#### 4.2.2 Acilgliceróis

Mais de 99% dos ácidos graxos encontrados em plantas e animais são esterificados com glicerol. Ácidos graxos livres não são comuns em tecidos vivos, pois apresentam citotoxicidade devido a sua capacidade de romper a organização da membrana celular. Quando estão esterificados com glicerol, sua atividade e sua toxicidade diminuem.

Os acilgliceróis existem como mono-, di- e triésteres, sendo conhecidos como monoacilgliceróis, diacilgliceróis e triacilgliceróis, respectivamente. Desses três, os triacilgliceróis são os mais comuns em alimentos, embora mono-

diésteres sejam utilizados, em alguns casos, como aditivos alimentares (p. ex., emulsificantes). O carbono central de um triacilglicerol exibe quiralidade se ácidos graxos diferentes estiverem ligados aos carbonos terminais do glicerol. Por isso, os três carbonos da porção glicerol do triacilglicerol podem ser diferenciados por numeração estereoespecífica (*sn*). Se o triacilglicerol for mostrado em uma projeção planar de Fischer, os carbonos serão numerados de um a três de cima para baixo.

Os triacilgliceróis podem ser nomeados por vários sistemas diferentes. Em geral, eles são chamados pelos nomes comuns dos ácidos graxos. Se o triacilglicerol contiver apenas um ácido graxo (p. ex., ácido esteárico abreviado como St), ele poderá ser chamado de triestearina, triestearato, glicerol triestearato, triestearoil glicerol, StStSt ou 18:0-18:0-18:0. Os triacilgliceróis que contêm diferentes ácidos graxos são chamados de forma outra, dependendo do conhecimento da localização estereoespecífica de cada ácido graxo. A nomenclatura desses triacilgliceróis heterogêneos substitui a terminação *ico* do nome do ácido graxo por *oil*. Se a localização estereoespecífica não for conhecida, um triacilglicerol que contiver ácido palmítico, ácido oleico e ácido esteárico será chamado de palmitoil-oleoil-estearoil-glicerol. De forma alternativa, esse triacilglicerol poderia ser chamado palmito-óleo-estearina ou glicerol-palmito-óleo-estearato. Se a localização estereoespecífica dos ácidos graxos é conhecida, adiciona-se *sn*- ao nome, como em 1-palmitoil-2-oleoil-3-estearoil-*sn*-glicerol, *sn*-1-palmito-2-óleo-3-estearina ou *sn*-glicerol-1-palmito-2-óleo-3-estearato. Se dois dos ácidos graxos forem idênticos, o nome poderá ser encurtado como nos casos de 1,2-dipalmitoil-3-estearoil-*sn*-glicerol, *sn*-1,2-dipalmito-3-estearina ou *sn*-glicerol-1,2-dipalmito-3-estearato. Os triacilgliceróis heterogêneos também podem ser nomeados usando-se abreviações para ácidos graxos, como em PStO ou 16:0-18:0-18:1 (localização estereoespecífica desconhecida) ou *sn*-PStO ou *sn*-16:0-18:0-18:1 (localização estereoespecífica conhecida) para 1-palmitoil-2-estearoil-3-oleoil-*sn*-glicerol.

##### 4.2.2.1 Composição das gorduras

Os lipídeos alimentares apresentam uma ampla variedade de composição de ácidos graxos, conforme mostrado na Tabela 4.2. Diversas tendências gerais podem ser observadas entre os lipídeos. A maioria dos óleos vegetais, em especial os de sementes de oleaginosas, é bastante insaturada, contendo,

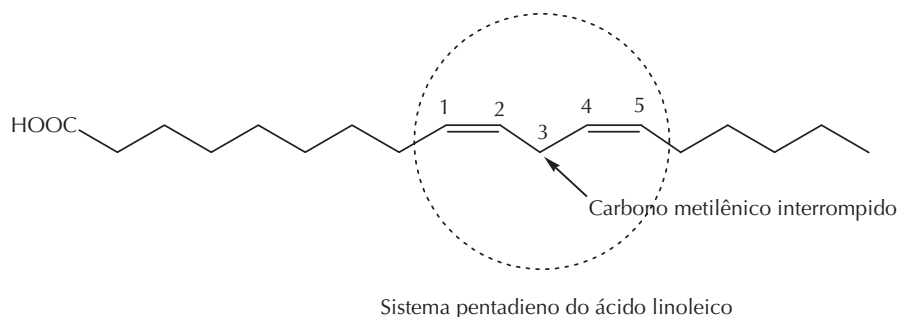


FIGURA 4.2 O sistema pentadieno do ácido graxo poli-insaturado, ácido linoleico.

**TABELA 4.2** Composição de ácidos graxos (% da massa total de ácidos graxos) de alimentos comuns (apenas os ácidos graxos majoritários desses produtos estão listados)

Alimento lipídico	4:0	6:0	8:0	10:0	12:0	14:0	16:0	16:1Δ9	18:0	18:1Δ9	18:2Δ9	18:3Δ9	20:5Δ5	22:6Δ4	Total saturado	Cristal habitual
Oliva							13,7	1,2	2,5	71,1	10,0	0,6			16,2	β
Canola							3,9	0,2	1,9	64,1	18,7	9,2			5,5	β
Milho							12,2	0,1	2,2	27,5	57,0	0,9			14,4	β
Soja				0,1			11,0	0,1	4,0	23,4	53,2	7,8			15,0	β
Semente de linho							4,8		4,7	19,9	15,9	52,7			9,5	β'
Coco		0,5	8,0	6,4	48,5	17,6	8,4		2,5	6,5	1,5				91,9	β
Cacau						0,1	25,8	0,3	34,5	35,3	2,9				60,4	β
Manteiga	3,8	2,3	1,1	2,0	3,1	11,7	26,2	1,9	12,5	28,2	2,9	0,5			62,7	β'
Cordura bovina				0,1	0,1	3,3	25,5	3,4	21,6	38,7	2,2	0,6			50,6	β'
Cordura suína				0,1	0,1	1,5	24,8	3,1	12,3	45,1	9,9	0,1			38,8	β
Frango					0,2	1,3	23,2	6,5	6,4	41,6	18,9	1,3			31,1	β'
Salmão						5,0	15,9	6,3	2,5	21,4	1,1	0,6	1,9	11,9	23,4	β'
Ovos de galinha						0,3	22,1	3,3	7,7	36,6	11,1	0,3			30,1	

Fonte: Todas as composições de ácidos graxos são adaptadas de White, PJ (2000). *Em Fatty Acids in Foods and Their Implications*, 2nd edn. (Chow, C.K., ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 153-174, com exceção do salmão, que é adaptado de Ackman, R.G. (2000). *Em Fatty Acids in Foods and Their Implications*, 2nd edn. (Chow, C.K., ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 153-174.



principalmente, ácidos graxos da série de 18 carbonos. Óleos de oliva e canola são ricos em ácido oleico, óleos de milho e soja são ricos em ácido linoleico e o óleo de semente de linho é rico em ácido linolênico. Os triacilgliceróis de origem vegetal que contêm quantidade elevada de ácidos graxos saturados incluem a manteiga de cacau e os óleos tropicais (p. ex., coco). Os óleos de palma e de coco são únicos por seu elevado conteúdo de ácidos graxos de cadeia intermediária 8:0 a 14:0, com 12:0 de predominância. O nível de ácidos graxos saturados em gorduras e óleos de animais costumam seguir a ordem da gordura do leite > ovelha > boi > porco > frango > peru > peixes marinhos, sendo os ácidos palmítico e esteárico os principais ácidos graxos saturados. A composição de ácidos graxos das gorduras animais depende do sistema digestivo de cada animal, sendo que a gordura de não ruminantes (p. ex., frango, suínos e pescados) é parcialmente dependente da composição de ácidos graxos da dieta. Um exemplo disso são os produtos suínos, como o presunto ibérico, em que os regimes dietéticos são manipulados para que se produza banha com conteúdo elevado de ácido oleico. Entre os não ruminantes, os triacilgliceróis de animais marinhos são únicos, devido a seu elevado conteúdo de ácidos graxos  $\omega$ -3, eicosapentaenoico e docosa-hexaenoico. Em ovelhas e vacas, os ácidos graxos da dieta são sujeitos à bio-hidrogenação por enzimas microbianas do rúmen. Isso resulta na conversão de ácidos graxos insaturados em saturados, podendo, ainda, produzir ácidos graxos com ligações duplas conjugadas, como o ácido linoleico conjugado (ALC). Como os ruminantes consomem quase só lipídeos de origem vegetal, nos quais os ácidos graxos são principalmente da série de 18 carbonos, o produto final da rota de bio-hidrogenação é o ácido esteárico. Portanto, a manteiga e a gordura das carnes bovina e ovina contêm maior conteúdo de ácido esteárico que a gordura de não ruminantes. As bactérias do rúmen são únicas em sua propriedade de fermentar carboidratos a acetato e  $\beta$ -hidroxibutirato. Na glândula mamária, esses substratos são convertidos em ácidos graxos, resultando em uma gordura da manteiga com alta concentração de ácidos graxos saturados de cadeia curta (4:0 e 6:0), os quais não são encontrados em outros triacilgliceróis de alimentos. As bactérias do rúmen também promovem a formação de cetoácidos, hidroxíácidos e ácidos graxos ramificados. Devido ao impacto das bactérias do rúmen sobre os ácidos graxos, a gordura da manteiga contém centenas de ácidos graxos diferentes.

A localização estereoespecífica dos ácidos graxos também pode variar nos triacilgliceróis dos alimentos. Os triacilgliceróis em algumas gorduras como sebo (gordura da carne), óleo de oliva e óleo de amendoim apresentam a maioria de seus ácidos graxos distribuídos de forma homogênea entre as três posições do glicerol. Entretanto, algumas gorduras podem ter comportamentos muito específicos, em termos da localização estereoespecífica dos ácidos graxos. Muitos triacilgliceróis de origem vegetal possuem ácidos graxos (poli)insaturados, concentrados na posição *sn*-2. O melhor exemplo disso é a manteiga de coco, na qual mais de 85% do ácido oleico encontra-se em *sn*-2, com os ácidos palmítico e esteárico distribuídos de maneira homogênea, em *sn*-1 e *sn*-3. Os triacilgliceróis de algumas gorduras animais tendem a ter ácidos graxos satura-

dos concentrados em *sn*-2. Nesse sentido, o ácido palmítico encontra-se principalmente na posição *sn*-2, na gordura do leite e na banha (gordura suína). A localização estereoespecífica de um ácido graxo pode ser um determinante importante de seu impacto nutricional. Quando os triacilgliceróis são digeridos no intestino, os ácidos graxos provenientes de *sn*-1 e *sn*-3 são liberados pela lipase pancreática, resultando em dois ácidos graxos livres e um monoacilglicerol *sn*-2. Se ácidos graxos saturados de cadeia longa encontram-se em *sn*-1 e *sn*-3, sua biodisponibilidade é menor, pois os ácidos graxos livres podem formar sais insolúveis de cálcio após a hidrólise realizada pela lipase pancreática. Portanto, a localização de ácidos graxos de cadeia longa saturada em *sn*-2 na gordura do leite pode ser um mecanismo de garantia que tais ácidos sejam absorvidos por crianças. Como os ácidos graxos localizados em *sn*-1 e *sn*-3 são absorvidos com pouca eficiência, eles fornecem menos calorias [13], causando menor impacto sobre o perfil dos lipídeos sanguíneos. Por exemplo, quando a banha apresenta seus ácidos graxos distribuídos de forma aleatória e, portanto, apresenta mais ácido palmítico em *sn*-1 e *sn*-3, há menor aumento do conteúdo plasmático de ácido palmítico que na banha não modificada, a qual tem 65% do ácido palmítico em *sn*-2. Os triacilgliceróis estruturados, como o Salatrim, têm menos calorias que a gordura normal, pois apresentam uma elevada concentração de ácido esteárico (18:0) em *sn*-1 e *sn*-3 (ver Seção 4.8.2).

### 4.2.3 Fosfolipídeos

Os fosfolipídeos ou fosfoglicerídeos são modificações dos triacilgliceróis, nas quais os grupos fosfato costumam ser encontrados na posição *sn*-3 (consultar as estruturas de fosfolipídeos na Figura 4.3). O fosfolipídeo mais simples é o ácido fosfatídico (PA), no qual o grupo substituinte no fosfato, em *sn*-3, é um  $-OH$ . Outras modificações do grupo substituinte do fosfato em *sn*-3 resultam na fosfatidilcolina (PC), na fosfatidilserina (PS), na fosfatidiletanolamina (PE) e no fosfatidilinositol (PI) (Figura 4.3). A nomenclatura é similar a dos triacilgliceróis, com o nome e a localização do grupo fosfato no final do nome (p. ex., 1-palmitoil-2-estearoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina). O termo “liso” significa que um ácido graxo foi removido do fosfolipídeo. Na indústria de alimentos, lisofosfolipídeo geralmente indica um fosfolipídeo do qual o ácido graxo foi removido da posição *sn*-2. A nomenclatura oficial requer que a localização estereoespecífica do ácido graxo removido seja nomeada (p. ex., 2-lisofosfolipídeos, IUPAC). A PC costuma ser chamada de lecitina na indústria de alimentos, entretanto a lecitina comercializada como aditivo alimentar geralmente não é PC pura. De fato, ela contém uma mistura de diferentes fosfolipídeos, bem como outros componentes.

A presença do grupo fosfato altamente polar nos fosfolipídeos os torna compostos surfactantes. A atividade de superfície permite que os fosfolipídeos se organizem em bicamadas, as quais são determinantes para as propriedades das membranas biológicas. Como as membranas celulares necessitam manter sua fluidez, os ácidos graxos presentes nos fosfolipídeos geralmente são insaturados a fim de que

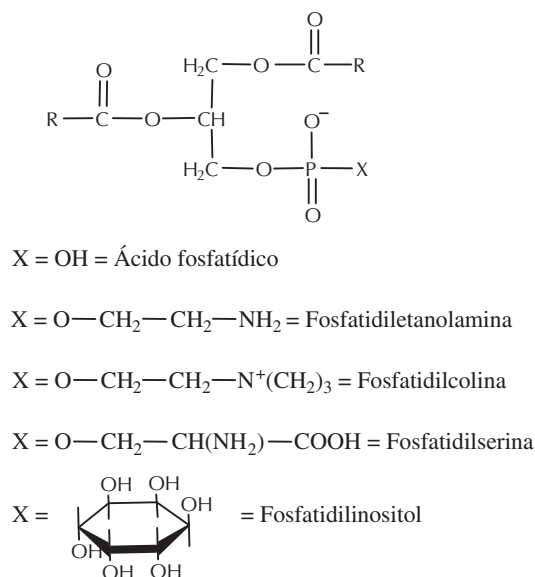


FIGURA 4.3 Estruturas de fosfolipídeos que costumam ser encontrados em alimentos.

se previna a cristalização à temperatura ambiente. Os ácidos graxos na posição *sn*-2 costumam ser mais insaturados que os da posição *sn*-1. Os ácidos graxos da posição *sn*-2 podem ser liberados por fosfolipases, podendo, então, ser utilizados como substratos de enzimas como as cicloxigenases e as lipoxigenases (LOX). A atividade surfactante dos fosfolipídeos faz com que eles possam ser utilizados para a modificação das propriedades físicas de lipídeos, atuando como emulsificantes, bem como para a modificação do comportamento de cristalização de lipídeos.

#### 4.2.4 Esfingolipídeos

Os esfingolipídeos são lipídeos que normalmente contêm uma base esfingosina. Os esfingolipídeos mais comuns são esfingomielina (um esfingofosfolipídeo; Figura 4.4), ceramidas, cerebrosídeos e gangliosídeos. Esses lipídeos costumam ser encontrados em associação a membranas celulares, em especial no tecido nervoso. No geral, eles não são componentes majoritários dos lipídeos alimentares.

#### 4.2.5 Esteróis

Os esteróis são derivados dos esteroides. Esses lipídeos apolares sempre apresentam três anéis de seis carbonos e um

anel de cinco carbonos que está ligado a uma cadeia alifática (Figura 4.5). Os esteróis têm um grupo hidroxila ligado ao carbono 3 do anel A. Ésteres de esteróis são esteróis com um ácido graxo esterificado, no grupo hidroxila do carbono 3. Os esteróis são encontrados tanto em plantas (fitoesteróis) quanto em animais (zooesteróis). O colesterol é o principal esteroide encontrado nos lipídeos de origem animal. Os lipídeos de origem vegetal contêm inúmeros esteróis, sendo que o  $\beta$ -sitosterol e o estigmasterol são predominantes. O colesterol pode ser encontrado em plantas como um esteroide minoritário. O grupo hidroxila no carbono 3 dos esteróis faz com que esses compostos sejam surfactantes. O colesterol pode, portanto, orientar-se em membranas celulares, nas quais desempenha importância na estabilização da estrutura da membrana. O colesterol também é importante por ser o precursor para a síntese de sais biliares, e o 7-deidrocolesterol é o precursor na produção da vitamina D na pele, por meio da irradiação ultravioleta (UV) [14]. Altos níveis de colesterol no sangue e, em particular, colesterol alto em lipoproteínas de baixa densidade (LDL), têm sido associados ao aumento do risco de doenças cardiovasculares. Por esse motivo, recomenda-se a redução de colesterol na dieta, o que pode ser alcançado pela redução de gordura animal na dieta e/ou por remoção do colesterol de gorduras animais por extração supercrítica, com dióxido de carbono ou destilação molecular. Os fitoesteróis da dieta diminuem a absorção de

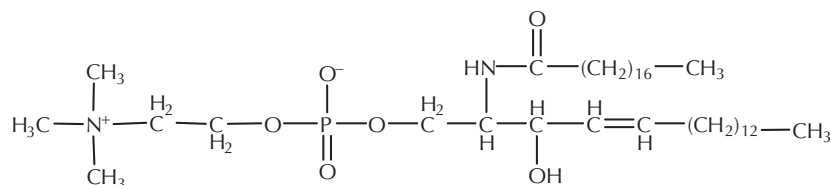


FIGURA 4.4 Estrutura da esfingomielina, um esfingolipídeo típico.

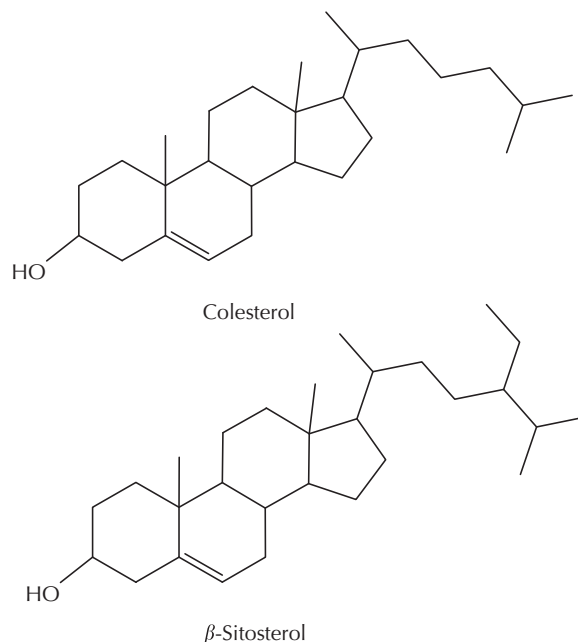


FIGURA 4.5 Estrutura de esteróis de ocorrência comum em alimentos.

colesterol no intestino e, portanto, têm sido adicionados a alimentos a fim de se reduzir os níveis sanguíneos de colesterol (ver Seções 4.8.1.1.1 – 4.8.1.1.4).

#### 4.2.6 Ceras

A definição química estrita para a cera é: éster de um ácido de cadeia longa, com um álcool de cadeia longa. De fato, as ceras industriais e alimentares são uma combinação de classes químicas, incluindo ceras ésteres, ésteres de esteróis, cetonas, aldeídos, álcoois, hidrocarbonetos e esteróis [14]. As ceras podem ser classificadas de acordo com sua origem, como animal (cera de abelha), vegetal (cera de carnaúba) e mineral (cera de petróleo). As ceras são encontradas na superfície de tecidos vegetais e animais, e sua função é inibir a perda de água ou repelir a água. As ceras costumam ser adicionadas à superfície de frutas para retardar sua desidratação durante o armazenamento.

#### 4.2.7 Lipídeos diversos

Outros lipídeos alimentares são as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e os carotenoides, os quais serão abordados em outras seções deste livro.

### 4.3 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS LIPÍDEOS

Esta seção é especialmente dedicada às propriedades físicas dos lipídeos e a sua influência sobre propriedades dos alimentos. Em particular, haverá uma análise de como a estrutura molecular e a organização dos lipídeos determinam

suas propriedades funcionais (p. ex., características de fusão, morfologia de cristal e interações) e como essas propriedades funcionais determinam as propriedades físico-químicas e sensoriais dos produtos alimentícios (p. ex., textura, estabilidade, aparência e sabor).

Embora existam diferentes categorias de lipídeos nos sistemas alimentares, esta seção se concentrará, em particular, nos triacilgliceróis, devido a sua abundância natural e sua importância principal em produtos alimentícios. Como já foi mencionado, os triacilgliceróis são ésteres de uma molécula de glicerol e três moléculas de ácidos graxos, sendo que cada ácido graxo pode ter um número diferente de átomos de carbono, grau de insaturação e ramificação (Seção 4.2). O fato de existir muitos tipos diferentes de ácidos graxos e de poderem estar localizados em diferentes posições na molécula do glicerol, significa que os alimentos podem conter uma grande variedade de triacilgliceróis diferentes entre si. De fato, as gorduras e os óleos comestíveis sempre apresentam uma grande variedade de moléculas ou “espécies” de triacilgliceróis diferentes, sendo que o tipo e a concentração dependem de sua origem [15-17].

Os triacilgliceróis têm uma estrutura de “garfo-torcido”, com dois dos ácidos graxos nos terminais da molécula de glicerol apontando para a mesma direção e o ácido graxo da posição *sn-2* apontando para a direção oposta (Figura 4.6). Os triacilgliceróis são moléculas predominantemente apolares e, portanto, os tipos de interações moleculares mais importantes, responsáveis por sua organização estrutural, são atrações de van der Waals e impedimento espacial [18]. As interações entre duas moléculas podem ser descritas por meio do potencial de par intermolecular  $w(s)$ , que é a medida da força de atração ou repulsão entre as moléculas em uma determinada separação  $s$  (Figura 4.7). Em dada separação molecular ( $s^*$ ), existe um mínimo no potencial de par inter-



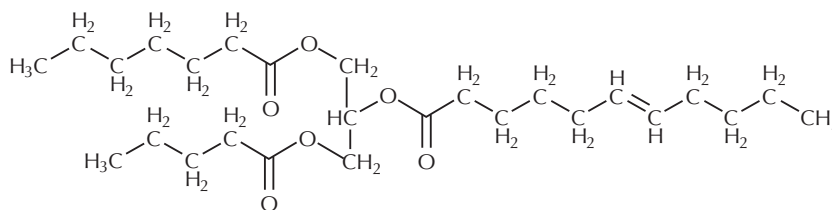


FIGURA 4.6 Estrutura química de uma molécula de triacilglicerol, a qual consiste de três ácidos graxos e uma molécula de glicerol.

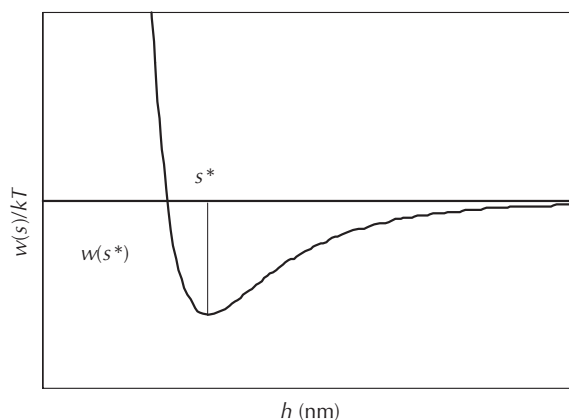


FIGURA 4.7 A força de interações atrativas entre moléculas lipídicas depende da profundidade do mínimo sobre o potencial geral de interação molecular.

molecular, o qual indica que esse é o estado mais estável. O valor de  $s^*$  fornece a medida da distância média entre triacilgliceróis, enquanto a depressão do par potencial nesse valor ( $w(s^*)$ ) fornece a medida das forças atrativas que mantêm as moléculas unidas, nos estados líquido e sólido (Figura 4.7). A organização estrutural das moléculas de triacilgliceróis é determinada principalmente por seu estado físico, o qual depende do equilíbrio entre as interações de atração molecular e da influência desagregadora da energia térmica. Os lipídeos existem como líquidos acima de seu ponto de fusão e como sólidos em temperaturas em níveis abaixo de seu ponto de fusão, suficientes para superação dos diversos efeitos de super-resfriamento (ver adiante).

As moléculas lipídicas podem assumir diversos tipos de organização estrutural diferentes, tanto em estado líquido como sólido, dependendo de suas características moleculares exatas (p. ex., extensão da cadeia, grau de insaturação, polaridade) [19,20]. No estado sólido, a organização das moléculas lipídicas pode ocorrer de diversas maneiras, incluindo organização geral das moléculas de triacilgliceróis em relação umas às outras, ângulo de inclinação das moléculas dentro da estrutura do cristal e empacotamento das cadeias de hidrocarbonetos. Essas diferenças indicam que os cristais de gordura podem existir de diversas formas cristalinas polimórficas (o que será discutido adiante), as quais apresentam propriedades físicas e comportamentos de fusão diferentes. Mesmo no estado líquido, os triacilgliceróis não se encontram orientados de forma aleatória, mas apresentam uma ordem que permite a auto-organiza-

ção das moléculas lipídicas em entidades estruturais (p. ex., estruturas lamelares) [19,21]. Acredita-se que o tamanho e o número dessas entidades estruturais diminuam conforme a temperatura aumenta.

Deve-se notar que se convencionou o uso do termo *gordura* como referência aos lipídeos em estado sólido, à temperatura ambiente, enquanto o termo *óleo* é utilizado como referência a lipídeos em estado líquido, embora, em geral, ambos os termos sejam usados com intercambialidade [22,23].

### 4.3.1 Propriedades físicas dos triacilgliceróis

As propriedades físicas de gorduras e óleos comestíveis dependem, em especial, de sua estrutura molecular, suas interações e da organização das moléculas de triacilgliceróis que eles contêm [20,23-28]. Em particular, a força das interações de atração entre as moléculas e a efetividade de seu empacotamento em uma fase condensada determinam muito seu comportamento térmico, sua densidade e suas propriedades reológicas (Tabela 4.3).

#### 4.3.1.1 Propriedades reológicas

A maioria dos óleos são líquidos newtonianos com viscosidades intermediárias, geralmente entre 30 e 60 mPa s, a temperatura ambiente [24,29]. Entretanto, o óleo de mamona tende a apresentar uma viscosidade muito maior, em comparação à maioria dos óleos, pois ele contém uma fração consi-

**TABELA 4.3** Comparação entre algumas propriedades físico-químicas de um óleo líquido (Trioleína) e água a 20°C

	Óleo	Água
Massa molecular	885	18
Ponto de fusão (°C)	5	0
Densidade (kg m <sup>-3</sup> )	910	998
Compressibilidade (m s <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	5,03 × 10 <sup>-10</sup>	4,55 × 10 <sup>-10</sup>
Viscosidade (mPa s)	≈ 50	1,002
Condutividade térmica (W m <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )	0,170	0,598
Calor específico (J kg <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )	1.980	4.182
Coefficiente de expansão térmica (°C <sup>-1</sup> )	7,1 × 10 <sup>-4</sup>	2,1 × 10 <sup>-4</sup>
Constante dielétrica	3	80,2
Tensão superficial (mN m <sup>-1</sup> )	≈ 35	72,8
Índice de refração	1,46	1,333

derável de ácidos graxos com grupamento álcool ao longo de seu esqueleto de hidrocarboneto (p. ex., ácido ricinolênico), o qual é capaz de formar pontes de hidrogênio relativamente fortes com moléculas vizinhas [24]. A viscosidade do óleo líquido tende a diminuir aos poucos com o aumento da temperatura, e pode ser descrita, de forma adequada, por uma correlação logarítmica [29].

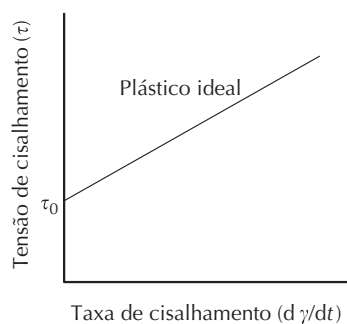
A maioria das “gorduras sólidas” de fato consiste de uma mistura de cristais de gordura dispersos em uma matriz de óleo líquido. As propriedades reológicas dessas gorduras sólidas são muito dependentes de concentração, morfologia, interações e organização dos cristais de gordura presentes no sistema [20,23]. As gorduras sólidas costumam exibir um tipo de comportamento reológico conhecido como “plasticidade”. Nesse caso, o material plástico comporta-se como sólido sob a aplicação de uma tensão crítica, conhecida como tensão inicial de cisalhamento ( $\tau_0$ ), mas se comporta como um líquido acima dessa tensão. O comportamento reológico de um material plástico ideal, conhecido como *Plástico de Bingham*, é mostrado na Figura 4.8. Para a aplicação de uma tensão de *cisalhamento*, as características reológicas desse tipo de material podem ser descritas pela seguinte equação [23]:

$$\tau = G\gamma \quad (\text{para } \tau < \tau_0) \quad (4.1)$$

$$\tau - \tau_0 = \eta\dot{\gamma} \quad (\text{para } \tau \geq \tau_0) \quad (4.2)$$

onde  $\tau$  é a tensão de cisalhamento aplicada,  $\gamma$  é a deformação resultante,  $\dot{\gamma}$  é a taxa de deformação,  $G$  é o módulo de cisalhamento (relacionado à resistência ou à rigidez do material, em resposta à força de cisalhamento),  $\eta$  é a viscosidade e  $\tau_0$  é a tensão inicial de cisalhamento (ponto no qual o material começa a fluir). Na prática, as gorduras sólidas tendem a exibir um comportamento de plástico não ideal. Por exemplo, acima da  $\tau_0$  a gordura pode não fluir como um líquido ideal, exibindo um comportamento não newtoniano (p. ex., afinamento por cisalhamento). Abaixo da tensão inicial de cisalhamento, a gordura pode não se comportar como um sólido ideal, exibindo algumas características de fluidez (p. ex., viscoelasticidade). Além disso, a tensão inicial de cisalhamento pode não ocorrer a um valor claramente definido, mas dentro de um intervalo de tensão aplicada, pois há uma ruptura gradual da estrutura da rede cristalina de gordura [30]. A tensão inicial de cisalhamento de uma gordura tende a crescer com o aumento do conteúdo de gordura sólida (SFC), tendendo, ainda, a ser maior para morfologias cristalinas que são capazes de formar redes tridimensionais que se estendem pelo volume do sistema com maior facilidade (p. ex., cristais pequenos em forma de agulha). Uma abordagem detalhada das características de gorduras plásticas foi publicada recentemente [23].

A origem estrutural do comportamento plástico das gorduras sólidas pode ser atribuída a sua capacidade de formar



**FIGURA 4.8** Um material plástico ideal (*Plástico de Bingham*) comporta-se como sólido sob a aplicação de uma tensão crítica, conhecida como tensão inicial de cisalhamento ( $\tau_0$ ), mas comporta-se como líquido acima dessa tensão.

redes tridimensionais de pequenos cristais de gordura dispersos, em matrizes de óleo líquido [23,31]. Sob determinada aplicação de tensão, existe uma pequena deformação da amostra, mas as ligações fracas entre os cristais de gordura não são rompidas. Quando a tensão inicial de cisalhamento é ultrapassada, as ligações fracas são rompidas e os cristais de gordura deslizam um contra o outro, conduzindo à fluidez da amostra. Uma vez que a força é removida, o fluxo para e os cristais de gordura começam a formar ligações com seus vizinhos novamente. A taxa em que esse processo ocorre pode ter implicações econômicas para a funcionalidade do produto. A influência das características reológicas dos triacilgliceróis sobre as propriedades físico-químicas e sensoriais dos alimentos será descrita adiante.

#### 4.3.1.2 Densidade

A densidade de um lipídeo é definida como a massa de material requerida para ocupação de um determinado volume [32]. Essa informação costuma ser importante para o delineamento de operações de processamento de alimentos, já que ela determina a quantidade de material que pode ser armazenado em um tanque ou fluir ao longo de uma tubulação de volume determinado. A densidade dos lipídeos também é importante para algumas aplicações em alimentos, pois ela influencia nas propriedades gerais do sistema, por exemplo, a taxa de coalescência de gotas de óleo em emulsões óleo em água (O/W) depende da diferença de densidade entre o óleo e a fase aquosa [33]. As densidades dos óleos líquidos tendem a estar entre 910-930 kg m<sup>-3</sup>, à temperatura ambiente, tendendo a diminuir com o aumento da temperatura [24]. As densidades de gorduras totalmente sólidas costumam estar a cerca de 1.000-1.060 kg m<sup>-3</sup>. Elas também diminuem com o aumento da temperatura [24]. Em muitos alimentos, a gordura é parcialmente cristalina, desse modo, a densidade depende do SFC, ou seja, da fração de gordura total que está solidificada. A densidade de uma gordura parcialmente cristalina tende a aumentar conforme o SFC aumenta, por exemplo, após resfriamento abaixo da temperatura de cristalização. Medições da densidade de uma gordura parcialmente cristalina podem, portanto, ser usadas em alguns casos, a fim de determinar seu SFC.

A densidade de um lipídeo em particular depende, em primeiro lugar, da eficiência do empacotamento de suas moléculas de triacilgliceróis: quanto mais eficiente o empacotamento, maior a densidade. Logo, os triacilgliceróis que contêm ácidos graxos saturados lineares são capazes de empacotar com mais eficiência, em comparação aos que contêm ácidos graxos ramificados ou insaturados e, portanto, tendem a apresentar densidades superiores [22,23]. O motivo pelo qual as gorduras sólidas tendem a ter maior densidade que os óleos líquidos também se deve ao fato de que as moléculas costumam empacotar com mais eficiência. No entanto, isso nem sempre ocorre [34]. Por exemplo, em sistemas lipídicos que contêm elevadas concentrações de triacilgliceróis puros, os quais cristalizam em um intervalo estreito de temperatura, é demonstrado que a densidade do sistema lipídico como um todo diminui, de fato, com a cristalização, em decorrência da formação de vazios.

*Propriedades térmicas:* As propriedades térmicas mais importantes dos lipídeos, do ponto de vista prático, são o calor específico (Cp), a condutividade térmica ( $\kappa$ ), o ponto de fusão ( $T_{mp}$ ) e a entalpia de fusão ( $\Delta H_f$ ) [24]. Essas características térmicas determinam o conteúdo total de calor que deve ser fornecido (ou removido) de um sistema lipídico, a fim de alterar sua temperatura de um valor para outro, bem como a taxa na qual esse processo será alcançado. Os calores específicos de muitos óleos líquidos e gorduras sólidas encontram-se por volta de 2 J g<sup>-1</sup>, elevando-se com o aumento da temperatura [24]. Os lipídeos são condutores de calor relativamente pobres e costumam apresentar condutividades térmicas menores ( $\sim 0,165$  W m<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) que as da água ( $\sim 0,595$  W m<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>). Informações detalhadas sobre as propriedades térmicas de diferentes tipos de lipídeos líquidos e sólidos têm sido abordadas em outras publicações [24,29]. Valores representativos estão incluídos na Tabela 4.3.

O ponto de fusão e o calor de fusão de um lipídeo dependem do empacotamento das moléculas do triacilglicerol dentro dos cristais formados: quanto mais efetivo o empacotamento, maiores o ponto de fusão e a entalpia de fusão [18,23]. Portanto, os pontos de fusão e os calores de fusão de triacilgliceróis puros tendem a aumentar com o crescimento do tamanho da cadeia. Eles são maiores (1) para ácidos graxos saturados, em comparação a ácidos graxos insaturados; (2) maiores para ácidos graxos de cadeia linear, em relação a ácidos graxos ramificados; (3) maiores para triacilgliceróis com distribuição mais simétrica de ácidos graxos na molécula do glicerol; (4) maiores para formas insaturadas *trans*, em comparação a *cis* (Tabela 4.4); e (5) maiores para formas polimórficas mais estáveis (o que será discutido adiante). A cristalização de lipídeos é um dos fatores mais importantes para a determinação de sua influência sobre as propriedades físico-químicas e sensoriais de alimentos e, portanto, será tratada com mais detalhes na próxima seção.

Para algumas aplicações, o conhecimento da temperatura em que um lipídeo inicia a decomposição devido à degradação térmica é importante (p. ex., fritura ou cozimento). A estabilidade térmica dos lipídeos pode ser caracterizada por seus pontos de fumaça, ignição e chama [32]. O *ponto de fumaça* é a temperatura na qual a amostra começa liberar fumaça quando testada sob condições específicas. O *ponto de ignição* é a temperatura na qual os produtos voláteis gerados pelo lipídeo estão sendo produzidos em uma taxa na qual podem ser temporariamente inflamados por aplicação de uma chama, mas não podem sustentar a combustão. O *ponto de chama* é a temperatura na qual a evolução de voláteis, decorrente da decomposição térmica, ocorre com tanta rapidez que a combustão contínua poder ser sustentada após exposição à chama. As medições dessas temperaturas são particularmente importantes ao se selecionar lipídeos para serem usados em temperaturas elevadas (p. ex., fritura ou cozimento). A estabilidade térmica de triacilgliceróis é muito maior que a dos ácidos graxos, logo a propensão de lipídeos à degradação durante o aquecimento é, em grande parte, determinada pela quantidade de material orgânico volátil que eles contêm, incluindo ácidos graxos livres [32].

**TABELA 4.4** Pontos de fusão e calores de fusão das formas polimórficas mais estáveis, de moléculas de triacilgliceróis selecionadas

Triacilglicerol	Ponto de fusão (°C)	$\Delta H_f$ (J g <sup>-1</sup> )
LLL	46	186
MMM	58	197
PPP	66	205
SSS	73	212
OOO	5	113
LiLiLi	-13	85
LnLnLn	-24	-
SOS	43	194
SOO	23	-

L = ácido láurico (C12:0), M = ácido mirístico (C14:0), P = ácido palmítico (C16:0), S = ácido esteárico (C18:0), O = ácido oleico (C18:1), Li = ácido linoleico (C18:2), Ln = ácido linolênico (C18:3).

Fonte: Adaptada de Walstra, P. (2003). *Physical Chemistry of Foods*, Marcel Dekker, Inc., New York, NY.

**Propriedades ópticas:** O conhecimento das propriedades ópticas dos lipídeos é importante para os químicos de alimentos, por uma série de razões. A princípio, as propriedades ópticas dos lipídeos influenciam na aparência geral de muitos alimentos [35]. Em segundo lugar, algumas propriedades ópticas dos lipídeos (p. ex., índice de refração e espectro de absorção) podem ser usadas para a obtenção de informações relevantes sobre sua composição e sua qualidade [24,32]. As propriedades ópticas mais importantes dos lipídeos são seus índices de refração e espectro de absorção. Os índices de refração de óleos líquidos costumam cair no intervalo entre 1,43 e 1,45 à temperatura ambiente [24]. O índice de refração de um óleo em particular, em primeiro lugar é determinado pela estrutura molecular dos ácidos graxos que ele contém. O índice de refração tende a aumentar com o crescimento da extensão da cadeia, aumento do número de ligações duplas e aumento da conjugação de ligações duplas [24]. Equações empíricas têm sido desenvolvidas a fim de relacionar a estrutura molecular dos lipídeos a seus índices de refração [24]. Logo, as medições do índice de refração de óleos líquidos podem ser usadas para a obtenção de algumas informações sobre massa molecular aproximada e grau de insaturação dos ácidos graxos que eles contêm. As medidas do espectro de absorção UV visível de óleos podem também fornecer informações importantes sobre sua composição, sua qualidade ou suas propriedades moleculares (p. ex., presença de ligações duplas conjugadas, carotenoides ou clorofilas) [32]. Por exemplo, dienos conjugados absorvem luz UV em 232 nm, enquanto trienos conjugados absorvem próximo de 270 nm.

O espectro de absorção de um óleo também pode exercer influência significativa sobre a aparência final de um produto alimentício. Os triacilgliceróis puros apresentam pouca cor inerente, pois não contêm grupos que absorvem luz na região visível do espectro eletromagnético. Entretanto, os óleos comerciais costumam apresentar cor devido a seu conteúdo significativo de pigmentos que absorvem luz (p. ex., carotenoides e clorofila). Por esse motivo, os óleos comestíveis costumam passar por uma etapa de despigmentação durante seu refino. No caso das emulsões alimentares,

os lipídeos também podem contribuir para a opacidade do produto, em virtude de sua capacidade de refletir luz, o que é resultado direto da diferença do índice de refração entre a fase lipídica e a fase aquosa.

**Propriedades elétricas:** O conhecimento das propriedades elétricas dos lipídeos é importante em alguns casos, pois diversas técnicas analíticas usadas para a análise de alimentos lipídicos baseiam-se em medições de suas características elétricas, por exemplo, a determinação das medidas da concentração de gordura por condutividade elétrica ou a determinação do tamanho de gotículas de gordura por contagem de pulso elétrico [33]. Os lipídeos costumam apresentar constantes dielétricas relativamente baixas ( $\epsilon_R \approx 2-4$ ) em decorrência da baixa polaridade das moléculas de triacilgliceróis (Tabela 4.3). A constante dielétrica de triacilgliceróis puros tende a aumentar com o crescimento da polaridade (p. ex., pela presença de grupos -OH ou devido à oxidação) e com a diminuição da temperatura [24]. Além disso, os lipídeos tendem a ser condutores de eletricidade fracos, apresentando resistência elétrica relativamente elevada.

### 4.3.2 Cristalização e derretimento de lipídeos alimentares

O estado físico (sólido ou líquido) dos lipídeos desempenha um papel importante na produção de muitos alimentos, sendo determinante para atributos de qualidade final [20]. Por exemplo, as propriedades físico-químicas e sensoriais gerais de produtos como margarina, sorvete, nata batida e produtos assados são muito influenciadas pelo comportamento de cristalização dos lipídeos que eles contêm. O desenvolvimento de produtos alimentícios com propriedades desejáveis depende, portanto, do conhecimento dos fatores principais que influenciam na cristalização e na fusão de lipídeos em alimentos [19,23,26].

**Conteúdo de gordura sólida:** Em geral, o estado físico dos lipídeos em determinado alimento é caracterizado por ter-



mos do SFC, que é a fração (0-1) ou a porcentagem (0-100%) de lipídeos que se encontram em estado sólido em dada temperatura. A dependência de temperatura do SFC é um dos critérios mais importantes para a seleção de lipídeos para realização de uma aplicação em particular, pois ela é muito influente na eficiência do processo de produção e nas propriedades finais de muitos alimentos lipídicos. O comportamento de fusão de um triacilglicerol puro é mostrado por um esquema na Figura 4.9. O SFC cai de 100 a 0% quando a temperatura aumenta do ponto abaixo para o ponto acima do ponto de fusão (Figura 4.9). Para um triacilglicerol puro, a transição de sólido para líquido ocorre dentro de um intervalo estreito de temperaturas próximas ao ponto de fusão ( $T_{mp}$ ). O ponto de fusão de um triacilglicerol puro depende do comprimento da cadeia, ramificação e grau de insaturações de seus ácidos graxos constituintes, bem como de suas posições relativas, ao longo da molécula de glicerol (Tabela 4.4). As gorduras comestíveis apresentam uma mistura complexa de diversos tipos de moléculas de triacilgliceróis, cada qual com um ponto de fusão diferente e, portanto, podem fundir-se normalmente dentro de um amplo intervalo de temperaturas, e não apenas em uma temperatura distinta, como seria o caso de um triacilglicerol puro (Figura 4.9). Como já foi mencionado, as propriedades reológicas “plásticas” desejáveis de gorduras comestíveis costumam ocorrer em um intervalo de temperaturas no qual os lipídeos encontram-se parcialmente cristalinos (“intervalo plástico”).

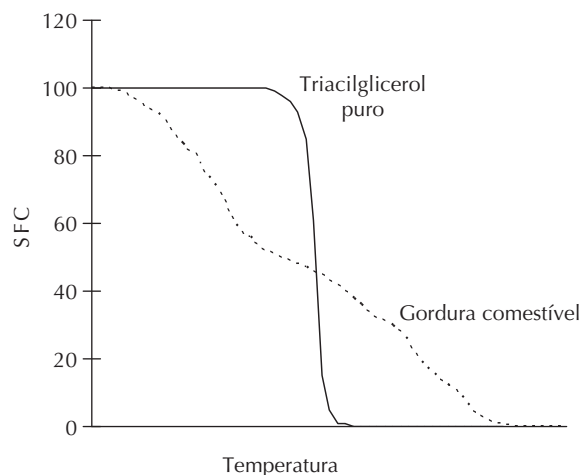
O perfil de fusão de uma gordura comestível não é apenas a soma ponderada dos perfis de fusão de seus triacilgliceróis constituintes, pois triacilgliceróis de alto ponto de fusão são solúveis nos de baixo ponto de fusão [27]. Por exemplo, em uma mistura 50:50 de triestearina e trioleína é possível dissolver 10% de triestearina sólida em trioleína líquida a 60°C [22,28]. A solubilidade de um componente sólido em um componente líquido pode ser predita, assumindo-se que eles apresentam pontos de fusão bastante diferentes (>20°C):

$$\ln x = \frac{\Delta H_{fus}}{R} \left[ \frac{1}{T_{mp}} - \frac{1}{T} \right] \quad (4.3)$$

Nesse caso,  $x$  é a solubilidade, expressa como fração molar do componente com maior ponto de fusão no componente de menor ponto de fusão;  $\Delta H_{fus}$  é a entalpia molar de fusão [22]. Além disso, as características de fusão dos alimentos lipídicos dependem da natureza dos cristais de gordura existentes (p. ex., solução sólida ou cristais mistos, morfologia dos cristais e formas polimórficas de cristais [ver adiante]).

O SFC de alimentos lipídicos costuma ser medido por calorimetria, alterações de volume (dilatometria) ou ressonância magnética nuclear (RMN). A RMN é o método preferido de medição do SFC, pois requer pouca preparação da amostra, podendo ser realizada de forma rápida e fácil [36]. O SFC é um parâmetro importante para lipídeos alimentares, pois fornece informações sobre propriedades de qualidade significativas. Exemplos disso incluem o comportamento de cristalização em temperaturas de refrigeração, que causará impacto sobre o ponto de turvação e estabilidade da emulsão, bem como sobre comportamento de fusão a diferentes temperaturas, e influenciará na sensação bucal, nas propriedades de cozimento e na capacidade de disseminação de um lipídeo sob refrigeração (margarina de galão) ou à temperatura ambiente (margarina em bastão).

Conforme já foi mencionado, o perfil de SFC temperatura de gorduras comestíveis exerce um papel fundamental na determinação das propriedades funcionais e sensoriais de muitos alimentos lipídicos [16,22,27,28,37]. Por exemplo, é importante que as margarinas sejam “duras” o suficiente a fim de que permaneçam com sua forma quando armazenadas em refrigerador ou trazidas à temperatura ambiente, porém, devem ser “macias” o suficiente para serem espalhadas com uma faca [38]. Além disso, é importante que os cristais de gordura derretam durante a mastigação para fornecer a sensação adequada na boca. Por tais motivos, é importante usar lipídeos que tenham perfis de SFC- e reologia-temperatura que sejam adequados para aplicações específicas [23].



**FIGURA 4.9** Comparação entre o perfil de derretimento de um triacilglicerol puro e o de uma gordura comestível típica. A gordura comestível derrete em um intervalo de temperatura maior, por consistir de uma mistura de diversos tipos de moléculas de triacilgliceróis puros, cada qual com pontos de fusão distintos.



### 4.3.3 Mecanismos físico-químicos de transições de fase lipídica

O arranjo das moléculas de triacilgliceróis no estado líquido e sólido é mostrado esquematicamente na Figura 4.10. O estado físico de um triacilglicerol em uma temperatura particular depende de sua energia livre, a qual se constitui da contribuição dos termos de entalpia e entropia:  $\Delta G_{S \rightarrow L} = \Delta H_{S \rightarrow L} - T\Delta S_{S \rightarrow L}$  [39]. O termo de entalpia ( $\Delta H_{S \rightarrow L}$ ) representa a mudança geral da intensidade das interações moleculares entre os triacilgliceróis quando eles são convertidos de sólido para líquido, enquanto o termo de entropia ( $\Delta S_{S \rightarrow L}$ ) representa a mudança na organização das moléculas que ocorre devido ao processo de fusão. A intensidade das ligações entre moléculas lipídicas é maior no estado sólido que no líquido, pois as moléculas são capazes de se empacotar com mais eficiência e, portanto,  $\Delta H_{S \rightarrow L}$  é positivo (desfavorável), o que favorece o estado sólido. Por outro lado, a entropia das moléculas lipídicas em estado líquido é maior que em estado sólido, o que faz com que o  $\Delta S_{S \rightarrow L}$  seja positivo (favorável) e favoreça o estado líquido. Em baixas temperaturas, o termo de entalpia prevalece sobre o termo de entropia ( $\Delta H_{S \rightarrow L} > T\Delta S_{S \rightarrow L}$ ), fazendo com que o estado sólido tenha a menor energia livre [19,23,39]. À medida que a temperatura aumenta, a contribuição da entropia torna-se mais importante. Acima de uma determinada temperatura, conhecida como *ponto de fusão*, o termo de entropia prevalece sobre o de entalpia ( $T\Delta S_{S \rightarrow L} > \Delta H_{S \rightarrow L}$ ). Nesse caso, o estado líquido tem a menor energia livre. Sendo assim, um material muda de sólido para líquido quando sua temperatura é elevada acima do ponto de fusão. Transições sólido-líquido (fusões) são endotérmicas, pois deve haver fornecimento de energia ao sistema para a aproximação das moléculas mais separadas. Ao contrário disso, uma transição líquido-sólido (cristalizações) é exotérmica, pois com o agrupamento das moléculas, ocorre liberação de energia. Mesmo que a energia livre do estado sólido seja inferior ao ponto de fusão, pode não haver cristais sólidos até que um óleo líquido tenha sido resfriado em temperatura suficientemente inferior à do ponto de fusão devido à perda de energia livre associada à formação de núcleos (ver adiante).

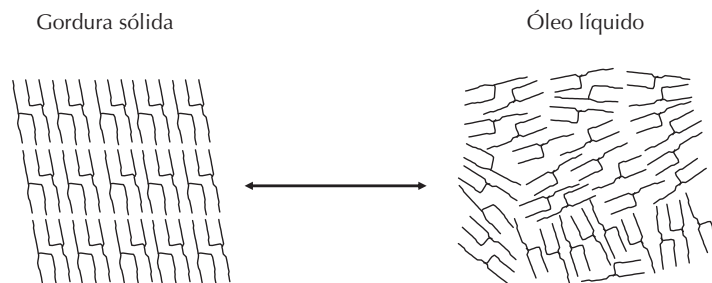
De modo geral, a cristalização de gorduras pode ser dividida de forma conveniente nos estágios: super-resfriamento, nucleação, crescimento de cristais e eventos pós-cristalização [19,20,23,40].

#### 4.3.3.1 Super-resfriamento

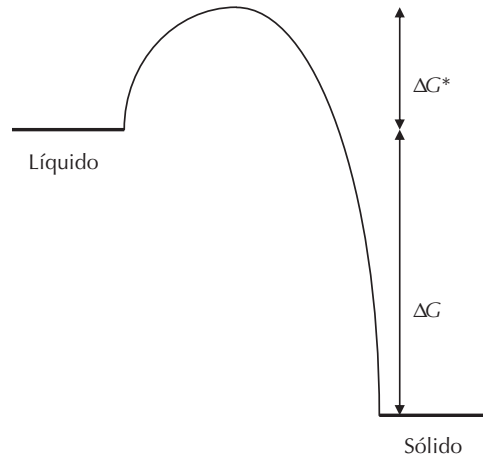
Embora a forma sólida dos lipídeos seja termodinamicamente favorável abaixo de seu ponto de fusão, os lipídeos podem persistir na forma líquida em temperaturas inferiores às do ponto de fusão por um período considerável antes que cristalizações sejam observadas. Isso ocorre em virtude da energia de ativação associada à formação de núcleos ( $\Delta G^*$ ), a qual deve ser ultrapassada antes da ocorrência da transição de fase líquido-sólido (Figura 4.11). Se a intensidade da energia de ativação for alta o suficiente em comparação à energia térmica, a cristalização não ocorrerá em uma escala de tempo observável e o sistema existirá em um estado *meta-estável*. A intensidade da energia de ativação depende da capacidade de formação de núcleos de cristais em óleo líquido, os quais devem ter estabilidade suficiente para que cresçam como cristais (ver adiante). O grau de super-resfriamento de um líquido pode ser definido como  $\Delta T = T - T_{mp}$ , sendo que  $T$  é a temperatura e  $T_{mp}$  é o ponto de fusão. O valor de  $\Delta T$  no qual a cristalização é inicialmente observada depende da estrutura química do lipídeo, da presença de material contaminante, da taxa de resfriamento, da microestrutura da fase lipídica (p. ex., se o óleo é puro ou emulsificado) e da aplicação de forças externas [19,23]. Os óleos puros não contêm impurezas, podendo ser, em geral, super-resfriados por mais de 10°C antes que cristalizações sejam observadas [41].

#### 4.3.3.2 Nucleação

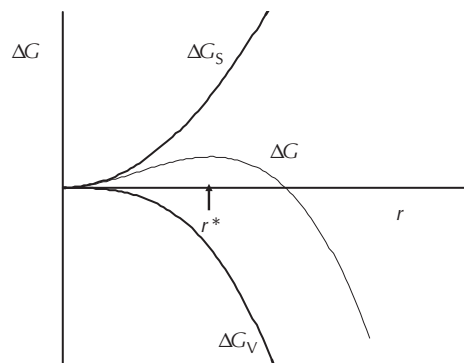
O crescimento de cristais pode ocorrer somente após a formação de núcleos estáveis no líquido. Acredita-se que esses núcleos sejam agrupamentos de moléculas do óleo que formam pequenos cristais organizados, sendo gerados quando algumas moléculas lipídicas colidem, tornando-se associadas umas às outras [19]. Ocorre mudança de energia livre relacionada à formação de um desses núcleos (Figura 4.12). Há uma variação negativa de energia livre ( $\Delta G_v$ ), a qual é proporcional ao volume do núcleo formado, o que se deve às mudanças de entalpia e entropia ocorrentes no interior do núcleo que passam pela transição de fase. Por outro lado, a formação de núcleos leva à criação de uma nova interface entre as fases líquida e sólida. Esse processo envolve o aumento da energia livre, com o objetivo de ultrapassar a tensão interfacial. A variação positiva de energia livre ( $\Delta G_s$ ) é proporcional à área de superfície do núcleo formado. A va-



**FIGURA 4.10** A organização dos triacilgliceróis nos estados sólido e líquido depende do equilíbrio entre a influência organizativa de interações atrativas entre as moléculas e a influência desagregadora da energia térmica.



**FIGURA 4.11** Quando a energia de ativação associada à formação de núcleos é alta o suficiente, os óleos líquidos podem persistir em estado metaestável abaixo do ponto de fusão de gorduras.



**FIGURA 4.12** O tamanho necessário para que ocorra crescimento de cristais em um núcleo depende do equilíbrio entre as contribuições do volume e da superfície para a energia livre de formação de núcleos. Aqueles que são formados espontaneamente, com raios acima de  $r^*$ , crescem, enquanto os formados com raios inferiores se dissociam.

riação total de energia livre associada à formação de núcleos é, portanto, a combinação de um termo de volume e um de superfície [19,23]:

$$\Delta G = \Delta G_V + \Delta G_S = \frac{4}{3}\pi r^3 \frac{\Delta H_{\text{fus}} \Delta T}{T_{\text{mp}}} + 4\pi r^2 \gamma_i \quad (4.4)$$

onde  $r$  é o raio do núcleo,  $\Delta H_{\text{fus}}$  é a variação de entalpia por unidade de volume associada à transição líquido-sólido (que é negativa) e  $\gamma_i$  é a tensão interfacial sólido-líquido. A contribuição do volume torna-se mais negativa conforme o tamanho do núcleo aumenta, enquanto a contribuição da superfície torna-se mais positiva (Figura 4.12). Como a relação entre a área de superfície e o volume diminui com o aumento de tamanho, a contribuição da superfície tende a apresentar prevalência de núcleos pequenos, enquanto a contribuição do volume tende a apresentar prevalência de núcleos grandes. Como resultado, a variação global de energia livre associada à formação de núcleos apresenta valor máximo no raio crítico de núcleo ( $r^*$ ):

$$r^* = \frac{2\gamma_i T_{\text{mp}}}{\Delta H_{\text{fus}} \Delta T} \quad (4.5)$$

Se um núcleo for formado espontaneamente, com um raio menor que o crítico, haverá tendência de dissociação dos raios com redução da energia livre do sistema. Por outro lado, se um núcleo for formado com raio superior ao valor crítico, haverá tendência de que ele cresça em forma de cristal. Essa equação indica que o tamanho crítico de um núcleo, necessário para o crescimento de cristais, diminui quando o grau de super-resfriamento aumenta, o que contribui para o aumento da taxa de nucleação, que é observada de forma experimental com a diminuição da temperatura. Em termos práticos, isso significa que óleos líquidos devem ser resfriados consideravelmente abaixo de seus pontos de fusão termodinâmicos antes que a formação de cristais seja observada.

A taxa na qual ocorre a nucleação pode ser matematicamente relacionada à energia de ativação  $\Delta G^*$ , a qual deve ser ultrapassada antes da formação de núcleos estáveis [19]:

$$J = A \exp(-\Delta G^*/kT) \quad (4.6)$$

onde  $J$  é a taxa de nucleação, que é igual ao número de núcleos estáveis formados por segundo por unidade de volume do material,  $A$  é o fator pré-exponencial,  $k$  é a constante de

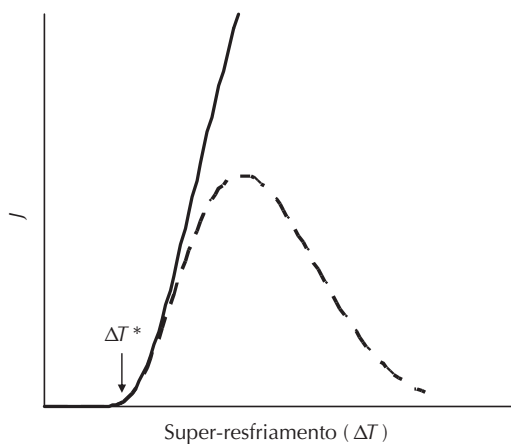
Boltzmann e  $T$  é a temperatura absoluta. O valor de  $\Delta G^*$  é calculado em substituição ao  $r$  da Equação 4.4, com o raio crítico dado pela Equação 4.5. A variação da taxa de nucleação fornecida pela Equação 4.5, com o grau de super-resfriamento ( $\Delta T$ ), é mostrada na Figura 4.13. A formação de núcleos estáveis é desprezível em temperaturas um pouco abaixo do ponto de fusão, aumentando de forma drástica quando o líquido é resfriado abaixo de temperatura  $T^*$  determinada. De fato, observa-se que a taxa de nucleação aumenta com o grau de resfriamento até determinada temperatura, após a qual diminui com ocorrência de resfriamento adicional. Isso ocorre em decorrência do aumento da viscosidade do óleo, que acontece à medida que a temperatura diminui, baixando a difusão de moléculas lipídicas em direção à interface líquido-núcleo [19,42]. Por consequência, existe um máximo de taxa de nucleação em temperatura determinada (Figura 4.13).

O tipo de nucleação supracitado ocorre quando não existem impurezas no óleo, referindo-se normalmente à *nucleação homogênea* [19]. Se o óleo líquido está em contato com superfícies estranhas, como as de partículas de poeira, cristais de gordura, gotículas de óleo, bolhas de ar, micelas reversas ou recipiente que contém o óleo, a nucleação pode ser induzida à temperatura superior à esperada para um sistema puro [19,23,43]. A nucleação decorrente da presença de superfícies estranhas é chamada de *nucleação heterogênea*, podendo ser dividida em dois tipos: primária e secundária. A nucleação heterogênea primária ocorre quando as superfícies estranhas apresentam estruturas químicas diferentes das do óleo, enquanto a nucleação heterogênea secundária ocorre quando as superfícies são cristais com a mesma estrutura química do óleo líquido. A nucleação heterogênea secundária é a base para a “germinação” da nucleação, em lipídeos super-resfriados [19]. Esse processo envolve a adição de cristais de triacilgliceróis pré-formados em um líquido super-resfriado, formado pelo mesmo triacilglicerol, de modo a promover nucleação a uma temperatura superior àquela que seria possível em condições normais.

A nucleação heterogênea ocorre quando as impurezas fornecem superfícies nas quais a formação de núcleos estáveis é termodinamicamente mais favorável que em óleo puro. Como resultado, o grau de super-resfriamento necessário para início da cristalização da gordura é reduzido. Por outro lado, alguns tipos de impurezas são capazes de diminuir a taxa de nucleação de óleos, pois são incorporadas à superfície do núcleo em crescimento, prevenindo a incorporação adicional de moléculas do óleo [19]. Uma impureza atuará como catalisador ou como inibidor da nucleação, dependendo de sua estrutura molecular e interações com os núcleos [42,44]. Deve-se observar que ainda existem muitos debates sobre a modelagem matemática da nucleação, uma vez que as teorias existentes costumam prever taxas de nucleação muito diferentes das medidas experimentais [23]. Entretanto, a forma geral de dependência entre as taxas de nucleação e a temperatura são fornecidas de maneira razoável pelas teorias existentes (ver Figura 4.13).

#### 4.3.3.3 Crescimento de cristais

Quando um núcleo estável se forma, ocorre o crescimento de cristais pela incorporação de moléculas do óleo líquido à interface sólido-líquido [19,23,42]. Os cristais lipídicos têm muitas faces diferentes, sendo que cada face pode crescer a taxas que variam muito entre si, o que explica, em parte, a grande variedade de morfologias de cristais, que podem ser formadas por lipídeos em alimentos. A taxa global de crescimento do cristal depende de diversos fatores, incluindo transferência de massa das moléculas da fase líquida para a interface sólido-líquido, incorporação das moléculas à armação do cristal e remoção do calor gerado pelo processo de cristalização a partir da interface [19]. Condições ambientais ou do sistema, como viscosidade, condutividade térmica, estrutura dos cristais, perfil de temperatura e agitação mecânica, podem influenciar nos processos de transferência de calor e massa e, portanto, na taxa de crescimento dos cristais. A taxa de crescimento tende a crescer inicialmente com o aumento



**FIGURA 4.13** Teoricamente, a taxa de formação de núcleos estáveis aumenta com o super-resfriamento (linha), mas, na prática, a taxa de nucleação diminui abaixo de determinadas temperaturas, pois a difusão das moléculas do óleo é reduzida pelo aumento de sua viscosidade (pontilhado).

do grau de super-resfriamento até que se alcance uma taxa máxima, após a qual haverá diminuição [19]. A dependência da taxa de crescimento da temperatura mostra, dessa forma, uma tendência similar à da taxa de nucleação. No entanto, a taxa máxima de formação de núcleos costuma ocorrer em temperaturas diferentes da taxa máxima de crescimento de cristais (Figura 4.14). Essa diferença é responsável pela dependência do número e do tamanho de cristais produzidos das taxas de resfriamento e temperatura de retenção. Se um óleo líquido é resfriado com rapidez a uma temperatura em que a taxa de nucleação é menor que a taxa de crescimento, então haverá formação de poucos cristais grandes. Por outro lado, se o óleo for resfriado a uma temperatura em que a taxa de crescimento for menor que a taxa de nucleação, haverá formação de muitos cristais pequenos.

#### 4.3.3.4 Eventos pós-cristalização

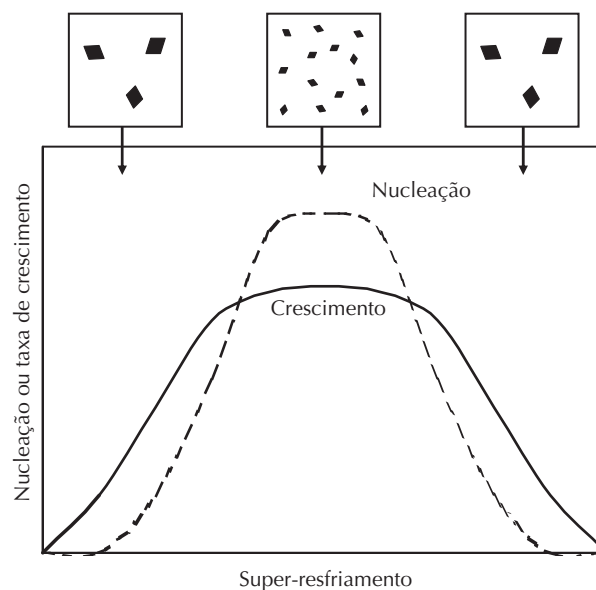
Uma vez que cristais são formados em um sistema lipídico, podem ocorrer mudanças posteriores em seu empacotamento, tamanho, composição e interações, ainda que o SFC global permaneça constante [19,23]. A pós-cristalização pode envolver a mudança da forma polimórfica menos estável para uma mais estável, devido à reorganização das moléculas de triacilgliceróis dentro dos cristais. Se um lipídeo forma cristais mistos (p. ex., cristais que contêm uma mistura de diferentes tipos de triacilgliceróis), pode haver alterações na composição dos cristais durante o armazenamento, em decorrência da difusão de moléculas de triacilglicerol entre os cristais. Além disso, pode haver crescimento de peso líquido no tamanho médio dos cristais lipídicos, com o tempo dependente do amadurecimento de Ostwald, o qual consiste no crescimento de cristais grandes em dependência dos pequenos, por meio da difusão de moléculas lipídicas entre os cristais [19]. Ao final, as ligações entre os cristais de gordu-

ra podem se fortalecer durante o tempo de armazenamento, devido ao mecanismo de sedimentação (fusão conjunta de cristais) [23,27,28]. As alterações pós-cristalização podem exercer influência significativa sobre as propriedades físico-químicas e sensoriais dos alimentos e, portanto, entendê-las e controlá-las é importante. Por exemplo, os eventos pós-cristalização costumam gerar o aumento do tamanho dos cristais em lipídeos, o que é indesejável em muitos casos, pois leva a uma percepção arenosa durante o consumo [43].

### 4.3.4 Estrutura cristalina

#### 4.3.4.1 Morfologia

O termo “morfologia” refere-se a tamanho, forma e localização dos cristais formados a partir da cristalização de lipídeos. A morfologia dos cristais depende de uma série de fatores internos (p. ex., estrutura molecular, composição, empacotamento e interações) e externos (p. ex., perfil tempo-temperatura, agitação mecânica e impurezas). Em geral, quando um óleo líquido é resfriado com rapidez a temperaturas abaixo de seu ponto de fusão, forma-se um grande número de cristais pequenos, mas, quando o mesmo óleo é resfriado lentamente a temperaturas um pouco abaixo de seu ponto de fusão, forma-se um pequeno número de cristais grandes [19,23]. Isso ocorre em virtude das diferenças de dependência da temperatura entre as taxas de nucleação e cristalização (Figura 4.14). A taxa de nucleação tende a aumentar mais rapidamente com a diminuição da temperatura que a taxa de cristalização até um determinado valor máximo, tendendo a diminuir com mais rapidez com diminuições posteriores de temperatura. Desse modo, o resfriamento rápido tende a produzir muitos núcleos ao mesmo tempo, os quais, subsequentemente, crescem como pequenos cristais, enquanto o resfriamento lento tende a produzir um pequeno



**FIGURA 4.14** As taxas de nucleação e o crescimento de cristais apresentam dependências diferentes da temperatura, as quais explicam as diferenças do número e tamanho dos cristais de gordura produzidos sob diferentes regimes de resfriamento.

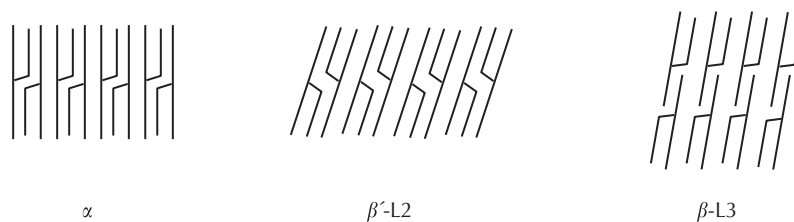
número de núcleos, os quais têm tempo de crescer, tornando-se cristais maiores, antes que outros núcleos sejam formados (Figura 4.14).

A estrutura e as propriedades físicas dos cristais produzidos pelo resfriamento de misturas complexas de triacilgliceróis também é muito influenciada pelas taxas de resfriamento e temperatura [19,23,31]. Se um óleo é refrigerado com rapidez, todos os triacilgliceróis cristalizam quase ao mesmo tempo e uma *solução sólida é formada*, a qual consiste de cristais homogêneos, em que os triacilgliceróis estão misturados uns aos outros [22,23]. Por outro lado, se um óleo é refrigerado devagar, os triacilgliceróis de maior ponto de fusão cristalizarão primeiro, enquanto os de baixo ponto de fusão cristalarão depois, havendo formação de *cristais mistos*. Esses cristais são heterogêneos, consistindo de algumas regiões ricas em triacilgliceróis de elevado ponto de fusão e outras regiões pobres desses triacilgliceróis. Se uma gordura forma cristais mistos ou uma solução sólida, muitas de suas propriedades físico-químicas, como densidade, reologia e perfil de fusão, são alteradas [22,23], o que pode ter uma importante influência sobre as propriedades de um determinado alimento.

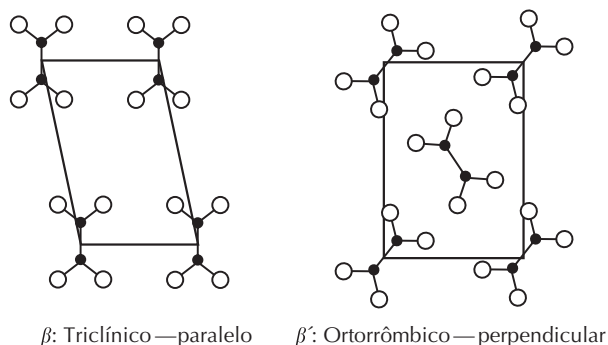
#### 4.3.4.2 Polimorfismo

Os triacilgliceróis manifestam um fenômeno conhecido como *polimorfismo* (monotrópico), que é a capacidade de um material de existir sob a forma de diversas estruturas cristali-

nas com diferentes empacotamentos moleculares [19,23]. Os três tipos mais comuns de empacotamento em triacilgliceróis são hexagonal, ortorrômbico e triclinico, os quais costumam ser designados como formas polimórficas  $\alpha$ ,  $\beta'$  e  $\beta$ , respectivamente (Figuras 4.15 e 4.16). O tipo de forma cristalina adotada depende da estrutura molecular e da composição dos lipídeos, assim como das condições ambientais durante a cristalização (taxa de resfriamento, temperatura de retenção, força de cisalhamento). A estabilidade termodinâmica e, por conseguinte, o ponto de fusão das três formas, diminui na ordem:  $\beta > \beta' > \alpha$ . Grandes estabilidades derivam de grandes densidades de empacotamento dos grupos acila dos ácidos graxos, o que é favorecido pela homogeneidade entre os ácidos graxos constituintes e pela simetria entre as espécies de triacilgliceróis. A compatibilidade e a segregação dos ácidos graxos dentro da estrutura do cristal podem resultar em células unitárias com espaçamentos longos, equivalentes ao comprimento de 2 ou 3 ácidos graxos (L2 e L3, na Figura 4.15). Ainda que a forma  $\beta$  seja a mais estável termodinamicamente, os triacilgliceróis costumam cristalizar primeiro na forma  $\alpha$ , pois essa forma tem a menor energia de ativação para a formação de núcleos (Figura 4.17). Com o tempo, os cristais se transformam na forma polimórfica mais estável, em uma taxa que depende de condições ambientais, como temperatura, pressão e presença de impurezas [27]. O tempo gasto para que esse tipo de transformação de cristais ocorra é muito influenciado pela homogeneidade da composição dos triacilgliceróis [23]. A transformação a partir da forma  $\alpha$

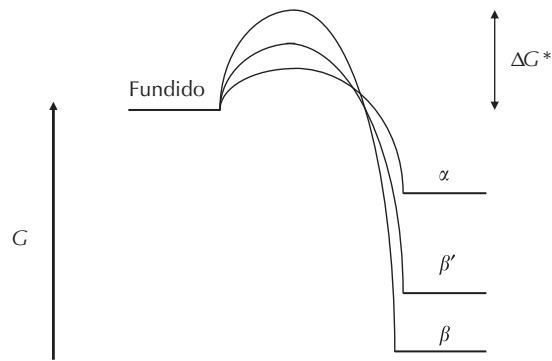


**FIGURA 4.15** Tipos comuns de organização molecular global de triacilgliceróis, em fases cristalinas. (Adaptada de Walstra, P. (2003). *Physical Chemistry of Foods*, Marcel Dekker, Inc., New York, NY).



**FIGURA 4.16** Os dois tipos mais comuns de empacotamento de cadeias de hidrocarbonetos: triclinico (paralelo) e ortorrômbico (perpendicular). Os círculos pretos representam os átomos de carbono, os brancos, os átomos de hidrogênio. As cadeias de hidrocarbonetos são observadas a partir do topo. (Adaptada de Larsson, K. (2004). In *Food Emulsions*, 4th edn. (Friberg, S., Larsson, K., and Sjöblom, J, eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, cap. 3).





**FIGURA 4.17** O estado polimórfico formado inicialmente, quando um óleo cristaliza, depende da magnitude relativa da energia de ativação associada à formação de núcleos.

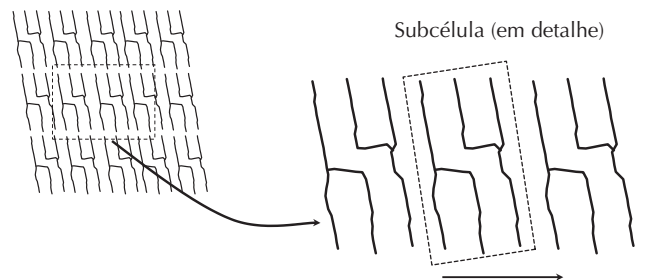
costuma ocorrer com rapidez em composições relativamente homogêneas em que todos os triacilgliceróis apresentam estruturas moleculares similares. Já a transição é um tanto lenta para gorduras com muitos componentes em que os triacilgliceróis apresentam estruturas moleculares diferentes. As diferentes formas polimórficas de lipídeos podem ser distinguidas umas das outras usando-se diversos métodos, incluindo difração de raios X, DSC, IR, RMN e espectroscopia Raman [19]. Esses métodos se baseiam no fato de que os cristais se encontram organizados com distinção em diferentes formas polimórficas que alteram suas propriedades físico-químicas e sensoriais (Figuras 4.15, 4.16 e 4.18). O conhecimento das formas polimórficas dos cristais em lipídeos é importante porque pode exercer um grande impacto sobre o comportamento térmico e a morfologia dos cristais formados, e, portanto, sobre as propriedades físico-químicas e sensoriais dos alimentos. Por exemplo, as características de textura e aparência desejáveis em produtos como margarinas, *spreads*,\* produtos assados e chocolate dependem da garantia de que os cristais de gordura sejam produzidos e mantidos na forma polimórfica adequada [19,38,43]. Os cristais  $\beta'$  mais delicados são preferidos para margarinas e *spreads*, em que maciez, brilho e graus altos de cobertura da superfície de água dispersa são necessários. As formas polimórficas  $\beta$  maiores são preferidas nas gorduras para panificação (p. ex., banha) a fim de criar “flocosidade” e es-

tabilidade da manteiga de cacau no chocolate. As misturas de lipídeos também podem ser usadas para controlar se os polimorfos  $\beta'$  ou  $\beta$  são os cristais predominante formados. A Tabela 4.2 mostra quais lipídeos comestíveis tendem a formar cristais  $\beta'$  e quais tendem a formar  $\beta$  como polimorfos mais estáveis.

#### 4.4 PROCESSAMENTO DE LIPÍDEOS: ISOLAMENTO, PURIFICAÇÃO E MODIFICAÇÃO

##### 4.4.1 Refino de lipídeos

Os triacilgliceróis são extraídos de fontes de origem animal e vegetal. A *fluidização* é uma operação de tratamento térmico que rompe as estruturas celulares para liberar triacilgliceróis de subprodutos animais e espécies de peixes subutilizadas. Os triacilgliceróis de plantas podem ser isolados por pressão (oliva), extração por meio de solventes (sementes de oleaginosas) ou por uma combinação de ambos (para abordagens detalhadas sobre extrações de gorduras e óleos, ver Referência 45). Óleos e gorduras brutos resultantes desses processos não conterão apenas triacilgliceróis, mas também lipídeos (como ácidos graxos livres, fosfolipídeos, aromatizantes lipossolúveis e carotenoides) e materiais não lipídicos



**FIGURA 4.18** As células unitárias de lipídeos cristalinos podem ser caracterizadas por suas dimensões.

\* N. de T.: Termo norte-americano que se refere a produtos como margarinas e manteigas, usados para passar em pães.

(como proteínas e carboidratos). Esses componentes devem ser removidos para a produção de óleos e gorduras com cor, sabor e vida útil desejados. Os passos principais de refino estão descritos a seguir.

#### 4.4.1.1 Degomagem

A presença de fosfolipídeos gera a formação de emulsões água em óleo (W/O) em gorduras e óleos. As emulsões fazem o óleo turvar, sendo que a água pode representar riscos quando os óleos são aquecidos em temperaturas superiores a 100°C (borrifo e formação de espuma). A degomagem é um processo que remove os fosfolipídeos pela adição de 1-3% de água, a 60-80°C, por 30-60min. Pequenas quantidades de ácido costumam ser adicionadas à água para que se aumente o conteúdo de hidrogênio dos componentes fosfolipídicos. Sedimentação, filtração ou centrifugação são então utilizadas para a remoção das “gommas” coalescentes, formadas por fosfolipídeos e água. Em alguns óleos, como o de soja, os fosfolipídeos são recolhidos e vendidos como lecitinas.

#### 4.4.1.2 Neutralização

Os ácidos graxos livres devem ser removidos de óleos brutos, pois eles causam sabor desagradável, aceleram a oxidação de lipídeos, geram espuma e interferem em operações de hidrogenação e interesterificação. A neutralização é realizada misturando-se uma solução de soda cáustica com óleo bruto, o que faz com que os ácidos graxos livres formem sabões solúveis que podem ser removidos separando-se a fase oleosa da aquosa que contém os sabões. A quantidade de soda cáustica usada depende da concentração de ácidos graxos livres presente no óleo bruto. O material resultante pode ser usado para a alimentação de animais ou para a produção de surfactantes e detergentes.

#### 4.4.1.3 Branqueamento

Os óleos brutos costumam conter pigmentos que resultam em cores indesejáveis (carotenoides, gossipol, etc.) ou promovem oxidação de lipídeos (clorofilas). Os pigmentos são removidos pela mistura do óleo aquecido (80-110°C) com absorventes como argilas neutras, silicatos sintéticos, carvão ativado ou terras ativadas. O absorvente é removido por filtração. Esse processo geralmente é realizado sob vácuo, pois os absorventes podem acelerar a oxidação dos lipídeos. Outros efeitos benéficos do branqueamento são a remoção de ácidos graxos livres e fosfolipídeos residuais e a destruição de hidroperóxidos lipídicos.

#### 4.4.1.4 Desodorização

Os lipídeos brutos contêm componentes aromáticos indesejáveis, como aldeídos, cetonas e álcoois, os quais ocorrem naturalmente no óleo a partir de reações de oxidação lipídica ocorrentes durante a extração e o refino. Os compostos voláteis são removidos submetendo-se o óleo à destilação por arraste de vapor em temperaturas elevadas (180-270°C) e pressões baixas. O processo de desodorização também pode

destruir hidroperóxidos lipídicos, aumentando a estabilidade oxidativa do óleo, mas pode resultar na formação de ácidos graxos *trans*. Após a desodorização estar completa, adiciona-se ácido cítrico (0,005-0,01%) para quelar e inativar metais pró-oxidantes. O destilado conterà tocoferóis e esteróis que podem ser recuperados e usados como antioxidantes e ingredientes funcionais de alimentos (fitoesteróis).

### 4.4.2 Alteração do conteúdo de gordura sólida (SFC) em alimentos lipídicos

As gorduras naturais com intervalos plásticos desejáveis não estão sempre disponíveis e, em alguns casos, são dispendiosas. Além disso, a alteração dos perfis de ácidos graxos costuma ser desejável para que a gordura se torne menos suscetível à oxidação (diminuição da insaturação) ou mais vantajosa nutricionalmente (aumento da insaturação). Portanto, diversas tecnologias têm sido desenvolvidas para proporcionar a alteração do SFC (do inglês *solid fat content*) em alimentos lipídicos.

#### 4.4.2.1 Mistura

O método mais simples de alterar a composição de ácidos graxos e o perfil de fusão é misturar as gorduras com diferentes composições de triacilgliceróis. Essa prática é efetuada em produtos como óleos para fritura e margarinas.

#### 4.4.2.2 Intervenções dietéticas

A composição de ácidos graxos de gorduras animais pode ser alterada pela manipulação dos tipos de gorduras da dieta. Essa prática é efetiva em não ruminantes como suínos, frangos e peixes. O aumento dos níveis de ácidos graxos insaturados em gorduras de ruminantes (bovinos e ovinos) não é eficiente, pois as bactérias do rúmen hidrogenam biologicamente os ácidos graxos antes que eles alcancem o intestino delgado, onde poderiam ser absorvidos para o sangue.

#### 4.4.2.3 Manipulação genética

A composição dos ácidos graxos das gorduras pode ser manipulada geneticamente por meio de alteração das rotas enzimáticas que produzem ácidos graxos insaturados. A manipulação genética tem sido realizada com sucesso tanto por programas tradicionais de cruzamento como por tecnologias de modificação genética. Diversos óleos obtidos a partir de plantas geneticamente modificadas, como girassol, estão disponíveis no comércio. A maioria desses óleos contém níveis elevados de ácido oleico.

#### 4.4.2.4 Fracionamento

A composição dos ácidos graxos e triacilgliceróis das gorduras também pode ser alterada pela manutenção da gordura em temperaturas nas quais os triacilgliceróis de cadeia longa, ou mais saturados, cristalizarão, coletando-se então tanto a fase sólida (mais saturados ou de cadeia longa) como a

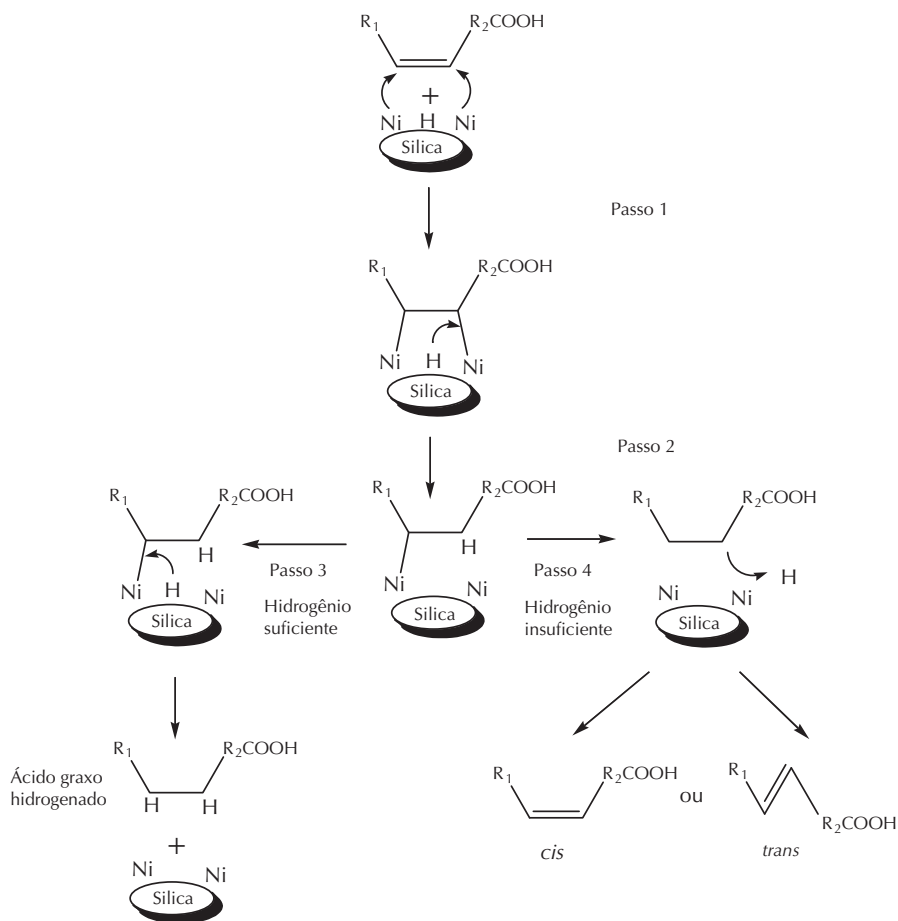
líquida (mais insaturados ou de cadeia curta). Isso geralmente é realizado em óleos vegetais, por meio do processo de *fracionamento a seco*. Esse processo é necessário para óleos usados em produtos que serão refrigerados, para que se previna a cristalização e a turvação dos triacilgliceróis. O fracionamento a seco também é necessário para óleos usados em maionese ou molhos de salada, em que a cristalização desestabilizaria a emulsão.

#### 4.4.2.5 Hidrogenação

A hidrogenação é um processo químico que adiciona hidrogênio às ligações duplas. Esse processo é usado para alterar lipídeos, fazendo com que sejam mais sólidos em temperatura ambiente, exibam comportamento diferente de cristalização (tornando a composição de triacilgliceróis mais homogênea) e/ou sejam mais estáveis oxidativamente. Esses objetivos são alcançados pela remoção de ligações duplas, obtendo-se ácidos graxos mais saturados. A hidrogenação também é usada para o branqueamento de óleos, uma vez que a destruição das ligações duplas em compostos como carotenoides causará perda de cor. Os produtos produzidos por hidrogenação incluem margarinas, *shortenings* e óleos parcialmente hidrogenados que apresentam estabilidade oxidativa aumentada.

A reação de hidrogenação necessita de um catalisador para aumentar a velocidade da reação, gás hidrogênio para fornecer o substrato, agitação para misturar o catalisador com os substratos, e controle de temperatura para aquecer e liquefazer o óleo e depois refrigerá-lo assim que a reação exotérmica começar [45]. O óleo usado na hidrogenação deve ser previamente refinado, pois os contaminantes reduzirão a eficiência ou “envenenarão” o catalisador. A hidrogenação é realizada em um processo contínuo ou em oscilação de temperaturas, entre 250 e 300°C. O níquel metálico é o catalisador de uso mais comum, sendo adicionado em 0,01-0,02%. Ele é incorporado a um suporte poroso, proporcionando um catalisador com grande área de superfície que pode ser recuperado por filtração. A mistura contínua é um parâmetro fundamental, pois a transferência de massa dos reatantes limita a reação. Esta demora de 40 a 60 min, durante os quais o progresso é monitorado por mudanças no índice de refração. Uma vez completo, o catalisador é recuperado por filtração, podendo ser usado em outra reação.

O mecanismo de hidrogenação envolve a complexação inicial do ácido graxo insaturado com a presença do catalisador em cada uma das extremidades da ligação dupla (Figura 4.19, Passo 1). O hidrogênio que é absorvido ao catalisador pode então romper um dos complexos metal-carbono, for-



**FIGURA 4.19** Vias envolvidas na hidrogenação, as quais levam à formação de ácidos graxos saturados e ácidos graxos insaturados *cis* e *trans*.

mando um estado semi-hidrogenado com o outro carbono que permanece ligado ao catalisador (Passo 2). Para completar a hidrogenação, o estado semi-hidrogenado interage com outro hidrogênio, rompendo a ligação carbono-catalisador remanescente e produzindo um ácido graxo hidrogenado (Passo 3). Entretanto, se o hidrogênio não está disponível, a reação inversa pode ocorrer, sendo que o ácido graxo é liberado do catalisador e a ligação dupla é regenerada (Passo 4). A ligação dupla que é regenerada pode apresentar-se nas configurações *cis* ou *trans* (isômeros geométricos), podendo estar no mesmo átomo de carbono ou migrar ao carbono adjacente (p. ex., um ácido graxo com uma ligação dupla originalmente entre os carbonos 9 e 10 pode migrar para os carbonos 8 e 9 ou 10 e 11; isômeros posicionais). A propensão da ligação dupla à regeneração está relacionada à quantidade de hidrogênio associada ao catalisador. Portanto, condições como baixa pressão de hidrogênio, baixa agitação, temperatura elevada (a reação é mais rápida que a taxa de difusão do hidrogênio para o catalisador) e concentração elevada do catalisador (dificulta a saturação do catalisador com hidrogênio) resultam em níveis elevados de isômeros geométricos e posicionais. Isso pode ser preocupante, pois os ácidos graxos *trans* estão associados ao aumento do risco de doenças cardiovasculares.

A hidrogenação costuma ocorrer de maneira seletiva e sequencial. A taxa de hidrogenação de ácidos graxos poli-insaturados é mais rápida que a de ácidos graxos monoinsaturados. Isso se deve em parte à maior afinidade do catalisador por sistemas pentadieno de ligações duplas presentes nos ácidos graxos poli-insaturados. A hidrogenação preferencial dos ácidos graxos mais insaturados é especialmente prevalente quando a concentração de hidrogênio do catalisador é baixa. Do ponto de vista da estabilidade, a hidrogenação preferencial de ácidos graxos mais insaturados costuma ser desejada, por aumentar a estabilidade oxidativa do óleo com formação mínima de triacilgliceróis saturados de temperatura de fusão alta, os quais causam problemas de cristalização e textura. Entretanto, baixas concentrações de hidrogênio também podem levar à produção elevada de isômeros geométricos e posicionais, que significa que o lipídeo pode conter quantidades grandes de ácidos graxos *trans*, nutricionalmente indesejáveis.

#### 4.4.2.6 Interesterificação

A interesterificação é um processo que envolve o rearranjo de grupos acil em triacilgliceróis. Em geral, esse é aleatório, resultando na produção de um perfil de triacilgliceróis diferente do lipídeo original. Isso culmina em alterações significativas nos perfis de fusão dos lipídeos sem que haja mudanças na composição dos ácidos graxos [46]. A interesterificação também altera o comportamento de cristalização da gordura por dificultar os lipídeos de formarem o tipo de cristal mais estável ( $\beta$ , triclínico), uma vez que a composição de triacilgliceróis torna-se mais heterogênea. A interesterificação é realizada por acidólise, alcoólise, glicerólise e transesterificação [46]. A transesterificação é o método mais usado para a alteração das propriedades de lipídeos alimentares. Em geral são utilizados alquilatos de sódio (p. ex., etilato de

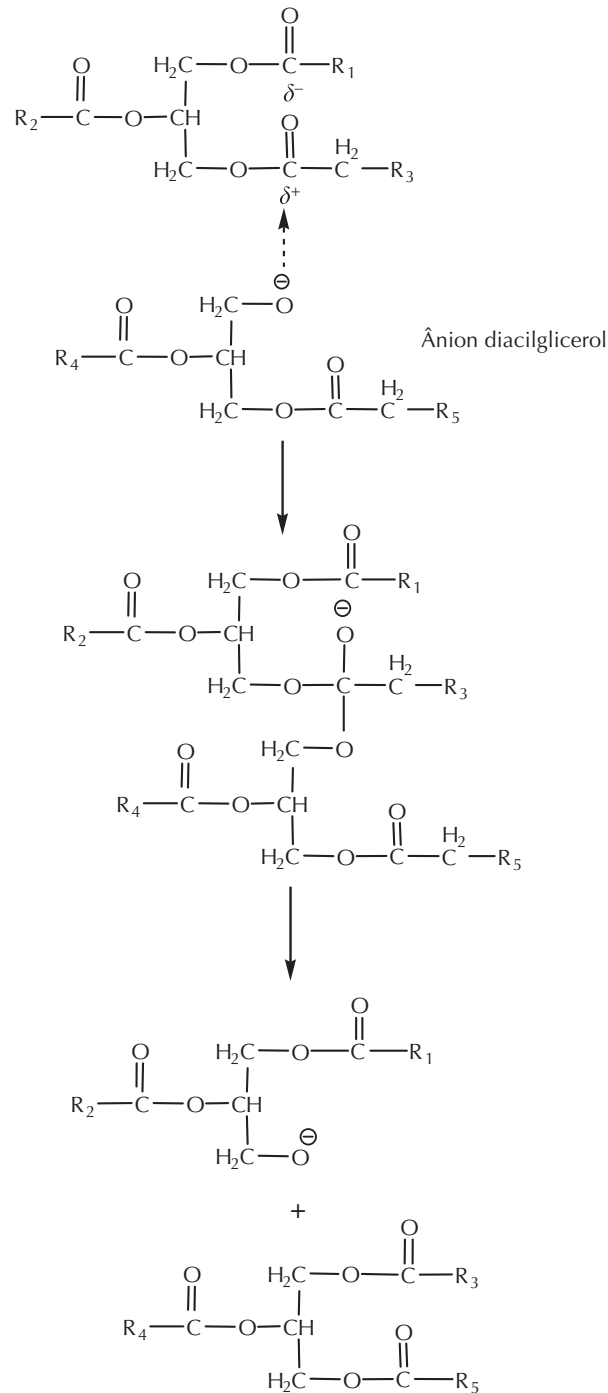
sódio) para aceleração desse processo, pois essas substâncias são baratas e ativas em baixas temperaturas. Acredita-se que o catalisador real da reação seja o ânion carbonila de um diacilglicerol (Figura 4.20). O diacilglicerol negativo pode atacar o grupo carbonila ligeiramente positivo do ácido graxo de um triacilglicerol, formando um complexo de transição. Uma vez ocorrida a transesterificação, o complexo de transição se decompõe de modo que o ácido graxo é transferido para o diacilglicerol e o ânion migra para o local do ácido graxo transferido. O processo de transesterificação pode ocorrer em um mesmo triacilglicerol (intraesterificação) ou em um triacilglicerol diferente (interesterificação). Para que a interesterificação ocorra, a reação deve ter baixos níveis de água, ácidos graxos livres e peróxidos (que inativam o catalisador). A transesterificação aleatória é realizada entre 100 a 150°C, completando-se em 30 a 60min. A reação é interrompida pela adição de água para inativação do catalisador.

A interesterificação pode ser realizada em misturas de lipídeos como gorduras com elevada temperatura de fusão e óleos com baixa temperatura de fusão. Se essas duas fontes de lipídeos forem misturadas, o perfil de fusão poderá apresentar uma curva descontínua, em forma de degraus (Figura 4.9) à medida que a mistura for aquecida progressivamente. A interesterificação desses dois lipídeos criaria triacilgliceróis novos, contendo combinações de ácidos graxos saturados e insaturados com fusão gradual ao longo do intervalo plástico. Outra aplicação é a interesterificação de gorduras com composições de triacilgliceróis muito homogêneas, a fim de que se produzam triacilgliceróis heterogêneos; isso ampliaria o intervalo plástico, estimulando cristais  $\beta'$  (ortorrômbicos) como os polimorfos mais estáveis.

A interesterificação nem sempre é aleatória. Na dirigida, a temperatura de reação é mantida baixa o suficiente para que, quando triacilgliceróis altamente saturados forem produzidos, cristalizem e sejam removidos da reação. Esse processo produz uma fase líquida, que é mais insaturada, e uma fase sólida, que é mais saturada que o lipídeo parental. A interesterificação também pode ser realizada com o uso de lipases como catalisadores [47]. A vantagem das lipases é sua possibilidade de apresentar especificidade por diferentes localizações estereoespecíficas do triacilglicerol ou por diferentes ácidos graxos. Isso significa que triacilgliceróis estruturados podem ser produzidos com mudanças na composição de ácidos graxos ou no tipo de triacilglicerol (p. ex., alterações na posição *sn-2*). Alterando-se a composição de ácidos graxos *e/ou* de triacilgliceróis, essas gorduras podem apresentar propriedades nutricionais ou físicas superiores. Infelizmente, as interesterificações enzimáticas são limitadas por seu custo elevado, sendo que sua aplicação é limitada a produtos de alto valor, como substitutos de manteiga de cacau e lipídeos para formulações infantis.

## 4.5 FUNCIONALIDADE DOS TRIACILGLICERÓIS EM ALIMENTOS

A capacidade dos cientistas de alimentos de melhorar a qualidade dos produtos alimentícios depende de seu enten-



**FIGURA 4.20** Mecanismo proposto para a reação de interesterificação que envolve catálise pelo ânion carbonila de um diacilglicerol. (Adaptada de Rousseau, D. e Marangoni, A.G. (2002). Em *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (Akoh, C.C. e Min, D.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 301-334).

dimento profundo dos muitos papéis exercidos por óleos e gorduras na determinação de suas propriedades. Esta seção enfatizará algumas das funções mais importantes dos lipídeos na determinação de textura, aparência e sabor de produtos alimentícios, por meio de exemplos específicos que ressaltam aspectos importantes da funcionalidade dos triacilgliceróis.

#### 4.5.1 Textura

A influência dos lipídeos na textura dos alimentos é fortemente determinada pelo estado físico do lipídeo e pela natureza da matriz alimentar (p. ex., gordura a granel, gordura emulsificada ou gordura estrutural). Para óleos puros, como os de cozinha ou para salada, a textura é determinada pela



viscosidade do óleo no intervalo de temperatura de utilização. Para gorduras parcialmente cristalinas, como em chocolates, produtos assados, *shortenings*, manteiga e margarina, a textura é determinada, em especial, por concentração, morfologia e interações dos cristais de gordura [19,23,43]. Em particular, o perfil de fusão dos cristais de gordura exercem papéis fundamentais na determinação de propriedades como textura, estabilidade, espalhabilidade e sensação bucal. A característica de textura cremosa de muitas emulsões alimentares O/W é determinada pela presença de gotículas de gordura (p. ex., cremes, sobremesas, molhos de salada e maionese). Nesses sistemas, a viscosidade do sistema como um todo é determinada mais pela concentração de gotículas de óleo do que pela viscosidade do óleo das gotículas [33]. Por exemplo, o leite integral (~4% gordura) apresenta viscosidade considerada baixa, a nata (~40% gordura) é altamente viscosa e a maionese (~80% gordura) é semissólida, ainda que a viscosidade da fase oleosa das gotículas possa ser muito semelhante entre esses produtos. Em emulsões W/O de alimentos, a reologia global do sistema é determinada pela reologia da fase oleosa. Em muitas emulsões alimentares W/O, como margarinas, manteigas e *spreads*, a fase oleosa é parcialmente cristalina, apresentando propriedades plásticas. Portanto, a reologia desses produtos é determinada pelo SFC, bem como pela morfologia e interações dos cristais de gordura presentes, o que, por sua vez, é governado pelas condições de cristalização e armazenamento (ver adiante). Por exemplo, a “espalhabilidade” desses produtos é determinada pela formação de uma rede tridimensional de cristais de gordura agregados na fase contínua, os quais fornecem rigidez mecânica ao produto [31,48]. Em muitos alimentos, os lipídeos compõem uma parte integral da matriz sólida, que também contém outros componentes (p. ex., em chocolate, bolachas, biscoitos, queijo, tortas). O estado físico dos lipídeos desses sistemas influi em sua textura pela formação de uma rede de cristais de gordura que interagem entre si, dando ao produto final propriedades reológicas desejáveis, como firmeza ou crocância. A presença da fase de gordura nesses produtos também pode influenciar na textura global de diversas outras maneiras. Alguns exemplos de produtos alimentícios, nos quais os lipídeos desempenham papéis fundamentais na textura, são apresentados na sequência.

A produção de margarina é um bom exemplo da importância da cristalização de lipídeos para a determinação da textura global de alimentos. A princípio, o produtor deve selecionar uma fase lipídica que contenha a mistura de triacilgliceróis que fornecerá perfil de SFC-temperatura e morfologia de cristal apropriados ao produto final. Essa fase lipídica é então homogeneizada em seu estado líquido com uma fase aquosa formando-se uma emulsão O/W. Essa emulsão é processada sob condições cuidadosamente controladas de tempo-temperatura-cisalhamento para que sejam obtidas dimensão de cristalização, tamanho de cristais, forma polimórfica e grau de interação de cristais desejados [38]. O ideal é que o produto final contenha uma rede tridimensional de cristais pequenos agregados na forma polimórfica  $\beta'$ , pois essa rede fornece as características desejadas de textura e estabilidade. A produção de margarina costuma ser realizada processan-

do-se a emulsão O/W em um “trocador de calor de superfície irregular” e, em seguida, em um “cristalizador”. Na superfície “irregular” do trocador de calor, a emulsão é rapidamente resfriada e exposta a taxas elevadas de cisalhamento, o que promove a formação rápida de cristais de gordura na fase lipídica. A presença de cristais de gordura nas gotículas de óleo promove a conversão da emulsão O/W em emulsão W/O devido à coalescência parcial [23]. A emulsão W/O consiste de gotículas de água embebidas em uma fase lipídica que contém uma rede de cristais agregados. Os cristais de gordura formados estão inicialmente na forma polimórfica  $\alpha$ , mas são convertidos para a forma polimórfica mais estável  $\beta'$  durante a etapa de cristalização. É importante que se controle a dimensão dessa transformação durante o processo de produção, pois ela determina o número e a intensidade das ligações formadas entre os cristais de gordura e, portanto, a reologia do produto final. Entretanto, também é importante que se evite a transição polimórfica da forma  $\beta'$  para a forma mais estável  $\beta$  durante o armazenamento, pois isso resulta na formação de cristais grandes (>30  $\mu\text{m}$ ) que são percebidos como “granulares” ou “arenosos” na boca. Essa conversão geralmente pode ser evitada pela adição de surfactantes que interferem na transição polimórfica [1], escolhendo-se lipídeos que não formem cristais  $\beta$  ou por mistura apropriada de lipídeos, que favoreça a forma de cristais  $\beta'$ .

Outro exemplo da importância da cristalização de gorduras sobre a textura de produtos alimentícios é fornecido pelos *shortenings*. Estes são gorduras usadas para o fornecimento de propriedades funcionais específicas a diversos produtos alimentícios, como tortas, pães, massas, produtos fritos e produtos assados [43]. Essas propriedades funcionais incluem maciez, textura, sensação bucal, integridade estrutural, umectação, incorporação de ar, transferência de calor e aumento de vida útil. Diversos mecanismos físico-químicos fundamentam essas propriedades funcionais. Os *shortenings* são assim chamados por ajudarem a evitar interações entre moléculas de proteínas ou amidos, servindo para “amolecer” o produto por meio da redução da coesividade do glúten e do “encurtamento” da textura [43]. Eles fornecem características de textura a outros alimentos devido a sua capacidade de formar uma rede tridimensional de cristais de gordura. Para que se obtenha a característica funcional desejada em um determinado produto, é importante que se escolha uma mistura de gorduras e óleos que resulte em perfil de fusão e características polimórficas adequados, processando-se então a gordura pelo uso de resfriamento controlado e condições de cisalhamento para a obtenção de cristais do tipo e da estrutura desejados [43]. Em geral, é importante que o lipídeo esteja parcialmente cristalino na temperatura de armazenamento para que mantenha sua integridade estrutural, mas derreta durante o consumo, fornecendo a sensação bucal desejada.

#### 4.5.2 Aparência

A aparência característica de muitos produtos alimentícios é bastante influenciada pela presença de lipídeos. A cor de óleos puros, como os de cozinha ou para salada, é determina-

da principalmente pela presença de pigmentos que absorvem luz, como clorofilas e carotenoides. As gorduras sólidas costumam ser opticamente opacas em virtude do espalhamento da luz pelos cristais de gordura presentes, enquanto os óleos líquidos costumam ser translúcidos. A opacidade das gorduras depende de concentração, tamanho e forma dos cristais de gordura. Aparências turvas, opacas ou nebulosas em emulsões alimentares são resultado direto da imiscibilidade do óleo e da água, uma vez que isso leva a um sistema em que as gotículas de uma fase estão dispersas na outra fase. As emulsões alimentares costumam ser opticamente opacas, pois a luz que passa através delas é espalhada pelas gotículas [49]. A intensidade do espalhamento depende de concentração, tamanho e índice de refração das gotículas presentes, de forma que tanto a cor como a opacidade da emulsão são muito influenciadas pela presença da fase lipídica. A razão pela qual o leite integral (~4% gordura) tem uma aparência muito mais branca que o desnatado (<0,1% gordura) se deve à presença dos glóbulos de gordura no leite integral, os quais espalham a luz de forma intensa, enquanto o leite desnatado contém apenas micelas de caseína que espalham a luz com menos intensidade.

Um exemplo interessante da importância da cristalização na aparência de produtos alimentícios é a “migração de gordura” (*bloom*), que se trata de um defeito de qualidade às vezes observado em chocolates e coberturas [50]. A migração de gordura manifesta-se como grandes manchas brancas ou acinzentadas que aparecem na superfície do produto. Diversos mecanismos têm sido indicados como causadores da migração em diferentes produtos, todos eles relacionados a algum problema de estabilidade associado à cristalização de gorduras (p. ex., *têmpera* pobre, incompatibilidade de gorduras misturadas, migração de gorduras e recristalização de gorduras). As bases físico-químicas desses mecanismos foram discutidas em detalhes em outras publicações [50]. A migração de gordura ocorre em alguns produtos de chocolate expostos a variações de temperatura durante seu armazenamento, visto que isso causa fusão e recristalização da fase de gordura [1]. Propôs-se que os cristais de gordura da superfície mudam sua morfologia de cristais uniformes achatados que, como espelhos, refletem luz apresentando uma aparência uniforme, para cristais pontiagudos que refletem a luz de forma difusa, adquirindo uma aparência opaca. Em geral, a migração pode ser retardada ou evitada pela utilização de surfactantes que limitam a transição de cristais ou controlam cuidadosamente a temperatura de armazenamento, a fim de evitar transições polimórficas de fase das gorduras [1].

### 4.5.3 Sabor

Os triacilgliceróis são moléculas relativamente grandes que apresentam baixa volatilidade e, portanto, pouco sabor inerente. Entretanto, óleos e gorduras comestíveis de diferentes fontes naturais têm perfis de sabor diferenciados pela presença de compostos voláteis característicos, como produtos da oxidação de lipídeos e impurezas naturais. Os ácidos gra-

xos minoritários também podem contribuir com notas sutis de sabor, em especial em gorduras animais (Capítulo 10). O sabor de muitos alimentos é influenciado de maneira indireta pela fase lipídica, pois seus compostos podem sofrer partição entre as frações de óleo, água e regiões gasosas dentro da matriz, de acordo com sua polaridade e sua volatilidade [33]. Por esse motivo, o aroma e o sabor percebidos costumam ser muito influenciados pelo tipo e pela concentração dos lipídeos presentes.

Os lipídeos também influenciam na sensação bucal de muitos alimentos [23]. Os óleos líquidos podem cobrir a língua durante a mastigação, fornecendo uma sensação bucal oleosa característica. Os cristais de gordura conferem sensações “granulares” ou “arenosas” se forem grandes e “de textura suave” se forem pequenos [38]. A fusão de cristais na boca gera uma sensação refrescante, o que é um atributo sensorial importante de muitos alimentos gordurosos [22].

## 4.6 DETERIORAÇÃO QUÍMICA DE LIPÍDEOS: REAÇÕES HIDROLÍTICAS

Os ácidos graxos livres causam problemas aos alimentos, pois produzem odores indesejados, reduzem a estabilidade oxidativa, causam formação de espuma e reduzem o ponto de fumaça (temperatura em que o óleo começa a formar fumaça). Quando a liberação de ácidos graxos livres, a partir de um esqueleto de glicerol, resulta no desenvolvimento de sabor desagradável (p. ex., ácidos graxos livres voláteis de baixo peso molecular que geram aromas desagradáveis, ou ácidos graxos de cadeia longa que geram sabor de sabão), ocorre o que se chama de *rancidez hidrolítica*. Ainda assim, os ácidos graxos de cadeia curta são desejados em produtos como queijos, nos quais contribuem para perfis de sabor.

Os ácidos graxos livres podem ser liberados a partir de triacilgliceróis por enzimas chamadas lipases. Em tecidos vivos, a atividade de (fosfo)lipases é estritamente controlada, já que os ácidos graxos podem apresentar citotoxicidade pela degradação da integridade da membrana celular. Durante o processamento e armazenamento de tecidos biológicos usados como matéria-prima para alimentos, estruturas celulares e mecanismos de controle bioquímico podem ser destruídos e as lipases podem tornar-se ativas (p. ex., pode haver contato com substratos lipídicos). Um bom exemplo disso pode ser observado na produção do óleo de oliva, em que o óleo da primeira prensagem apresenta concentração baixa de ácidos graxos livres. Os óleos das prensagens subsequentes e o extraído do bagaço apresentam conteúdo elevado de ácidos graxos livres, pois a matriz celular é rompida e as lipases têm tempo de hidrolisar os triacilgliceróis. A hidrólise de triacilgliceróis também pode ocorrer na fritura de óleos em razão das temperaturas elevadas de processamento e da introdução de água do alimento frito. Conforme o conteúdo de ácidos graxos livres do óleo de fritura aumenta, o ponto de fumaça e a estabilidade oxidativa diminuem, fazendo com que a tendência para a formação de espuma aumente. Os óleos de fritura comerciais são filtrados sobre uma base regular, com absorventes que são capazes de ligar

e remover ácidos graxos livres, aumentando a vida útil do óleo. A hidrólise de triacilgliceróis também pode ocorrer em valores extremos de pH.

#### 4.7 DETERIORAÇÃO QUÍMICA DE LIPÍDEOS: REAÇÕES OXIDATIVAS

“Oxidação lipídica” é o termo geral utilizado para descrever uma sequência complexa de alterações químicas resultantes da interação de lipídeos com oxigênio [51,52]. Os triacilgliceróis e os fosfolipídeos têm pouca volatilidade e portanto, não contribuem de forma direta para o aroma dos alimentos. Durante reações de oxidação de lipídeos, os ácidos graxos esterificados em triacilgliceróis e fosfolipídeos decompõem-se, formando moléculas pequenas e voláteis que produzem os aromas indesejados conhecidos como *rancidez oxidativa*. Em geral, esses compostos voláteis são prejudiciais à qualidade dos alimentos, embora existam alguns produtos, como alimentos fritos, cereais desidratados e queijos, para os quais pequenas quantidades de produtos da oxidação de lipídeos constituem componentes positivos do sabor.

##### 4.7.1 Mecanismos da oxidação lipídica

A peça central das reações de oxidação lipídicas são as espécies moleculares conhecidas como radicais livres. Os radicais livres são moléculas ou átomos que apresentam elétrons não pareados. As espécies de radicais livres podem variar muito no que diz respeito à energia. Radicais, como o radical hidroxil ( $\cdot\text{OH}$ ), apresentam energia muito elevada e, de fato, podem oxidar qualquer molécula, causando abstração de hidrogênio. Outras moléculas, como o antioxidante  $\alpha$ -tocoferol, podem formar radicais livres com baixa energia que têm menos capacidade de atacar moléculas como os ácidos graxos insaturados.

A cinética da oxidação de lipídeos nos alimentos costuma apresentar uma fase *lag* seguida pelo aumento exponencial da taxa de oxidação (Figura 4.21). O tamanho da fase

*lag* é muito importante para processadores de alimentos, já que esse é o período em que a rancidez não é detectada e a qualidade do alimento é elevada. Uma vez que a fase exponencial é alcançada, a oxidação de lipídeos e o desenvolvimento de aromas indesejáveis ocorrem com rapidez. A extensão da fase *lag* da oxidação aumenta com diminuição de temperatura, concentração de oxigênio, grau de insaturação dos ácidos graxos, atividade de pró-oxidantes e aumento da concentração de antioxidantes. A Figura 4.21 mostra como o  $\gamma$ -tocoferol pode aumentar a fase *lag* da oxidação de uma emulsão O/W de milho [53].

A oxidação pode ocorrer tanto em ácidos graxos livres como em grupos acil graxos. A via de oxidação de ácidos graxos pode ser descrita por três etapas gerais: iniciação, propagação e terminação.

*Iniciação:* Essa etapa descreve a abstração do hidrogênio de um ácido graxo para a formação de um radical ácido graxo conhecido como radical alquil ( $\text{L}\cdot$ ). Uma vez que o radical alquil é formado, o radical livre é estabilizado pela deslocalização sobre a ligação dupla, resultando em deslocamento da ligação dupla e, no caso de ácidos graxos poli-insaturados, a partir da formação de ligações duplas conjugadas. O deslocamento da localização pode produzir ligações duplas nas configurações *cis* ou *trans*, sendo que há predominância da *trans*, causa de sua maior estabilidade. A Figura 4.22 mostra as etapas de iniciação para a abstração de hidrogênio a partir do carbono metilênico do ácido linoleico, com geração de dois isômeros pelo rearranjo da ligação dupla. Quando o hidrogênio é abstraído do ácido oleico, o radical alquil pode ser encontrado em três localizações diferentes (Figura 4.23).

A facilidade para a formação de radicais de ácidos graxos aumenta com o crescimento da insaturação. A energia de dissociação da ligação covalente carbono-hidrogênio em uma cadeia alifática é de  $98 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Se um átomo de carbono é adjacente a uma ligação dupla, a ligação covalente carbono-hidrogênio torna-se mais fraca, com energia de dissociação de  $89 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Em ácidos graxos poli-insaturados, as ligações duplas apresentam-se em uma

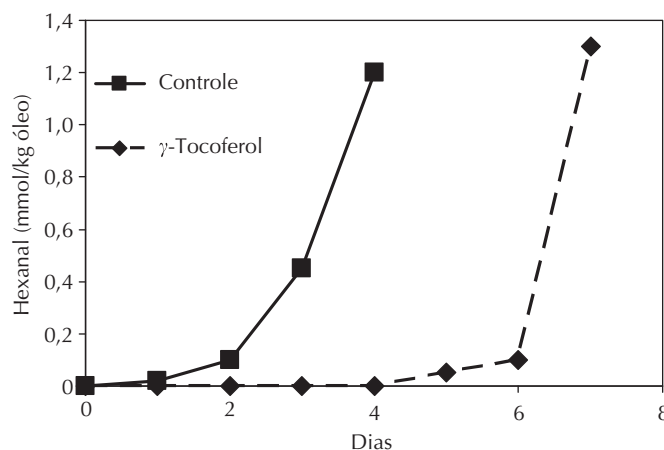


FIGURA 4.21 Impacto do  $\gamma$ -tocoferol sobre a fase *lag* da oxidação de uma emulsão O/W de milho. (Adaptada de Huang, S.W., Frankel, E.N. e German, J.B. (1994). *J. Agric. Food Chem.* 42:2108-2114.)

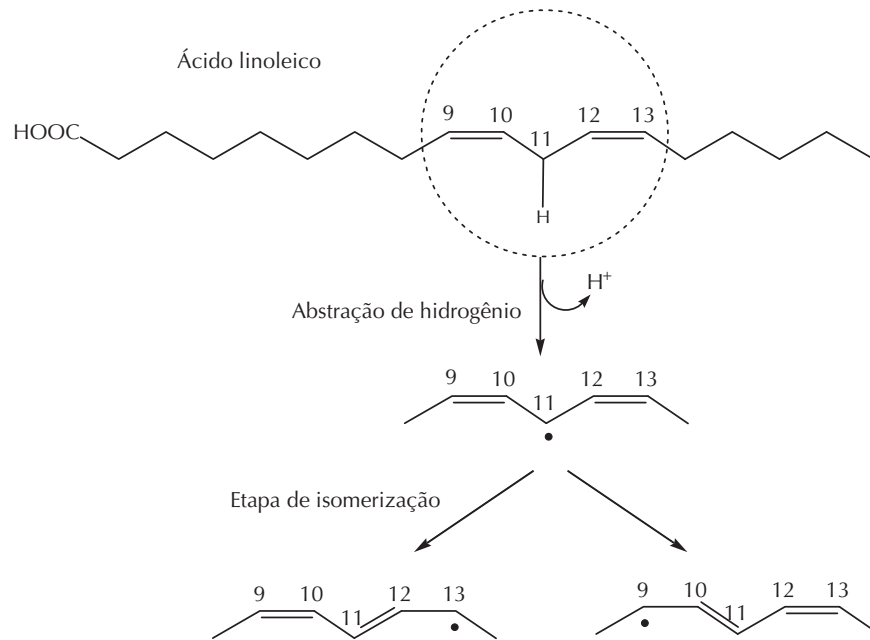


FIGURA 4.22 Etapa de iniciação da oxidação de lipídeos para ácido linoleico.

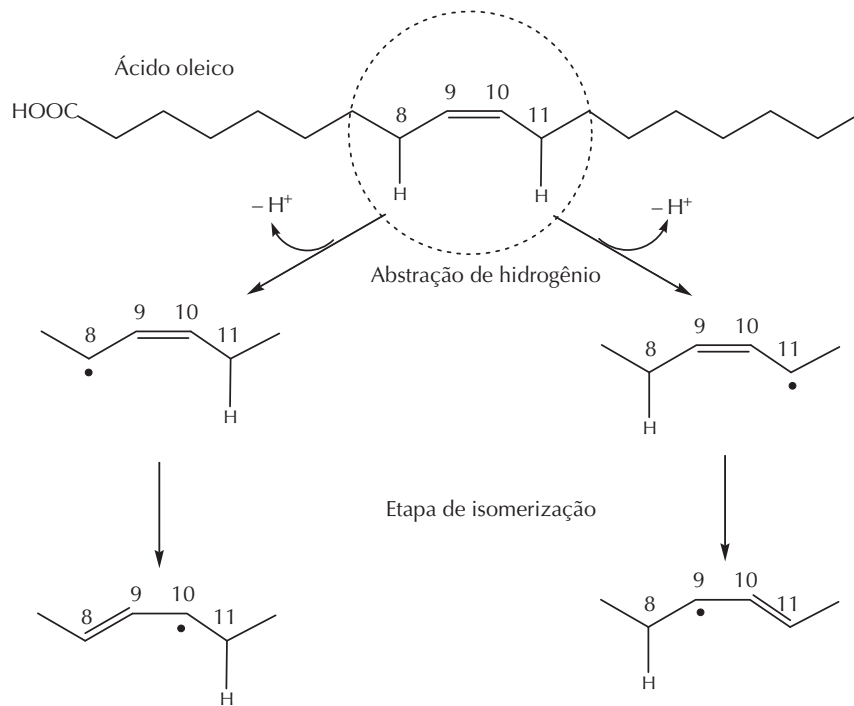


FIGURA 4.23 Etapa de iniciação da oxidação de lipídeos para ácido oleico.

configuração de pentadieno com carbono metilênico intermediário (Figura 4.24). Como a ligação covalente carbono-hidrogênio desse carbono é enfraquecida por duas ligações duplas, sua energia de dissociação de ligação é ainda menor, 80 kcal mol<sup>-1</sup>. À medida que a energia de dissociação da ligação carbono-hidrogênio diminui, a abstração do hidrogênio torna-se mais fácil e a oxidação de lipídeos, mais rá-

pida. Estima-se que o ácido linoleico (18:2) seja de 10 a 40 vezes mais suscetível à oxidação que o ácido oleico (18:1). Quando outras ligações duplas são adicionadas a ácidos graxos poli-insaturados, um carbono metilênico intermediário é adicionado, produzindo outro sítio de abstração de hidrogênio. Por exemplo, o ácido linoleico (18:2) apresenta um carbono metilênico, enquanto o ácido linolênico (18:3)



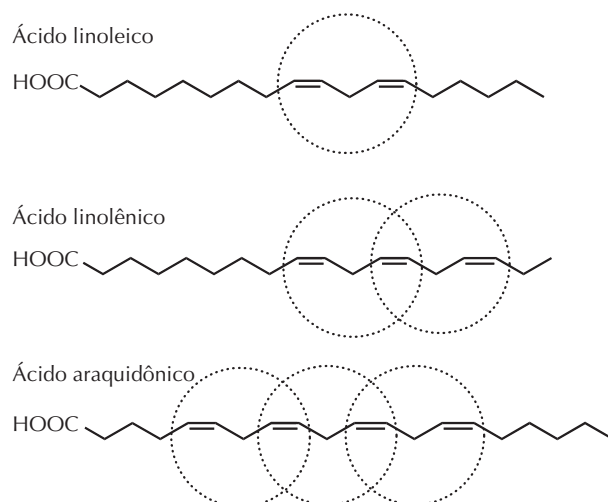


FIGURA 4.24 Pentadienos dos ácidos linoleico, linolênico e araquidônico.

apresenta dois e o araquidônico (20:4), três (Figura 4.24). Na maioria dos casos, as taxas de oxidação dobram com a adição de um carbono metilênico. Logo, o ácido linolênico oxida duas vezes mais rápido que o linoleico, sendo que o araquidônico oxida duas vezes mais rápido que o linolênico (quatro vezes mais rápido que o linoleico).

**Propagação:** A primeira etapa da propagação envolve a adição de oxigênio ao radical alquil. Oxigênio atmosférico ou triplete é um birradical, pois contém dois elétrons com a mesma direção de *spin* que não podem existir no mesmo orbital de *spin*. Os radicais livres formados a partir do oxigênio triplete têm pouca energia, não causando a abstração direta de hidrogênio. No entanto, os radicais livres de oxigênio podem reagir com o radical alquil em uma taxa de difusão limitada. A combinação de radicais alquil com um dos radicais do oxigênio triplete resulta na formação de uma ligação covalente. O outro radical do oxigênio permanece livre. O radical resultante é conhecido como radical peroxil ( $\text{LOO}^\bullet$ ). A energia elevada dos radicais peroxil permite que eles promovam a abstração de hidrogênio de outra molécula. Como a ligação covalente carbono-hidrogênio de ácidos graxos insaturados é fraca, essas substâncias são suscetíveis ao ataque de radicais peroxil. A adição de hidrogênio ao radical peroxil resulta na formação de um hidroperóxido de ácido graxo ( $\text{LOOH}$ ) e na formação de novos radicais alquil em outros ácidos graxos. Portanto, a reação é propagada de um ácido graxo para outro. Um esquema dessa via para duas moléculas de ácido linoleico é mostrado na Figura 4.25. A localização do hidroperóxido lipídico corresponderá à localização do radical alquil (mostrado nas Figuras 4.22 e 4.23). Logo, o oleato produzirá quatro hidroperóxidos e o linoleato, dois.

**Terminação:** Essa reação descreve a combinação de dois radicais para a formação de espécies não radicais. Na presença de oxigênio, o radical livre predominante é o radical peroxil, uma vez que o oxigênio será adicionado aos radicais alquil em taxas de difusão limitadas. Logo, sob condições atmosféricas, as reações de terminação podem ocorrer entre radicais

peroxil e alcooxil. Em ambientes com pouco oxigênio (p. ex., óleos de fritura), podem ocorrer reações de terminação entre radicais alquil, formando-se dímeros de ácidos graxos (Figura 4.26). Os polímeros de ácidos graxos têm sido usados como indicadores da qualidade de óleos de fritura [54].

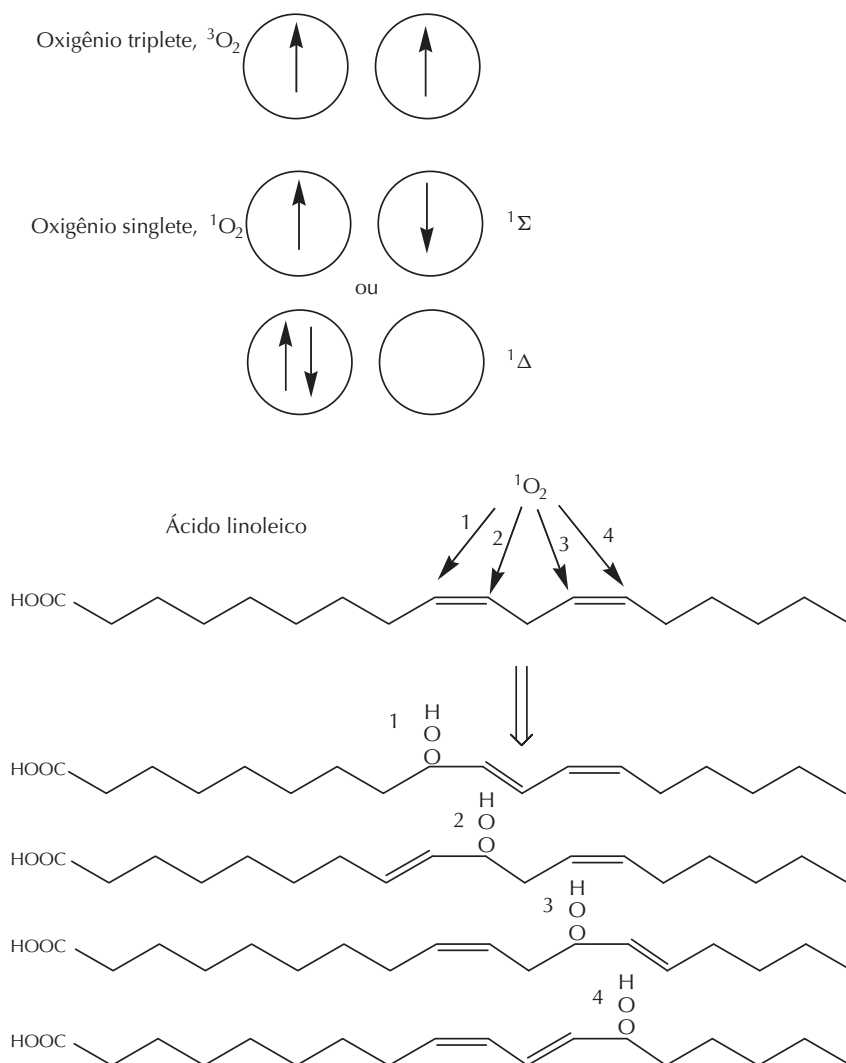
#### 4.7.2 Pró-oxidantes

A oxidação de lipídeos costuma ser chamada de auto-oxidação. O prefixo “auto” significa “que age por si”, portanto o termo “auto-oxidação” é usado para descrever a geração por perpetuação própria de radicais livres a partir de ácidos graxos insaturados na presença de oxigênio ocorrente durante a oxidação lipídica. Na etapa de iniciação, a abstração de hidrogênio de ácidos graxos insaturados resulta na produção de um único radical livre. A adição de oxigênio ao radical alquil para a formação de um radical peroxil e a abstração subsequente de hidrogênio, a partir de outro ácido graxo ou antioxidante, para a formação de um hidroperóxido lipídico, na etapa de propagação, não resultam em aumento líquido de radicais livres. Logo, se a “auto-oxidação” for a única reação na oxidação de lipídeos, a formação de produtos de oxidação aumentará linearmente a partir do tempo zero. Entretanto, em muitos alimentos, a fase *lag* é seguida por rápido aumento exponencial da oxidação. Isso indica que existem outras reações de oxidação lipídica que produzem radicais livres adicionais.

Os pró-oxidantes, encontrados em todos os sistemas alimentares, são compostos ou fatores que causam ou aceleram a oxidação de lipídeos. Muitos pró-oxidantes não são catalisadores verdadeiros, pois são alterados durante a reação (p. ex., o oxigênio singlete é convertido em hidroperóxido e o íon ferroso é convertido ao estado férrico). Os pró-oxidantes podem acelerar a oxidação de lipídeos por interação direta com ácidos graxos insaturados para a formação de hidroperóxidos lipídicos (p. ex., LOXs e oxigênio singlete) ou para a promoção da formação de radicais livres (p. ex., metais de transição ou decomposição de peró-







**FIGURA 4.27** O oxigênio singlete e a formação de hidroperóxidos do ácido linoleico estimulada por oxigênio singlete (Adaptada de Min, D.B. e Boff, J.M. (2002). Em *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (Akoh, C.C. and Min, D.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp.335-364).

trons do orbital antiligante 2p têm direções de *spin* opostas, o oxigênio é chamado de singlete ( $^1\text{O}_2$ ). O oxigênio singlete pode existir em cinco diferentes configurações, sendo que o mais comum em alimentos é o estado  $^1\Delta$ , no qual os elétrons existem no mesmo orbital (para descrição detalhada, ver Referência 51). Como o oxigênio singlete é mais eletrofílico que o triplete, ele pode reagir diretamente com a densidade eletrônica elevada das ligações duplas. Uma vez que os elétrons do oxigênio singlete ajustam-se à direção de *spin* do elétron na ligação dupla, eles podem reagir com ácidos graxos insaturados de maneira direta, formando hidroperóxidos lipídicos 1.500 vezes mais rápidos que o oxigênio triplete. O singlete pode reagir com cada carbono localizado no final da ligação dupla, deslocando a ligação dupla para a formação de uma ligação dupla *trans*. Isso significa que a oxidação do linoleato pelo oxigênio singlete pode produzir quatro hidroperóxidos diferentes (Figura 4.27), em comparação aos dois hidroperóxidos típicos produzidos na etapa de iniciação da

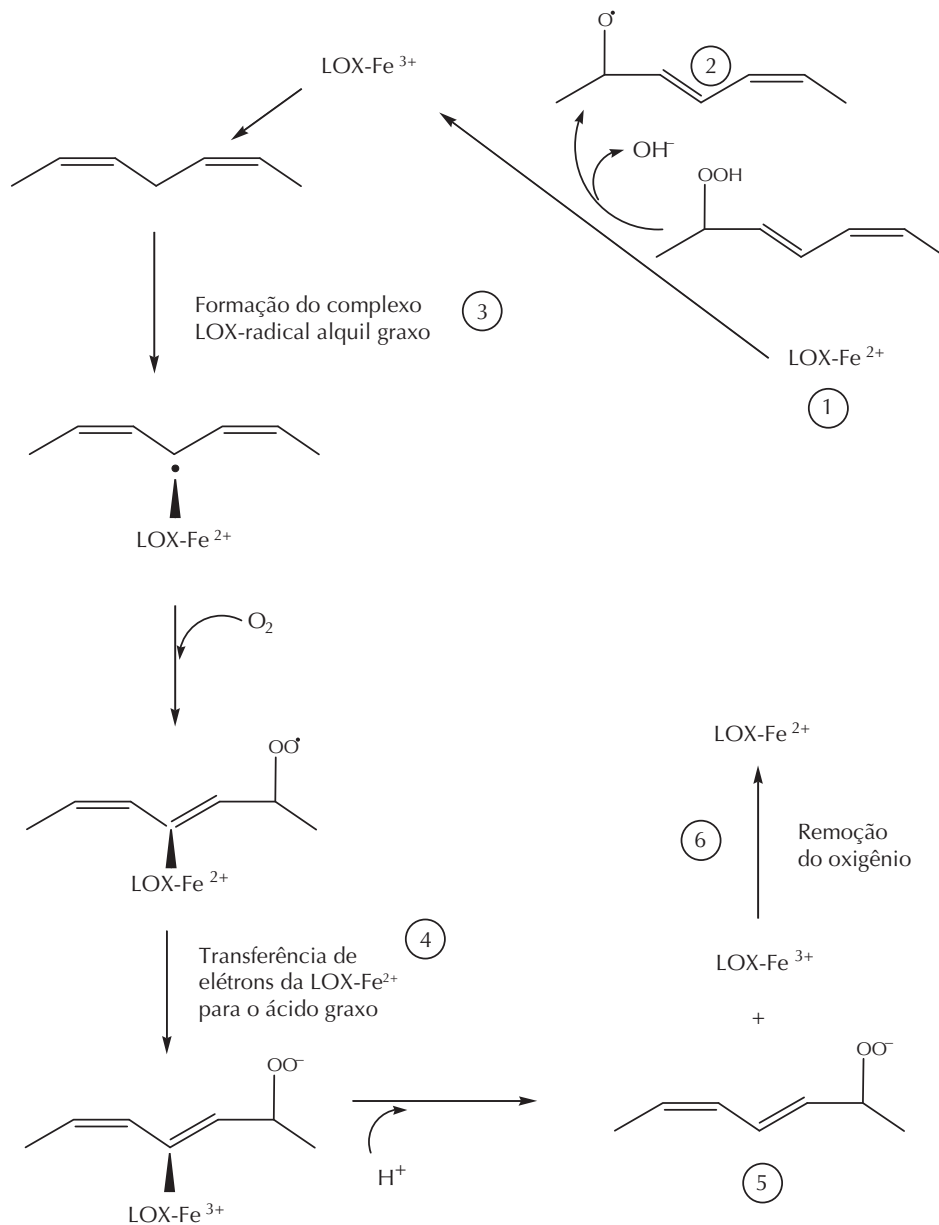
oxidação de lipídeos (Figura 4.22). As localizações diferentes dos hidroperóxidos resultarão na formação de diversos produtos únicos de decomposição de ácidos graxos, os quais serão discutidos adiante.

A formação mais comum de produção do oxigênio singlete é a por fotossensitização. Clorofila, riboflavina e mioglobina são os fotossensores de alimentos que podem absorver energia da luz, formando um estado singlete excitado, o qual é convertido para o estado triplete excitado. Este pode reagir diretamente com substratos, como ácidos graxos insaturados, e abstrair um hidrogênio para causar a iniciação da oxidação lipídica. Essa via é conhecida como Tipo 1. Ela produzirá os mesmos hidroperóxidos lipídicos observados na etapa de iniciação descrita na Figura 4.22. O estado triplete excitado do fotossensor também pode reagir com o oxigênio triplete, formando o oxigênio singlete e o estado singlete do fotossensor na via de Tipo 2. As vias de Tipo 1 e 2 são dependentes da concentração de oxigênio, sendo

que a de Tipo 2 é favorecida por ambientes com oxigênio elevado. O oxigênio singlete também pode ser formado química e enzimaticamente, bem como por decomposição de hidroperóxidos. Entretanto, acredita-se que a produção por fotossensitização seja a principal via de formação de oxigênio singlete nos alimentos.

*Lipoxigenase:* Diversos tecidos vegetais e animais contêm enzimas conhecidas como LOXs, as quais produzem hidroperóxidos lipídicos. A LOX de sementes de plantas como soja e ervilha existem em diversas isoformas (para revisão, ver Referência 55). Na soja, a isoforma L-1 inicialmente reage com ácidos graxos livres, produzindo hidroperóxidos no

carbono 13 dos ácidos linoleico e linolênico. A isoforma L-2 produz hidroperóxidos nas posições 9 e 13, sendo ativa sobre os ácidos linoleico e linolênico, livres ou esterificados. As LOXs de plantas são enzimas citoplasmáticas que contêm ferro sem grupo heme. O ferro na LOX inativa está no estado ferroso (Figura 4.28. [1]). A ativação ocorre pela oxidação do ferro ao estado férrico, um processo que costuma ser promovido por peróxidos (2). A LOX então catalisa a abstração do hidrogênio do carbono metilênico a fim de formar o radical alquil e a conversão do ferro da LOX, o qual retorna ao estado ferroso, resultando na formação de um complexo LOX-radical alquil graxo (3). Um elétron do íon ferroso é então doado ao radical peroxil com a finalidade de formar



**FIGURA 4.28** Mecanismo da formação de hidroperóxidos estimulada pela LOX sobre o ácido linoleico (Adaptada de Zhuang, H., Barth, M.M. e Hildebrand, D. (2002). De *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (Akoh, C.C. and Min, D.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp.413-464).

um ânion peroxil (4). Quando o ânion peroxil reage com o hidrogênio para formar o hidroperóxido, o ácido graxo é liberado da enzima (5). Uma vez que o oxigênio é removido do sistema, a enzima abstrai um hidrogênio de um ácido graxo e o ferro é convertido ao estado ferroso (6). Como não há oxigênio, o radical alquil é liberado e a LOX volta a sua forma inativa. As LOXs também têm sido descritas em tecidos animais, em especial em tecidos com muita associação ao sistema circulatório (p. ex., guelras de peixes) [56].

#### 4.7.2.2 *Pró-oxidantes que promovem a formação de radicais livres*

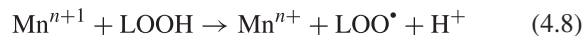
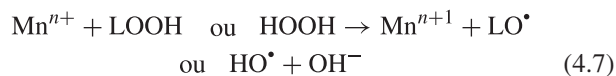
**Radiações ionizantes:** Por vezes, os alimentos são submetidos a radiações ionizantes para a destruição de patógenos e o aumento de sua vida útil. Entretanto, as radiações ionizantes podem converter moléculas a estados excitados, que produzem radicais livres. As radiações ionizantes produzem radicais hidroxil ( $\cdot\text{OH}$ ) a partir da água. Dos radicais conhecidos, o radical hidroxil é o mais reativo, sendo capaz de abstrair hidrogênio de lipídeos e moléculas como proteínas, e DNA. Portanto, não é surpreendente que a irradiação de alimentos, em especial alimentos cárneos, ricos em lipídeos e pró-oxidantes, possam sofrer aumento da rancidez oxidativa.

#### 4.7.2.3 *Pró-oxidantes que promovem a decomposição de hidroperóxidos*

Os hidroperóxidos lipídicos são encontrados em todos os alimentos que contêm lipídeos, sendo também encontrado em alimentos quando é utilizado como auxiliar em processamento e quando é produzido por enzimas como a superóxido dismutase (SOD). Os triacilgliceróis de alimentos apresentam 1-100 nmol de hidroperóxidos por grama de lipídeo. Isso corresponde a um número 400-1000 vezes superior às concentrações de hidroperóxidos estimadas *in vivo* (p. ex., lipídeos plasmáticos), o que sugere que a oxidação ocorre durante a extração e o refino de óleos e gorduras [57]. Os hidroperóxidos lipídicos podem ser decompostos por temperaturas elevadas, durante o processamento térmico, ou por diversos pró-oxidantes. Após a decomposição, eles produzem radicais adicionais, um fator que pode ser responsável pelo aumento exponencial da oxidação observada após a fase *lag* ou período de indução, ocorrente em muitos alimentos. A decomposição de hidroperóxidos lipídicos também leva à formação de radicais alcooxil, os quais podem ingressar em reações de  $\beta$ -clivagem. A reação de  $\beta$ -clivagem é a principal via de decomposição de ácidos graxos em compostos de baixa massa molecular, os quais são voláteis o suficiente para serem percebidos como ranço oxidativo (o que será discutido adiante).

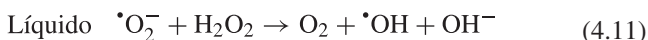
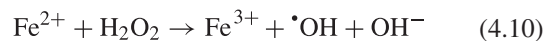
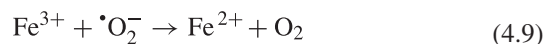
**Metais de transição:** Os metais de transição são encontrados em todos os alimentos, pois são constituintes comuns de material biológico, água, ingredientes e materiais de embalagem. Eles são uns dos principais pró-oxidantes dos alimentos, diminuindo a estabilidade oxidativa de alimentos e tecidos biológicos por sua capacidade de decompor hidro-

peróxidos em radicais livres [58,59]. Os metais reativos decompõem peróxidos de hidrogênio e peróxidos lipídicos por meio da via de ciclo redox, a seguir:



$\text{Mn}^{n+}$  e  $\text{Mn}^{n+1}$  são metais de transição em seu estado reduzido e oxidado; LOOH e HOOH são peróxidos de lipídeo e hidrogênio; e  $\text{LO}\cdot$ ,  $\cdot\text{OH}$  e  $\text{LOO}\cdot$  são os radicais alcooxil, hidroxil e peroxil, respectivamente. Os radicais hidroxil são produzidos a partir de peróxido de hidrogênio, enquanto os radicais alcooxil são produzidos a partir de peróxidos lipídicos. Quando o ferro e o hidroperóxido estão envolvidos com essa via, ocorre a reação de Fenton. A concentração, o estado químico e o tipo de metal influenciarão na velocidade da decomposição do hidroperóxido. O cobre e o ferro são os metais de transição que mais costumam participar dessas reações em alimentos, sendo que o ferro geralmente é encontrado em concentrações superiores em comparação ao cobre. Este é mais reativo no estado cuproso ( $\text{Cu}^+$ ), decompondo o peróxido de hidrogênio com velocidade 50 vezes superior à decomposição promovida pelo íon ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ). O estado redox também é importante, sendo que o  $\text{Fe}^{2+}$  decompõe hidrogênio  $10^5$  vezes mais rápido que o  $\text{Fe}^{3+}$ . Além disso, o  $\text{Fe}^{2+}$  é mais hidrossolúvel que o  $\text{Fe}^{3+}$ , o que indica que ele estará mais disponível para promover a decomposição de hidroperóxidos em alimentos hidrossolúveis. O tipo de peróxido também é importante nesse processo. Por exemplo, o  $\text{Fe}^{2+}$  decompõe hidroperóxidos lipídicos cerca de 10 vezes mais rápido que o peróxido de hidrogênio [58,59].

Como o estado reduzido do metal de transição é mais eficiente na decomposição de peróxidos, os compostos redutores que são capazes de promover o ciclo redox de metais de transição podem promover a oxidação de lipídeos. Exemplos de redutores pró-oxidantes são o ânion superóxido ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) e o ácido ascórbico. O ânion superóxido é produzido pela adição de um elétron ao oxigênio triplete. O elétron adicionado ao ânion superóxido pode então ser transferido a um metal de transição para causar sua redução. Esse ânion é produzido por enzimas, liberação de oxigênio da oximioglobina na produção de metamioglobina ou por células como os fagócitos. O ciclo redox do ferro via ânion superóxido para a formação da oxidação de lipídeos é mostrado nas equações abaixo. Esse ciclo é conhecido como reação de Haber-Weiss.



O ácido ascórbico também pode participar das reações de Haber-Weiss, entretanto, ao contrário do ânion superóxido, ele também pode agir como antioxidante. Em concentrações elevadas de ascorbato, sua atividade antioxidante predomina sobre sua capacidade de acelerar oxidações promovidas por metais, o que resulta em um efeito líquido antioxidante.

Os metais de transição associados a proteínas também podem promover a decomposição de hidroperóxidos. As heme-proteínas são as proteínas melhor estudadas desse grupo, sendo que o ferro na mioglobina, a hemoglobina, as peroxidases e a catalase são capazes de promover tanto a decomposição de peróxidos lipídicos como de peróxidos de hidrogênio. Em alguns casos, as heme-proteínas têm sido apontadas como causa da cisão homolítica de hidroperóxidos lipídicos, o que indica que o rompimento de hidroperóxidos produzirá dois radicais livres (hidroxil e alcooxil). A desnaturalização térmica dessas proteínas pode aumentar sua atividade pró-oxidante, o que se presume pelo aumento da exposição do ferro do grupo heme, o qual está mais disponível para interação efetiva com hidroperóxidos. A desnaturalização da mioglobina é um dos fatores que acelera a oxidação de lipídeos em carnes cozidas. Esse problema é conhecido como sabor superaquecido.

*Luz e temperaturas elevadas:* A UV e a luz visível podem promover a decomposição de hidroperóxidos para produzir radicais livres. Logo, embalagens que diminuem a exposição à luz podem atenuar a velocidade da oxidação lipídica. Além disso, temperaturas elevadas promoverão a decomposição de hidroperóxidos lipídicos. De fato, o acúmulo de hidroperóxidos lipídicos não costuma ser percebido em óleos de fritura, pois a ruptura deles ocorre rapidamente após serem formados.

### 4.7.3 Formação de produtos de decomposição da oxidação de lipídeos

Uma vez que os hidroperóxidos lipídicos são decompostos em radicais alcooxil, podem ocorrer diversos esquemas de reações. Os produtos desses esquemas dependerão do tipo de ácido graxo e da localização do hidroperóxido no ácido graxo. Além disso, os produtos de decomposição podem ser insaturados, apresentando estruturas pentadieno intactas, o que significa que os produtos de oxidação podem ser oxidados depois. Isso resulta na formação de centenas de produtos diferentes de oxidação de ácidos graxos. Como o tipo de produto de oxidação do ácido graxo depende da composição dos ácidos graxos do alimento, a oxidação de lipídeos pode causar diferentes efeitos sobre as propriedades sensoriais. Por exemplo, a oxidação de óleos vegetais que apresentam predominância de ácidos graxos  $\omega$ -6 produzirá odores “gramíneos” e “de feijão”, enquanto a oxidação de ácidos graxos de cadeia longa  $\omega$ -3 em óleos marinhos produzirá aromas “de pescado”.

Uma das razões que leva à clivagem de cadeias alifáticas de ácidos graxos na decomposição de hidroperóxidos lipídicos é a produção do radical alcooxil ( $LO^*$ ). Este é mais energético que os radicais alquil ( $L^*$ ) e peroxil ( $LOO^*$ ). Portanto, quando o radical alcooxil é produzido, ele tem energia suficiente para abstrair um elétron das ligações covalentes adjacentes ao radical alcooxil causando a clivagem da cadeia alifática do ácido graxo. Essa última reação, conhecida como reação de  $\beta$ -clivagem, é importante para a qualidade de alimentos, pois resulta na decomposição de ácidos graxos em compostos de baixa massa molecular, os quais são percebidos como ranço.

#### 4.7.3.1 Reações de $\beta$ -clivagem

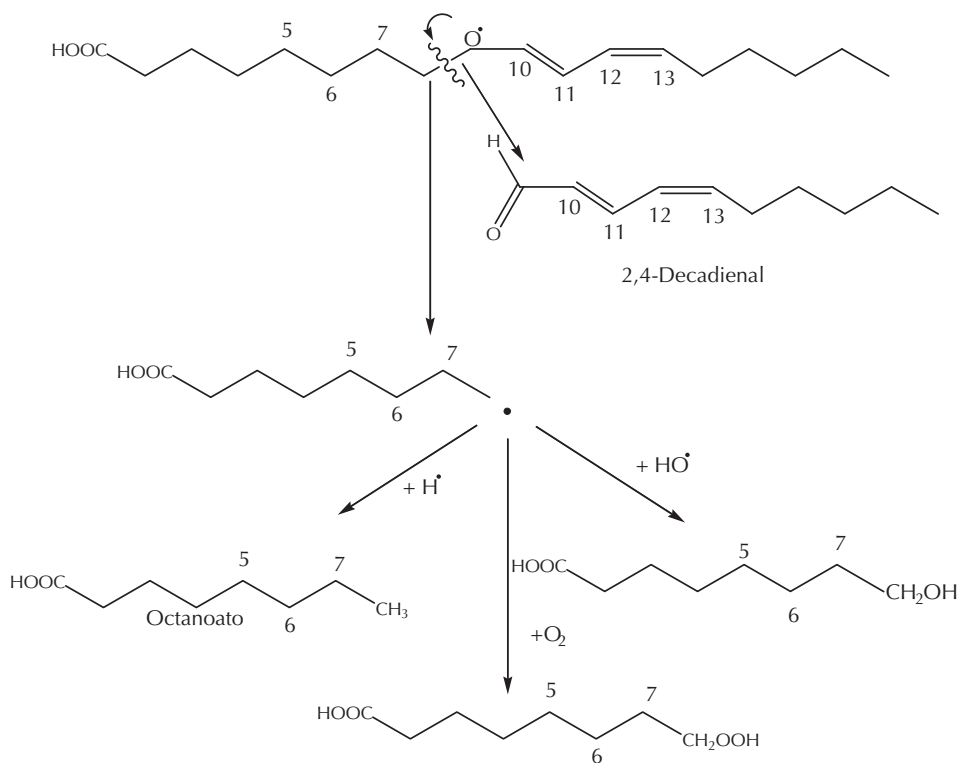
A decomposição de hidroperóxidos lipídicos em radicais alcooxil ( $LO^*$ ) costuma ser acompanhada pela reação de  $\beta$ -clivagem. Essa reação rompe a cadeia alifática do ácido graxo produzindo aldeídos e um radical na cadeia alifática (p. ex., um radical alquil). O radical alquil pode então reagir com um radical hidrogênio formando o hidrocarboneto, com um radical hidroxil formando um álcool ou com o oxigênio formando um hidroperóxido. Exemplos dessas reações são mostrados na Figura 4.29. Mais detalhes sobre essas reações podem ser encontrados em outras publicações [52]. Como os hidroperóxidos podem ser formados em diversas localizações de um ácido graxo insaturado, muitos produtos diferentes são produzidos pelas reações de  $\beta$ -clivagem. O ácido linoleico não esterificado será usado para demonstrar os tipos de produtos resultantes das reações de  $\beta$ -clivagem. O leitor deve lembrar que o produto de decomposição no terminal ácido carboxílico do ácido graxo costuma encontrar-se esterificado no glicerol de um triacilglicerol ou de um fosfolipídeo. Logo, esse produto de decomposição não seria volátil e, portanto, não contribuiria para a rancidez, a não ser que sofresse reações de decomposição posteriores, formando compostos de baixa massa molecular.

A Figura 4.30 mostra a formação de produtos de decomposição do ácido linoleico quando o hidroperóxido está localizado no carbono 9 e a  $\beta$ -clivagem ocorre no lado metil terminal da molécula. Na Etapa 1, o hidroperóxido decompõe-se no radical alcooxil. A Etapa 2 mostra a reação de  $\beta$ -clivagem rompendo a ligação carbono-carbono adjacente para a formação de dois produtos. Essa clivagem (Etapa 2) produz 9-oxononanoato e um radical vinílico de nove carbonos (radical olefínico). Radicais vinílicos costumam interagir com radicais hidroxil, formando aldeídos e produzindo, portanto, 3-nonenal. Vias similares ocorrem se o hidroperóxido encontra-se no carbono 13. A clivagem no terminal ácido carboxílico produzirá 12-oxo-9-dodecenoato e hexanal. A clivagem no terminal metil produzirá 13-oxo-9,11-tridecadienoato e pentano. O 9-hidroperóxido do ácido linoleico também pode sofrer  $\beta$ -clivagem no terminal ácido carboxílico do ácido graxo, após a formação do radical alcooxil, conforme apresentado na Figura 4.29, a fim de formar octanoato e 2,4-decadienal.

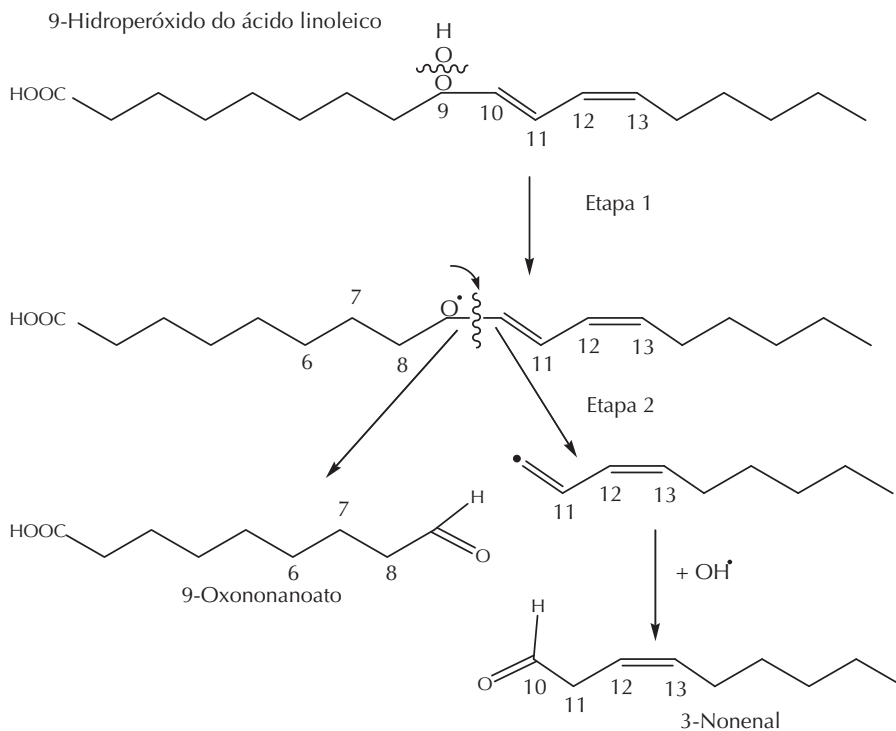
Quando o oxigênio singlete ataca o ácido linoleico, ele forma hidroperóxidos em todos os carbonos associados às ligações duplas (Figura 4.27). Isso significa que haverá formação de hidroperóxidos nos carbonos 9 e 13, assim como na oxidação iniciada por radicais livres, além de mais hidroperóxidos nos carbonos 10 e 12. Os produtos típicos da reação de  $\beta$ -clivagem de um radical alcooxil no carbono 10 serão o 9-oxononanoato e o 3-nonenal para clivagem no terminal carboxílico e 10-oxo-8-decenoato e 2-octeno para clivagem no terminal metil do ácido graxo. Os produtos típicos da reação de  $\beta$ -clivagem de um radical alcooxil no carbono 12 serão 9-undecenoato e 2-heptenal para clivagem no terminal carboxílico e 12-oxo-9-dodecenoato e hexanal para clivagem no terminal metil do ácido graxo.

Como pode ser observado a partir da discussão sobre os produtos de  $\beta$ -clivagem e outras reações de radicais livres do





**FIGURA 4.29** Vias de reação possíveis para um radical livre lipídico produzido por reações de β-clivagem. (Adaptada de Frankel, E.N. (1998). *Lipid Oxidation*, Oily Press, Scotland.)



**FIGURA 4.30** Produtos de decomposição da β-clivagem do 9-hidroperóxido do ácido linoleico, quando a clivagem do ácido graxo ocorre no terminal metil do hidroperóxido. (Adaptada de Frankel, E.N. (1998). *Lipid Oxidation*, Oily Press, Scotland.)

ácido linoleico, vários produtos podem ser formados. Para uma discussão detalhada sobre os produtos da  $\beta$ -clivagem de ácidos graxos, ver Referência 52. Vias similares a essa ocorrerão para outros ácidos graxos insaturados, produzindo compostos únicos adicionais. Os produtos de decomposição costumam conter ligações duplas e, em alguns casos, sistemas pentadieno intactos. Os sistemas de ligações duplas podem sofrer abstração de hidrogênio ou ataque por oxigênio singlete que resultará na formação de produtos de decomposição adicionais. Enquanto a discussão anterior mostra os produtos de decomposição teóricos do ácido linoleico, a realidade indica que nem todos esses produtos são detectados. Isso se deve ao fato de que esses compostos podem passar por reações de decomposição adicionais.

#### 4.7.3.2 *Produtos de reações adicionais da decomposição de ácidos graxos*

Além dos produtos de hidroperóxidos de ácidos graxos já descritos, os radicais de ácidos graxos podem passar por diversas outras reações, formando produtos como olefinas, álcoois, ácidos carboxílicos, cetonas, epóxidos e produtos cíclicos (para revisão, ver Referência 52). Os radicais alquil reagem com os radicais hidrogênio e hidroxil, produzindo olefinas e álcoois. Como já foi mencionado, os radicais alcooxil são altamente energéticos. Por isso, eles podem abstrair hidrogênio de outras moléculas como ácidos graxos insaturados ou antioxidantes, a fim de produzir álcoois de ácidos graxos. Os radicais alcooxil também podem perder um elétron, sendo convertidos em cetona, ou podem ligar-se a um carbono adjacente, a fim de formar um epóxido. Os radicais peroxil podem reagir com ligações duplas dentro de um mesmo ácido graxo, produzindo produtos cíclicos como endoperóxidos bicíclicos.

Os aldeídos produzidos a partir da decomposição de ácidos graxos são importantes em virtude de sua influência sobre o desenvolvimento de odores indesejáveis. Entretanto, os aldeídos podem reagir com componentes nucleofílicos do alimento. Em particular, eles interagem com sulfidril e aminas, em proteínas, podendo alterar a funcionalidade das proteínas. Um exemplo disso é a capacidade dos aldeídos insaturados de reagir com histidina na mioglobina, via reação de adição do tipo Michael [60]. Acredita-se que essa reação contribua para a conversão da mioglobina em metamioglobina, causando a descoloração da carne.

#### 4.7.3.3 *Oxidação do colesterol*

O colesterol contém uma ligação dupla entre os carbonos 5 e 6. Como no caso dos ácidos graxos, a ligação dupla é suscetível ao ataque de radicais livres, podendo sofrer reações de decomposição para produzir álcoois, cetonas e epóxidos [61]. A via mais notável de oxidação do colesterol é iniciada pela formação de um hidroperóxido no carbono 7. Esse hidroperóxido pode decompor-se em um radical alcooxil que, por sua vez, pode ser reorganizado em 5,6 epóxidos, 7-hidroxil colesterol e 7-cetocolesterol. Os produtos de oxidação do colesterol são potencialmente citotóxicos, tendo

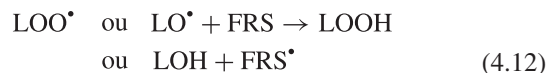
sido associados ao desenvolvimento de arteriosclerose. Os produtos de oxidação do colesterol têm sido encontrados, principalmente, em produtos de origem animal que passam por tratamentos térmicos, tais como carnes cozidas, banha, sebo e manteiga, bem como em derivados desidratados de leite e ovos.

### 4.7.4 *Antioxidantes*

O estresse oxidativo ocorre em todos os organismos expostos a ambientes oxigenados. Logo, os sistemas biológicos desenvolveram diversas defesas antioxidantes a fim de se proteger da oxidação. Não existe uma definição uniforme para antioxidante, pois existem diversos mecanismos químicos pelos quais a oxidação pode ser inibida. Em geral, os tecidos biológicos a partir dos quais os alimentos são obtidos contêm muitos sistemas antioxidantes endógenos. Infelizmente, as operações de processamento de alimentos podem remover antioxidantes ou causar estresse oxidativo, superando os sistemas antioxidantes endógenos do alimento. Portanto, é comum que se incorpore proteção antioxidante adicional a alimentos processados. Os mecanismos antioxidantes dos compostos que são usados para aumentar a estabilidade oxidativa de alimentos incluem o controle de radicais livres, pró-oxidantes e intermediários da oxidação.

#### 4.7.4.1 *Controle de radicais livres*

Muitos antioxidantes retardam a oxidação de lipídeos pela remoção de radicais livres, inibindo, portanto, a iniciação, propagação e reações de  $\beta$ -clivagem. Sequestrantes de radicais livres (SRLs) ou antioxidantes que interrompem a reação em cadeia podem interagir com os radicais peroxil ( $\text{LOO}^{\bullet}$ ) e alcooxil ( $\text{LO}^{\bullet}$ ) por meio das seguintes reações:



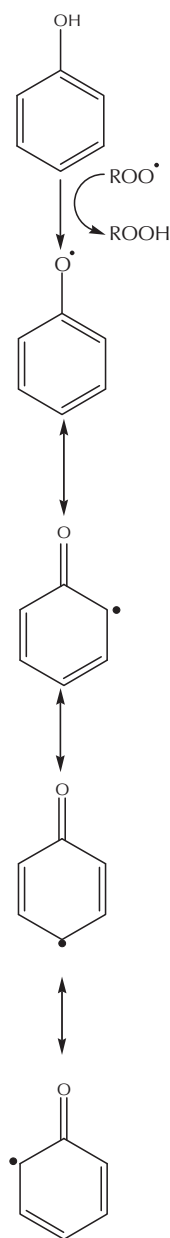
Os sequestrantes de radicais livres inibem a oxidação de lipídeos por reagirem mais rápido com os radicais livres, em comparação aos ácidos graxos insaturados. Acredita-se que os SRLs interajam principalmente com radicais peroxil, pois seu estado energético mais baixo faz com que eles tenham uma meia-vida maior (o que se dá por sua reatividade menor) e, portanto, têm mais possibilidades de reagirem com o hidrogênio de baixa energia do BRL. Os radicais livres de alta energia (p. ex.,  $^{\bullet}\text{OH}$ ), ao contrário, são tão reativos que interagem com as moléculas mais próximas de seu local de produção. Como os SRLs costumam ser encontrados em baixas concentrações, eles são menos propensos a estarem disponíveis para reagir, em comparação aos radicais livres de alta energia [62].

A eficiência do antioxidante depende da capacidade do SRL em doar hidrogênio para um radical livre. Como a energia de ligação do hidrogênio no SRL diminui, a transferência do hidrogênio para o radical livre é energeticamente mais favorável e, portanto, mais rápida. A capacidade de um SRL de doar seu hidrogênio para um radical livre pode ser prevista

com a ajuda de potenciais-padrão de redução [63]. Qualquer composto que tenha um potencial de redução menor que o de um radical livre (ou espécie oxidada) é capaz de doar seu hidrogênio para esse radical livre, a não ser que a reação seja impossível do ponto de vista cinético. Por exemplo, em um SRL que inclui  $\alpha$ -tocoferol ( $E^{\circ} = 500$  mV), catecol ( $E^{\circ} = 530$  mV) e ascorbato ( $E^{\circ} = 282$  mV), todos apresentam potencial de redução menor que os radicais peroxil ( $E^{\circ} = 1000$  mV) e, portanto, são capazes de doar seu hidrogênio para que o radical peroxil forme um hidroperóxido.

A eficiência do SRL também depende da energia do radical SRL resultante (SRL $^{\bullet}$ ). Se o SRL $^{\bullet}$  é um radical de baixa energia, a probabilidade do radical de catalisar a oxidação de

ácidos graxos insaturados diminui. Um SRL efetivo forma radicais de baixa energia, em virtude da deslocalização por ressonância (como mostrado na Figura 4.31). SRLs efetivos também produzem radicais que não reagem rapidamente com o oxigênio, formando hidroperóxidos. Se um sequestrante de radical forma um hidroperóxido, ele pode sofrer reações de decomposição que produzem radicais adicionais, os quais podem causar a oxidação de ácidos graxos insaturados. O SRL $^{\bullet}$  pode participar de reações de terminação com outros SRL $^{\bullet}$  ou com radicais lipídicos, formando espécies não radicais. Isso significa que cada SRL é capaz de inativar pelo menos dois radicais livres, sendo que o primeiro é desativado quando o SRL interage com radicais peroxil ou alcooil,



**FIGURA 4.31** Deslocalização por ressonância de radical fenólico. (Adaptada de Shahidi, F. e Wanasundara, J.P.K. (1992). *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32:67-103.)

e o segundo quando o  $\text{SRL}^\bullet$  entra em reações de terminação com outro  $\text{SRL}^\bullet$  ou radical lipídico (Figura 4.32).

Os compostos fenólicos possuem muitas propriedades de SRL eficientes. Eles doam um hidrogênio de seus grupos hidroxil, sendo que o radical fenólico subsequente pode apresentar baixa energia, pois o radical é deslocalizado ao longo da estrutura do anel fenólico. Em geral, a efetividade de um SRL fenólico aumenta pela ação de grupos substituintes no anel fenólico, os quais aumentam a capacidade do SRL de doar hidrogênio a radicais lipídicos e/ou de aumentar a es-

tabilidade do  $\text{SRL}^\bullet$  [64]. Em alimentos, a eficiência de SRL fenólicos também depende de sua volatilidade, de sua sensibilidade ao pH e de sua polaridade. Alguns exemplos de SRLs mais comuns em alimentos são apresentados a seguir:

*Tocoferóis:* Os tocoferóis são um grupo de compostos que tem um sistema de anéis com hidroxilação (anel cromanol), com uma cadeia fitol (Figura 4.33). As diferenças entre tocoferóis homólogos se devem às diferenças na metilação do anel cromanol, sendo que o  $\alpha$  é trimetilado (posições 5, 7

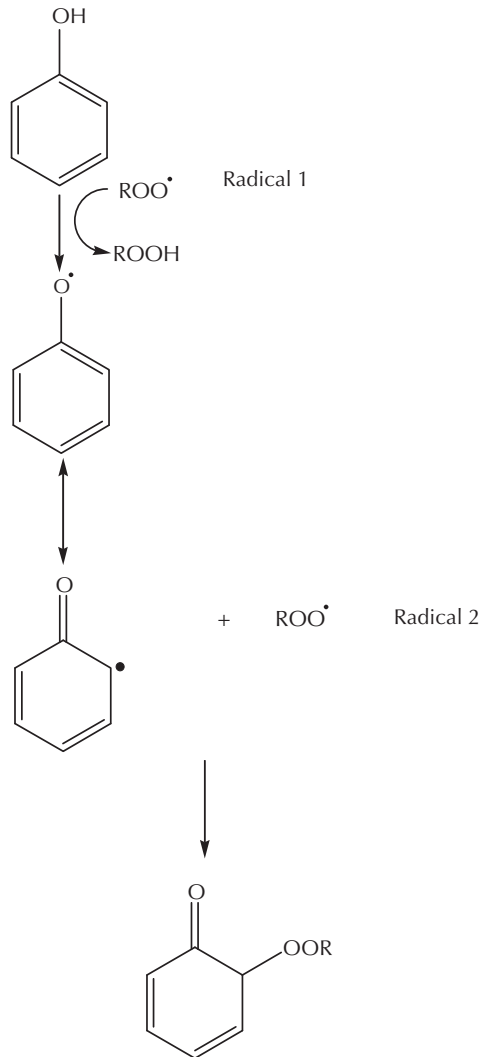


FIGURA 4.32 Reação de terminação entre um radical antioxidante e um radical lipídico peróxido ( $\text{ROO}^\bullet$ ).

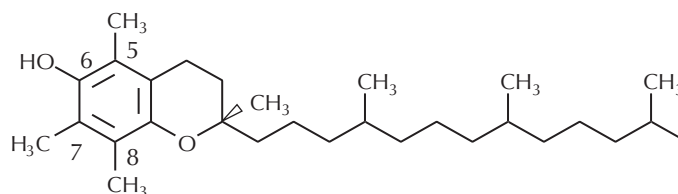


FIGURA 4.33 A estrutura do  $\alpha$ -tocoferol.

e 8), o  $\beta$  (posições 5 e 8) e o  $\gamma$  (posições 7 e 8) são bimetilados e o  $\delta$  é monometilado (posição 8). Os tocotrienóis diferem dos tocoferóis pela presença de três ligações duplas em sua cadeia de fitol, nas posições 3', 7' e 11'. Os tocoferóis têm três carbonos assimétricos e, portanto, cada homólogo pode ter oito estereoisômeros possíveis. Os tocoferóis naturais são encontrados em toda a configuração *rac* ou *RRR*, já os sintéticos têm estereoisômeros com combinações das configurações *R* e *S*. A configuração de estereoisômeros do  $\alpha$ -tocoferol é importante, pois apenas os estereoisômeros *RRR* e *2R* (*RSR*, *RRS* e *SRR*) têm atividade significativa de vitamina E, podendo ser utilizados para o estabelecimento da Dietary Reference Intake (Ingestão alimentar de referência) de vitamina E, nos Estados Unidos [65]. O  $\alpha$ -tocoferol costuma ser vendido como um éster metílico, quando utilizado como suplemento nutricional. O éster metílico é hidrolisado no trato gastrointestinal regenerando o  $\alpha$ -tocoferol. A forma de éster metílico dos tocoferóis bloqueia o grupo hidroxil, diminuindo a suscetibilidade da molécula a passar por degradação oxidativa até ser digerida. Deve-se observar que o bloqueio do grupo hidroxil pelo éster metílico remove a atividade antioxidante do tocoferol. Portanto, os ésteres metílicos de tocoferóis não serão antioxidantes efetivos em alimentos.

As reações entre tocoferóis e radicais peroxil lipídicos levam à formação de um hidroperóxido lipídico e de diversas estruturas de ressonância de radicais tocoferoxil. Os radicais tocoferoxil podem interagir com outros radicais lipídicos ou uns com os outros, formando diversos produtos de terminação. Os tipos e as quantidades desses produtos dependem

de taxas de oxidação, espécies radicais, localização física (p. ex., lipídeos de reserva em relação a lipídeos de membrana) e concentração de tocoferol (ver Referência 62, para mais detalhes). Os tocoferóis costumam ser insolúveis em água. Entretanto, eles podem variar em polaridade, como o  $\delta$ -tocoferol (trimetilado), que é o mais apolar e o  $\alpha$ -tocoferol (monometilado), que é o mais polar. Essas diferenças de polaridade alteram a atividade de superfície dos tocoferóis, um fator que pode causar impacto sobre sua atividade antioxidante (ver Seção 4.7.4.5).

**Fenólicos sintéticos:** O fenol não é um bom antioxidante, mas a adição de grupos substituintes ao anel fenólico pode aumentar a atividade antioxidante. Logo, a maioria dos antioxidantes sintéticos são compostos monofenólicos substituídos. Os SRLs sintéticos mais usados em alimentos são hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), butil hidroquinona terciária (TBHQ) e galato de propila (Figura 4.34). Esses SRLs sintéticos variam em polaridade na ordem BHT (mais apolar) > BHA > TBHQ > galato de propila (ver Seção 4.7.4.5 para explanação sobre a importância da polaridade de antioxidantes). Assim como em outros SRLs, as interações entre os antioxidantes sintéticos e os radicais lipídicos resultam na formação de um radical fenólico de baixa energia, estabilizado por ressonância. A baixa energia dos radicais antioxidantes sintéticos é sinal de que eles não catalisam a oxidação de ácidos graxos insaturados com rapidez. Além disso, os radicais antioxidantes sintéticos não reagem com facilidade com o oxigênio para formar hidroperóxidos instáveis do antioxidante, os quais se decom-

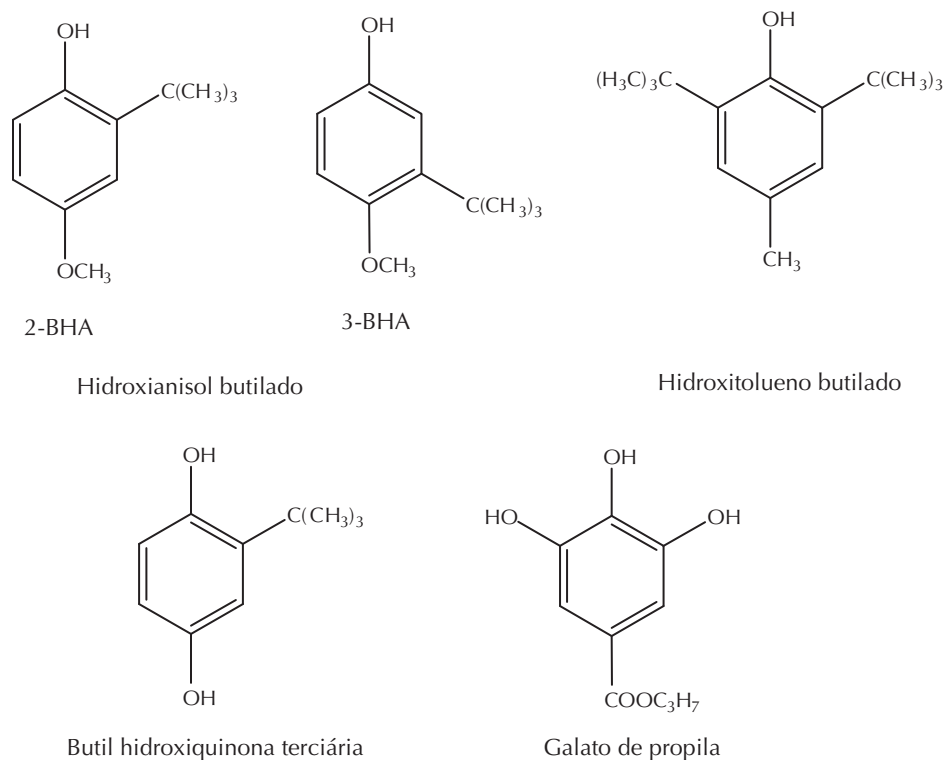


FIGURA 4.34 Estruturas de antioxidantes sintéticos usados em alimentos.



põem em radicais livres de alta energia que podem promover oxidação. Em vez disso, eles tendem a reagir em reações de terminação radical-radical, como mostrado na Figura 4.32. Os fenólicos sintéticos são efetivos em inúmeros sistemas alimentares; entretanto, seu uso na indústria de alimentos diminuiu, recentemente, devido a preocupações com a segurança e à busca do consumidor por produtos naturais.

**Fenólicos vegetais:** As plantas contêm diversos compostos fenólicos como fenólicos simples, ácidos fenólicos, antocianinas, derivados do ácido cinâmico e flavonoides. Esses fenólicos estão distribuídos em larga escala em frutas, temperos, chás, café, sementes e grãos. Todas as classes de fenólicos apresentam os requisitos estruturais de SRLs, embora suas atividades variem muito. Os fatores que influenciam na atividade de SRL de fenólicos vegetais incluem posição e grau de hidroxilação, polaridade, solubilidade, potencial de redução, estabilidade do fenólico a operações de processamento do alimento e estabilidade do radical fenólico. Extratos de alecrim são a fonte mais importante, sendo usados comercialmente como aditivo em alimentos, a fim de inibir a oxidação de lipídeos. O ácido carnósico, o carnosol e o ácido rosmarínico são os principais SRLs em extratos de alecrim (Figura 4.35). Esses extratos podem inibir a oxidação de lipídeos em diversos alimentos, incluindo carnes, óleos e emulsões lipídicas [66-68]. A utilização de antioxidantes fenólicos de extratos brutos de ervas como o alecrim, costuma

ser limitada pela presença de compostos flavorizantes como os monoterpenos. Os compostos fenólicos encontrados naturalmente em alimentos vegetais e óleos são importantes para sua estabilidade oxidativa endógena. Os níveis de fenólicos em plantas podem variar em função da maturidade da planta, do tipo de tecido, das condições de crescimento, da idade pós-colheita e das condições de armazenamento [69-71].

**Ácido ascórbico e tióis:** Em geral, os radicais livres são gerados na fase aquosa de alimentos, por processos como a reação de Fenton, a qual produz radicais hidroxil a partir do peróxido de hidrogênio. Os radicais livres podem ser ativos em superfícies, o que quer dizer que eles podem migrar ou fracionar-se em uma interface entre a fase lipídica e a fase aquosa, em dispersões lipídicas. Para promoverem a proteção contra os radicais livres gerados na fase aquosa, os sistemas biológicos contêm compostos hidrossolúveis capazes de suprimir radicais livres. O ácido ascórbico e os tióis eliminam radicais livres, resultando na formação de radicais de baixa energia (para revisão, ver Referência 72). Os tióis como a cisteína e a glutatona podem contribuir para a estabilidade oxidativa de alimentos de origem animal e vegetal, mas, dificilmente são adicionados como antioxidantes em alimentos. Uma exceção disso são os tióis encontrados em proteínas que podem inibir a oxidação de lipídeos em alimentos [72]. O ascorbato e seu isômero, o ácido eritórbico, podem bloquear radicais livres. Ambos desempenham ativi-

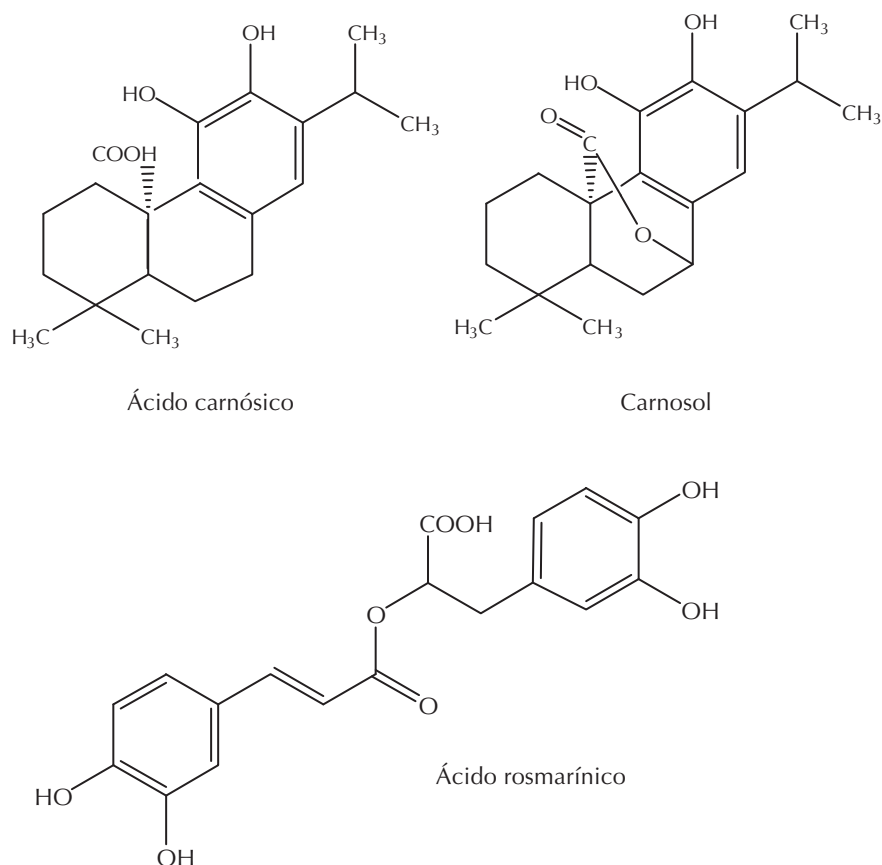


FIGURA 4.35 Estruturas dos antioxidantes fenólicos encontrados em extratos de alecrim.

dades similares, porém o ácido eritórbito é mais barato. O ácido ascórbico é disponível como conjugado, por meio do ácido palmítico. O conjugado é lipossolúvel e surfactante. Isso faz com que ele seja um antioxidante efetivo para óleos puros e emulsões. No trato gastrointestinal, o palmitato de ascorbilo é hidrolisado para os ácidos ascórbico e palmítico, logo, não existem restrições para seu nível de utilização.

#### 4.7.4.2 Controle de pró-oxidantes

A taxa em que os lipídeos se oxidam nos alimentos depende muito da concentração e da atividade dos pró-oxidantes (p. ex., metais de transição, oxigênio singlete e enzimas). O controle de pró-oxidantes é, portanto, uma estratégia efetiva para o aumento da estabilidade oxidativa dos alimentos. Tanto os antioxidantes endógenos como os exógenos causam impacto sobre a atividade de metais de transição e do oxigênio singlete.

*Controle de metais pró-oxidantes:* O ferro e o cobre são exemplos de metais de transição pró-oxidantes importantes, pois aceleram a oxidação de lipídeos pela promoção da decomposição de hidroperóxidos. A atividade pró-oxidante de metais é alterada por agentes quelantes ou complexantes. Os quelantes inibem a atividade de metais pró-oxidantes por meio de um ou mais dos mecanismos a seguir: prevenção do ciclo redox de metais; ocupação de todos os sítios de coordenação do metal; formação de complexos metálicos insolúveis; e/ou impedimento espacial das interações entre metais e lipídeos ou intermediários de oxidação (p. ex., hidroperóxidos) [73]. Alguns quelantes de metais podem aumentar as reações oxidativas pelo aumento da solubilidade do metal e/ou pela alteração do potencial redox. A tendência de um quelante de acelerar ou inibir a atividade pró-oxidante depende da relação metal-quelante. De fato, o EDTA (ácido etilendiamino tetracético) é ineficaz ou pró-oxidante quando as relações EDTA:ferro são  $\leq 1$  e antioxidante quando EDTA:ferro é  $> 1$  [74]. Acredita-se que o comportamento pró-oxidante dos quelantes se deve a sua capacidade de aumentar a solubilidade de metais de transição.

Os principais quelantes de metais encontrados em alimentos contêm diversos grupos de ácido carboxílico (p. ex., EDTA e ácido cítrico) ou fosfato (p. ex., polifosfatos e fitato). Os quelantes devem encontrar-se ionizados para serem ativos, portanto sua atividade diminui em valores de pH inferiores ao  $pK_a$  dos grupos ionizáveis. Os quelantes mais usados como aditivos em alimentos são ácido cítrico, EDTA e polifosfatos. A efetividade dos fosfatos cresce junto ao aumento do número de grupos de fosfato; logo, o tripolifosfato e o hexametáfosfato são mais efetivos que o ácido fosfórico [75]. Os metais pró-oxidantes também podem ser controlados por proteínas ligantes de metais, como transferrina, fosvitina, lactoferrina, ferritina e caseína (revisado na Referência 73).

*Controle do oxigênio singlete:* Como já foi mencionado, o oxigênio singlete é um estado excitado do oxigênio que pode promover a formação de hidroperóxidos lipídicos. Os caro-

tenoides são um grupo diverso ( $> 600$  compostos diferentes) de polienos de coloração amarela a vermelha. A atividade do oxigênio singlete pode ser controlada por carotenoides, tanto por mecanismos químicos como por extinção física [76,77]. Os carotenoides bloqueiam o oxigênio singlete quimicamente quando ele ataca suas ligações duplas. Essa reação leva à formação de produtos de degradação oxigenados do carotenoide tais como aldeídos, cetonas e endoperóxidos. Essas reações causam a decomposição do carotenoide, levando à perda de cor. O mecanismo mais efetivo de inativação do oxigênio singlete por carotenoides é a extinção física. Nesse mecanismo, os carotenoides bloqueiam o oxigênio singlete fisicamente, por meio de transferência de energia de um oxigênio singlete para um carotenoide, produzindo um carotenoide em estado excitado e um oxigênio triplete em estado basal. A energia é dissipada do carotenoide excitado por interações vibracionais e rotacionais, o solvente circundante faz com que ele volte ao estado basal. Nove ou mais ligações duplas conjugadas do carotenoide são necessárias para o bloqueio físico. Os carotenoides que têm estruturas  $\beta$ -ionona cíclicas oxigenadas nos terminais são mais efetivos no bloqueio físico do oxigênio singlete. Os carotenoides também podem absorver fisicamente a energia de sensores fotoativados como a riboflavina, impedindo que o fotossensor promova a formação do oxigênio singlete.

*Controle das LOXs:* As lipoxigenases são catalisadores ativos da oxidação de lipídeos encontradas em plantas e em alguns tecidos animais. A atividade da LOX pode ser controlada por inativação térmica e por meio de programas de melhoramento de plantas, os quais diminuem a concentração dessas enzimas em tecidos comestíveis.

#### 4.7.4.3 Controle de intermediários da oxidação

Alguns compostos encontrados em alimentos influenciam de forma indireta nas taxas de oxidação de lipídeos por meio da interação com metais pró-oxidantes ou oxigênio, formando espécies reativas. Exemplos desses compostos incluem o ânion superóxido e os hidroperóxidos.

*Ânion superóxido:* O superóxido participa de reações oxidantes pela redução de metais de transição ao seu estado mais ativo ou pela promoção da liberação do ferro ligado a proteínas. Além disso, em valores de pH inferior a seu  $pK_a$  (4,8), o superóxido forma o radical peridroxil ( $\text{HOO}^\bullet$ ), o qual pode catalisar a oxidação de lipídeos de forma direta [78]. Devido a natureza pró-oxidante do ânion superóxido em reações oxidantes, os sistemas biológicos contêm SOD. A SOD catalisa a conversão do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio por meio da seguinte reação:

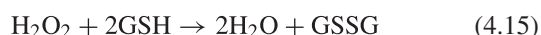


*Peróxidos:* Os peróxidos são intermediários importantes de reações oxidantes, uma vez que se decompõem via metais de transição, irradiação e temperaturas elevadas para a formação de radicais livres. O peróxido de hidrogênio está presente em alimentos em decorrência de adição direta (p.

ex., operações de processamento asséptico) e formação em tecidos biológicos por mecanismos como a dismutação do superóxido pela SOD e a atividade de peroxissomos e leucócitos. A inativação do peróxido de hidrogênio é catalisada pela catalase, uma enzima que contém heme, por meio da seguinte reação [78]:



A glutatona peroxidase é uma enzima que contém selênio. Ela pode decompor tanto hidroperóxidos lipídeos como peróxido de hidrogênio, usando glutatona reduzida (GSH) como um cossustrato [78]:



ou



onde GSSG é a glutatona oxidada e LOH é um álcool graxo.

#### 4.7.4.4 Interações entre antioxidantes

Os sistemas alimentares costumam apresentar sistemas múltiplos de antioxidantes endógenos. Além disso, esses antioxidantes podem ser adicionados a alimentos processados. A presença de múltiplos antioxidantes aumenta a estabilidade oxidativa do produto devido às interações entre os antioxidantes. O sinergismo geralmente é usado para descrever as interações entre antioxidantes. Para que as interações entre os antioxidantes sejam sinérgicas, o efeito das combinações deve ser maior que a soma dos antioxidantes individuais. Entretanto, em muitos casos, a efetividade das combinações entre os antioxidantes é igual ou menor que seu efeito aditivo. Embora as combinações entre antioxidantes possam ser usadas com eficiência para o aumento da vida útil de alimentos, deve-se tomar cuidado antes de se falar em atividade sinérgica.

O aumento da atividade antioxidante pode ser observado na presença de dois ou mais SRLs. Na presença de diversos SRLs, é possível que um SRL (o SRL primário) reaja com mais rapidez com um radical livre lipídico, em comparação a outros radicais livres, devido à menor energia de dissociação de ligações ou ao fato de que a localização física do SRL é mais próxima ao local onde os radicais livres estão sendo gerados. Na presença de múltiplos SRLs, o SRL primário, o qual é oxidado com rapidez, pode ser regenerado por um SRL secundário, sendo que o radical livre é transferido do SRL primário para o secundário. Esse processo é observado com o  $\alpha$ -tocoferol e o ácido ascórbico. Nesse sistema, o  $\alpha$ -tocoferol é o SRL primário em virtude de sua presença na fase lipídica. O ácido ascórbico então regenera o radical tocoferoxil ou possibilita a regeneração da tocoferilquinona em  $\alpha$ -tocoferol, resultando na formação de deidroascorbato [63]. Como resultado líquido, o SRL primário ( $\alpha$ -tocoferol) é mantido em estado ativo, podendo continuar a eliminação de radicais livres na fase lipídica do alimento.

Combinações de quelantes e SRLs podem resultar no aumento da inibição da oxidação de lipídeos [6]. Essas interações ocorrem por um efeito de “disputa” promovido pelo

quelante. Este diminui a quantidade de radicais livres formados no alimento pela inibição de reações catalizadas por metais. Esse processo diminui a inativação do SRL por meio de reações como terminação ou auto-oxidação.

Uma vez que sistemas com antioxidantes múltiplos podem inibir a oxidação por diferentes mecanismos (p. ex., SRL, complexação de metais e extinção do oxigênio singlete), o uso de antioxidantes múltiplos pode aumentar de forma significativa a estabilidade oxidativa dos alimentos. Assim, quando são planejados sistemas antioxidantes, os antioxidantes usados devem ter diferentes mecanismos de ação e/ou propriedades físicas. A determinação de quais antioxidantes serão mais efetivos depende de fatores como tipo de catalisador da oxidação, estado físico do alimento e fatores que influenciam na atividade do antioxidante por si só (p. ex., pH, temperatura e capacidade de interação com outros componentes/antioxidantes do alimento).

#### 4.7.4.5 Localização física dos antioxidantes

Os antioxidantes podem apresentar uma grande taxa de efetividade, dependendo da natureza física do lipídeo [52,79]. Por exemplo, os antioxidantes hidrofílicos costumam ser menos efetivos em emulsões O/W que os lipofílicos, enquanto os antioxidantes lipofílicos são menos efetivos em óleos puros que os hidrofílicos. Essa observação tem sido descrita como “paradoxo polar”. As diferenças de efetividade entre antioxidantes, em óleos puros e emulsões O/W, se devem a sua localização física nos dois sistemas. Presume-se que os antioxidantes polares sejam mais efetivos em óleos puros, pois eles podem acumular-se na interface óleo-ar ou em micelas reversas dentro do óleo, locais em que as reações de oxidação de lipídeos ocorrerão com mais facilidade, em decorrência das altas concentrações de oxigênio e pró-oxidantes. Ao contrário disso, os antioxidantes apolares são predominantemente mais efetivos em emulsões O/W por permanecerem retidos nas gotículas de óleo e/ou por poderem acumular-se na interface óleo-água, local em que ocorrem as interações entre os hidroperóxidos da superfície das gotículas e os pró-oxidantes da fase aquosa. Inversamente, em emulsões O/W, os antioxidantes polares tendem a sofrer partição na fase aquosa, fase em que serão menos efetivos na proteção dos lipídeos.

#### 4.7.5 Outros fatores que influenciam na velocidade de oxidação de lipídeos

*Concentração de oxigênio:* A redução da concentração de oxigênio é um método usado com frequência para a inibição da oxidação de lipídeos. Entretanto, a adição de oxigênio ao radical alquil é uma reação (rápida) limitada por difusão; portanto, para que haja uma inibição efetiva da oxidação de lipídeos, a maior parte do oxigênio deve ser removida do sistema. Como a solubilidade do oxigênio é maior no óleo do que na água, a remoção do oxigênio para impedimento da oxidação de lipídeos pode ser dificultada se não houver condições de vácuo ou substituição completa do oxigênio por um gás inerte (p. ex., nitrogênio).

**Temperatura:** O aumento da temperatura costuma aumentar a velocidade da oxidação de lipídeos. No entanto, esse aumento também diminui a solubilidade do oxigênio e, em alguns casos, temperaturas elevadas podem diminuir a oxidação. Isso pode ocorrer em óleos puros aquecidos. Por outro lado, se um alimento é frito em óleo quente, ocorre aeração do óleo, o que leva à aceleração da oxidação. Temperaturas elevadas também podem causar degradação e volatilização de antioxidantes e, no caso de enzimas antioxidantes, inativação por desnaturalização.

**Área de superfície:** O aumento da área de superfície dos lipídeos pode elevar as taxas de oxidação de lipídeos, uma vez que esse processo pode ocasionar o aumento da exposição ao oxigênio e a pró-oxidantes.

**Atividade de água:** Conforme a água é retirada de um alimento, a velocidade da oxidação de lipídeos costuma diminuir. Isso ocorre devido à diminuição da mobilidade de reagentes como metais de transição e oxigênio. Em alguns alimentos, a remoção contínua da água resulta na aceleração da oxidação de lipídeos. Acredita-se que essa aceleração em baixa atividade de água ( $a_w \leq 0,3$ ) se deve à perda da camada de água de solvatação que recobre os hidroperóxidos lipídicos [80].

## 4.7.6 Medição da oxidação de lipídeos

Como se pode observar pela discussão anterior, que trata das vias de oxidação de lipídeos, diversos produtos de oxidação podem ser formados a partir de um único ácido graxo. Além disso, esses produtos de decomposição costumam conter ligações duplas e, em alguns casos, sistemas pentadienos. Os sistemas de ligações duplas podem sofrer abstração posterior de hidrogênio ou ataque por oxigênio singlete, o que resultará na formação de produtos de degradação adicionais. Como os alimentos lipídicos contêm muitos ácidos graxos insaturados diferentes, podendo ser expostos a diferentes pró-oxidantes, muitos produtos de decomposição podem ser formados. A complexidade de vias torna a análise da oxidação de lipídeos muito desafiadora. Adiante, será apresentado um resumo das técnicas analíticas mais utilizadas na monitoração dos produtos de oxidação em alimentos lipídicos.

### 4.7.6.1 Análise sensorial

O padrão-ouro para medições da oxidação de lipídeos é a análise sensorial, pois trata-se da única técnica que monitora de forma direta aromas e sabores indesejáveis, gerados por reações de oxidação. Além disso, a análise sensorial pode ser altamente sensível, já que os seres humanos conseguem detectar alguns componentes do aroma em níveis inferiores ou próximos aos níveis de detecção de métodos químicos ou instrumentais. A análise sensorial de lipídeos oxidados deve ser realizada com um painel, o qual é treinado para a identificação de produtos de oxidação. O treinamento costuma ser específico para cada produto, uma vez que os produtos de

oxidação de diferentes ácidos graxos podem produzir perfis sensoriais distintos. Em virtude da necessidade de treinamento intenso, em geral a análise sensorial é demorada e dispendiosa, sendo, obviamente, inadequada para análises rápida e dinâmicas, requeridas em operações de controle de qualidade. Por essa razão, muitas técnicas químicas e instrumentais têm sido desenvolvidas. Em um cenário ideal, essas técnicas são mais úteis quando aplicadas junto à análise sensorial. Existem diversos testes para a medição da deterioração oxidativa nos alimentos. Os métodos mais comuns, bem como suas vantagens e desvantagens serão discutidos adiante.

### 4.7.6.2 Produtos primários da oxidação de lipídeos

Os produtos primários da oxidação de lipídeos são compostos produzidos nas etapas de iniciação e propagação desse processo. Por se tratarem dos primeiros produtos de oxidação, eles podem aparecer precocemente na oxidação de lipídeos. Entretanto, durante as etapas mais avançadas de oxidação, as concentrações desses compostos diminuem, bem como suas taxas de formação que se tornam mais lentas que as de decomposição. Uma desvantagem do uso de produtos primários para medir a oxidação reside na volatilidade desses produtos, o que faz com que eles não contribuam diretamente para aromas e sabores indesejáveis. Além disso, sob certas condições (como temperaturas elevadas [óleos de fritura] ou conteúdo elevado de metais de transição), a concentração de produtos primários pode apresentar pouco aumento líquido, pois suas taxas de decomposição são relativamente altas. Isso produziria resultados enganosos já que um óleo muito rançoso pode apresentar concentrações muito baixas de produtos primários da oxidação de lipídeos.

**Ligações duplas conjugadas:** As ligações duplas conjugadas são formadas com rapidez em ácidos graxos poli-insaturados após a abstração do hidrogênio na etapa de iniciação. Dienos conjugados tem o máximo de absorção de 234 nm, com coeficiente de extinção molar de  $2,5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  [81]. Esse coeficiente permite um nível intermediário de sensibilidade, em comparação a outras técnicas. A medida de dienos conjugados pode ser útil para sistemas de óleos simples; entretanto, costuma ser ineficaz em alimentos complexos, nos quais muitos compostos existentes também absorvem em comprimentos de onda similares e, por isso, causam interferência. Em alguns casos, valores de dienos conjugados são usados em combinação com hidroperóxidos, já que muitos hidroperóxidos lipídicos apresentam um sistema dieno conjugado. No entanto, a aplicação dessa equivalência deve ser evitada, pois os produtos de decomposição de ácidos graxos também podem conter ligações duplas conjugadas e ácidos graxos monossaturados (p. ex., oleicos), os quais formarão hidroperóxidos que não apresentam um sistema dieno conjugado. Trienos conjugados também são medidos nos alimentos a 270 nm. Essa técnica é útil apenas em lipídeos que têm  $\geq 3$  ligações duplas, sendo limitada a óleos altamente insaturados, como o de semente de linho e os de peixes.



**Hidroperóxidos lipídicos:** Um método bastante comum para a medição da qualidade oxidativa de lipídeos é a medição de hidroperóxidos de ácidos graxos. A maioria dos métodos que medem hidroperóxidos lipídicos baseia-se na capacidade dos hidroperóxidos de oxidar compostos indicadores. Os valores de peróxido são expressos em miliequivalentes (mEq) de oxigênio por kg de óleo, sendo que 1 mEq é igual a 2 mmol de hidroperóxido. O método de titulação mais comum usa a conversão de iodeto a iodo, promovida pelo hidroperóxido. O iodo é então titulado com tiossulfato de sódio para produzir iodeto, o qual é medido pelo indicador de amido [82]. Esse método é relativamente pouco sensível, com limite de detecção de  $0,5 \text{ mEq kg}^{-1}$  de óleo, podendo requerer até 5 g de lipídeo. Por isso, é prático somente para gorduras ou óleos puros ou isolados. A oxidação de íon ferroso à férrico, promovida por hidroperóxidos lipídicos, também pode ser usada, sendo que os íons férricos são detectados por cromóforos específicos para esse fim, como tiocianato ou laranja de xilenol [83]. Esses métodos são muito mais sensíveis que os métodos de titulação de iodeto com tiossulfato de sódio. O cromóforo formado pelo complexo tiocianato- $\text{Fe}^{3+}$  tem um coeficiente de extinção de  $4,0 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , permitindo que a análise seja realizada com quantidades de miligramas de lipídeos [83].

#### 4.7.6.3 Produtos secundários da oxidação de lipídeos

Os produtos secundários da oxidação de lipídeos são compostos que surgem da decomposição de hidroperóxidos de ácidos graxos por reações de  $\beta$ -clivagem. Como já foi descrito, essas reações podem gerar centenas de compostos distintos, tanto voláteis como não voláteis, a partir da oxidação de lipídeos nos alimentos. Como é impossível medir todos esses compostos ao mesmo tempo, estes métodos (ver adiante) costumam visar à análise de um composto individual ou de uma classe de compostos. Uma das desvantagens desses métodos é que a formação de produtos secundários deriva da decomposição de hidroperóxidos lipídicos. Portanto, em alguns casos (p. ex., em presença de antioxidantes), as concentrações de produtos secundários pode ser baixa, enquanto as concentrações de produtos primários são elevadas. Além disso, compostos em alimentos que contêm grupos amino e sulfidril (p. ex., proteínas) podem interagir com produtos secundários que contêm grupos funcionais como aldeídos, o que os torna difíceis de serem medidos. Uma das vantagens desses métodos é que eles avaliam muitos produtos da decomposição de ácidos graxos, os quais são responsáveis diretos por odores e sabores indesejáveis em óleos rançosos e, portanto, têm elevada correlação com a análise sensorial.

**Análise de produtos secundários voláteis:** Os produtos de oxidação lipídica voláteis costumam ser medidos por cromatografia gasosa com uso de injeção direta, *headspace* estático ou dinâmico ou microextração em estado sólido (SPME) [84]. Com o uso desses sistemas, a oxidação de lipídeos pode ser medida por meio de produtos específicos (p. ex., hexanal para lipídeos ricos em ácidos graxos  $\omega$ -6 e propanal para li-

pídeos ricos em ácidos graxos  $\omega$ -3), classes de produtos (p. ex., hidrocarbonetos ou aldeídos) ou voláteis totais como indicadores. Cada método pode fornecer diferentes perfis de voláteis devido a diferenças em suas capacidades de extração e coleta dos voláteis da amostra. A vantagem da medição de produtos voláteis da oxidação de lipídeos é a alta correlação com a análise sensorial. Sua desvantagem é o custo da instrumentação e a dificuldade de analisar grandes quantidades de amostras, em especial lipídeos que estão oxidando com rapidez (essas costumam ser demoradas). Além disso, esses métodos geralmente usam etapas de aquecimento para o aumento da concentração de voláteis no *headspace* acima das amostras. Em alguns alimentos, como carnes, a etapa de aquecimento pode aumentar a velocidade de oxidação de lipídeos, pelo cozimento do alimento. Em geral, os lipídeos devem ser amostrados na menor temperatura possível. Outro problema é a perda de compostos voláteis por processos como a destilação por vapor, em óleos para fritura.

**Carbonilas:** As carbonilas que surgem da oxidação de lipídeos podem ser determinadas pela reação de lipídeos com 2,4-dinitrofenilhidrazina, formando hidrazonas correspondentes que absorvem luz em 430-460 nm. Esse método é limitado pela presença de outras carbonilas no alimento, as quais podem causar interferência [82]. Técnicas de cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) têm sido desenvolvidas para separar as carbonilas provenientes da oxidação de lipídeos de compostos interferentes. No entanto, essas técnicas são sofisticadas e demoradas e, por isso, não são utilizadas com frequência para alimentos lipídicos.

As carbonilas também podem ser medidas por conjugação com anisidina, para formar produtos que absorvem em 350 nm [52]. Esse método é útil, pois pode medir carbonilas não voláteis e de alta massa molecular. Isso também é útil para óleos de fritura, nos quais os produtos de oxidação voláteis são perdidos por destilação a vapor. A anisidina também é usada para medir a oxidação em produtos como óleos de peixes, pois esses óleos costumam passar por destilação intensa por vapor durante o refino. Por essa razão, a anisidina é útil em óleos de peixes, pois pode fornecer a indicação da qualidade do óleo antes da destilação por vapor, uma vez que os compostos não voláteis de alta massa molecular são retidos pelo óleo.

**Ácido tiobarbitúrico (TBA):** O ensaio do TBA baseia-se na reação entre TBA e carbonilas que formam adutos fluorescentes vermelhos sob condições ácidas [85]. O ensaio pode ser conduzido em amostras brutas, extratos ou destilados, sendo que a formação de adutos pode ser conduzida dentro de um intervalo grande de temperaturas (25-100°C) e tempos (15min a 20h). O composto que costuma ser atribuído como produto primário de oxidação detectado pelo TBA é o malondialdeído (MDA), cujo aduto, com TBA, absorve luz de forma muito intensa, a 532 nm. O MDA é um dialdeído produzido pela degradação oxidativa em duas etapas de ácidos graxos com três ou mais ligações duplas. Isso significa que o rendimento de MDA durante a oxidação de lipídeos depende da composição de ácidos graxos, sendo que os mais



insaturados produzem quantidades maiores de MDA. O TBA também pode reagir com outros aldeídos produzidos na oxidação de lipídeos, especialmente aldeídos insaturados.

O ensaio de TBA apresenta baixa especificidade devido a sua capacidade de reação com carbonilas não lipídicas como ácido ascórbico, açúcares e produtos do escurecimento não enzimático. Esses compostos formam adutos com o TBA, os quais absorvem no intervalo de 450-540 nm. Geralmente é mais adequado referir-se a substâncias reativas ao TBA (TBARS, que além do MDA inclui outros compostos que podem gerar cromóforos cor-de-rosa). Para diminuir problemas com interferentes, o complexo TBA-MDA pode ser medido diretamente por fluorescência ou por técnicas de HPLC.

O ensaio de TBA pode ser útil para a análise da oxidação de lipídeos em alimentos, pois se trata de um método simples e barato. No entanto, a falta de especificidade desse método requer o conhecimento das limitações do teste, de modo que comparações e conclusões inadequadas não sejam tomadas. Para minimizar o potencial de erro da interpretação da análise com TBA, sugere-se que a análise de amostras frescas não oxidadas seja realizada, a fim de que se tome conhecimento sobre as substâncias reativas com TBA que não derivam da oxidação de lipídeos. Por outro lado, o método do TBA deve ser evitado em alimentos nos quais as concentrações de compostos interferentes sejam elevadas. Além disso, tentativas de uso do TBA para comparação das alterações oxidativas em produtos com composições de ácidos graxos diferentes são inadequadas, pois a quantidade de MDA varia de acordo com a composição dos ácidos graxos.

## 4.8 LIPÍDEOS DE ALIMENTOS E SAÚDE

### 4.8.1 Bioatividade dos ácidos graxos

Os lipídeos da dieta costumam ser associados negativamente à saúde. Como a obesidade apresenta uma forte relação com diversas enfermidades, como doenças cardíacas e diabetes, o papel negativo dos lipídeos na saúde geralmente é atribuído a sua alta densidade calórica de 9 kcal g<sup>-1</sup>. Alguns lipídeos específicos têm sido associados ao risco de doenças cardíacas, em decorrência de sua capacidade de modular os níveis de colesterol LDL no sangue. Isso inclui os ácidos graxos saturados que aumentam os níveis de LDL e os ácidos graxos insaturados que o diminuem. Como os níveis de colesterol LDL estão associados ao desenvolvimento de doenças cardíacas, diversas estratégias de dietas têm sido propostas para que se diminua o colesterol LDL, incluindo redução dos ácidos graxos saturados para <7% das calorias, redução do colesterol da dieta para <200 mg por dia e incorporação de fibras dietéticas solúveis de 10-25 g por dia [86].

#### 4.8.1.1 Ácidos graxos trans

Recentemente os ácidos graxos *trans* têm recebido atenção especial por seu papel único em doenças cardíacas desempenhado por sua capacidade de aumentar o colesterol LDL e diminuir o HDL (lipoproteínas de alta densidade) [87]. Esse comportamento se deve em parte à configuração geométrica

dos ácidos graxos *trans*, os quais são mais parecidos com os ácidos graxos saturados que com os insaturados. Em sua origem, os ácidos graxos *trans* foram incluídos na categoria dos ácidos graxos insaturados pela rotulagem nutricional dos Estados Unidos, ainda que suas atividades biológicas sejam muito diferentes. Desde 1º de janeiro de 2006, todos os alimentos devem listar as concentrações de ácidos graxos *trans* em seus rótulos; alimentos com menos de 0,5 g de gordura/porção não necessitam rotulá-las, pois, nesse caso, não são feitas descrições sobre o conteúdo de gordura, ácidos graxos ou colesterol.

Enquanto muitas pesquisas têm sido dedicadas aos aspectos negativos dos lipídeos na saúde, existem evidências crescentes de que alguns lipídeos comestíveis podem reduzir os riscos de diversas doenças. Esses lipídeos bioativos incluem ácidos graxos  $\omega$ -3, fotoesteróis, carotenoides e CLA.

#### 4.8.1.2 Ácidos graxos $\omega$ -3

À medida que as práticas agrícolas avançaram, o perfil de lipídeos comestíveis nas sociedades ocidentais mudou de forma drástica. Acredita-se que os ancestrais da humanidade tenham consumido dietas com quantidades aproximadamente iguais de ácidos graxos  $\omega$ -6 e  $\omega$ -3. O desenvolvimento da agricultura moderna aumentou a disponibilidade de gorduras refinadas, principalmente de óleos vegetais, modificando a dieta humana para a relação de  $\omega$ -6 para  $\omega$ -3 de mais de 7:1. Trata-se de uma mudança muito rápida, tendo em vista a escala de tempo evolucionária, a qual se torna, por isso, problemática, pois os seres humanos interconvertem ácidos graxos  $\omega$ -6 em  $\omega$ -3 em baixas velocidades. Os níveis de ácidos graxos  $\omega$ -3 na dieta são importantes, pois esses lipídeos bioativos desempenham um papel vital na fluidez de membranas, na sinalização celular, na expressão de genes e no metabolismo de eicosanoides. Portanto, o consumo de ácidos graxos  $\omega$ -3 é essencial para a promoção e para a manutenção da saúde, em especial de mulheres grávidas, lactantes e indivíduos com doenças coronarianas, diabetes, disfunções imunológicas e saúde mental comprometida. Existem fortes evidências de que os níveis de ácidos graxos  $\omega$ -3 consumidos atualmente pela população em geral sejam inadequados [9]. Diversas empresas de alimentos têm tentado aumentar os níveis desses lipídeos bioativos em seus produtos pela incorporação direta de ácidos graxos  $\omega$ -3 aos alimentos ou pela inclusão deles na alimentação animal. Essas abordagens costumam ser prejudicadas pela deterioração oxidativa dos ácidos graxos  $\omega$ -3 durante o processamento e o armazenamento dos produtos fortificados. Alimentos marinhos ricos em ácidos graxos  $\omega$ -3 são listados na Tabela 4.5. Os óleos de sementes ricos em ácidos graxos  $\omega$ -3, especificamente o ácido linolênico, incluem soja, canola e linhaça (Tabela 4.2).

#### 4.8.1.3 Ácido linoleico conjugado

As duas ligações duplas do ácido linoleico costumam estar em um sistema metilênico em que duas ligações simples separam as ligações duplas. Entretanto, o sistema de ligações duplas encontra-se alterado em alguns casos, resultando

**TABELA 4.5** Conteúdo de ácidos graxos  $\omega$ -3 em peixes selecionados

Peixe	g de ácido graxo $\omega$ -3/ 100 g de peixe
Atum (albacora branco)	0,9
Atum ( <i>light</i> )	0,2
Salmão atlântico (cultivado)	1,3–2,1
Salmão chinuque (selvagem)	1,4
Arenque	2,0
Cavala	0,4–1,8
Bacalhau	0,2
Linguado	0,5
Peixe-gato	0,1

Fonte: Exler, J. (1987). *Composition of Foods: Finfish and Shellfish Products*. USDA Handbook 8-15, Washington, DC.

na isomerização das ligações duplas em uma configuração conjugada. A isomerização pode ocorrer durante processos como hidrogenação, sendo comum durante o processo de hidrogenação biológica promovida por bactérias em ruminantes. Os isômeros, conhecidos como CLA, têm recebido atenção especial por sua capacidade de inibir o câncer [89], diminuir o colesterol sanguíneo [90], inibir o aparecimento do diabete e influenciar no ganho de peso [91]. Os diferentes isômeros causam efeitos biológicos distintos, sendo que o ácido 9-*cis*,11-*trans*-linoleico apresenta atividade anticarcinogênica e o ácido 10-*trans*,12-*cis*-linoleico tem capacidade de influenciar no acúmulo de gordura corporal. O isômero 9-*cis*,11-*trans* do CLA é o mais encontrado em produtos lácteos e cárneos. Os mecanismos moleculares da bioatividade do CLA têm sido atribuídos a sua capacidade de modular a formação de eicosanoides e a expressão de genes. Pouquíssimos estudos clínicos em seres humanos foram realizados, de modo que os benefícios do CLA aos seres humanos ainda não podem ser sustentados.

#### 4.8.1.4 Fitoesteróis

Os principais fitoesteróis dos alimentos são sitosterol, campesterol e estigmasterol. Os fitoesteróis comestíveis praticamente não são absorvidos pelo trato gastrointestinal. Sua bioatividade reside no fato de que eles podem inibir a absorção do colesterol biliar (produzido pelas células intestinais) e da dieta [92]. A ingestão diária de 1,5-2 g de fitoesteróis pode reduzir o colesterol LDL de 8-15%. Como a principal atividade dos fitoesteróis é a inibição da absorção de colesterol, sua efetividade é maior quando consumidos junto a uma dieta que contenha colesterol. Os fitoesteróis têm pontos de fusão muito elevados e, portanto, existem em forma de cristais lipídicos nas temperaturas comuns à maioria dos alimentos. Para minimizar a cristalização, os fitoesteróis são esterificados com ácidos graxos insaturados para aumento de sua solubilidade em lipídeos.

#### 4.8.1.5 Carotenoides

Os carotenoides são um grupo diverso (>600 compostos diferentes) de polienos lipossolúveis de coloração amarela a vermelha. A vitamina A é um nutriente essencial obtido de

carotenoides como o  $\beta$ -caroteno. A bioatividade de outros carotenoides é uma área de pesquisa de grande interesse. Esse interesse foi inicialmente dedicado à atividade antioxidante deles. Entretanto, quando se realizaram triagens clínicas com o uso de  $\beta$ -caroteno em indivíduos com risco de estresse por radicais livres (fumantes), observou-se que o  $\beta$ -caroteno estava associado ao aumento das taxas de câncer de pulmão [93]. Não se sabe se um efeito semelhante seria observado em não fumantes. Outros carotenoides têm sido associados a benefícios à saúde. A luteína e a zeaxantina podem aumentar a acuidade e a saúde visuais [94]. Estudos epidemiológicos mostraram que o consumo de tomates está relacionado à diminuição do risco de câncer de próstata [95]. Os efeitos benéficos do tomate têm sido atribuídos a um carotenoide específico, o licopeno. Curiosamente os tomates cozidos apresentam mais benefícios, o que se atribui à conversão induzida por calor do *trans*-licopeno em isômeros *cis*-licopeno. Acredita-se que a bioatividade maior dos isômeros *cis*-licopeno se deve a sua grande biodisponibilidade.

#### 4.8.2 Lipídeos de baixa caloria

Uma das preocupações de saúde relativa aos triacilgliceróis comestíveis decorre de sua alta densidade calórica. Muitas tentativas têm sido realizadas com o fim de se produzirem alimentos com pouca gordura, os quais apresentem os mesmos atributos sensoriais dos produtos com gordura autêntica, usando-se miméticos de gordura. Miméticos de gordura são compostos não-lipídicos como proteínas ou carboidratos que podem produzir propriedades semelhantes às da gordura com baixos valores calóricos (p. ex., 4 kcal g<sup>-1</sup> para proteína e 9 kcal g<sup>-1</sup> para lipídeos). Uma abordagem similar tem sido adotada para a produção de componentes lipídicos sem calorias ou com baixo conteúdo calórico (substituintes de gordura). O primeiro lipídeo não calórico comercial foi um éster de ácidos graxos da sacarose (Olestra da Proctor and Gamble). Esse composto é não calórico, pois a presença de  $\geq 6$  ácidos graxos esterificados na sacarose impede espacialmente que a lipase hidrolise as ligações de éster para liberar ácidos graxos livres que podem ser absorvidos pelo sangue. A falta de digestibilidade dos ésteres de ácidos graxos da sacarose faz com que eles passem pelo trato gastrointestinal e sejam ex-

cretados nas fezes. Essa propriedade pode causar problemas gastrintestinais como diarreia. Lipídeos estruturados com baixa densidade calórica também têm sido usados na indústria de alimentos (p. ex., Salatrim da Nabisco). Esses produtos baseiam-se no princípio de que apenas ácidos graxos nas posições *sn-1* e *sn-3* dos triacilgliceróis são liberados como ácidos graxos livres por hidrólise pela lipase pancreática. Se o *sn-1* e o *sn-3* têm ácidos graxos saturados de cadeia longa ( $\geq 16$  carbonos), sua liberação pode levar a interações com cátions divalentes, formando sabões insolúveis que não são biodisponibilizados com facilidade. Gorduras estruturadas de baixas calorias também usam ácidos graxos de cadeia curta ( $\leq 6$  carbonos) na posição *sn-2*. Após a hidrólise pela lipase pancreática, o monoacilglicerol *sn-2* é absorvido pelas células do endotélio intestinal. Os ácidos graxos de cadeia curta em *sn-2*, por vezes são metabolizados no fígado, onde geram menos calorias os que ácidos graxos de cadeia longa. A combinação de ácidos graxos saturados de cadeia longa em *sn-1* e *sn-3* e ácidos graxos de cadeia curta em *sn-2* produz um triacilglicerol com 5-7 cal  $g^{-1}$ .

## 4.9 RESUMO

Os lipídeos desempenham um papel importante na qualidade dos alimentos, contribuindo para atributos como textura, sabor, nutrição e densidade calórica. Como o conhecimento da importância nutricional dos lipídeos continua a evoluir, os produtores deverão modificar suas propriedades físicas e químicas para produzir alimentos saudáveis e com alta aceitação pelos consumidores. Isso indica que os alimentos serão preferencialmente produzidos com menos lipídeos que causem prejuízos nutricionais (p. ex., menos gordura total, gordura saturada e ácidos graxos *trans*). No entanto, para que esses objetivos sejam alcançados, os químicos de alimentos necessitarão ter um grande conhecimento de como os lipídeos influenciam na textura e no sabor. Além disso, alimentos serão produzidos com a finalidade de conter lipídeos nutricionalmente benéficos, como ácidos graxos  $\omega-3$  e fitoesteróis. Um vasto entendimento sobre propriedades físicas e estabilidade química dos lipídeos será necessário para a produção de alimentos funcionais com lipídeos bioativos, uma vez que esses compostos podem ser quimicamente instáveis (ácidos graxos  $\omega-3$ ) ou difíceis de serem incorporados aos alimentos.

## REFERÊNCIAS

1. Faergemand, M. and Krog, N. (2003). Using emulsifiers to improve food texture. In *Texture in Foods, Volume 1: Semi-Solid Foods* (McKenna, B.M., ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, chap. 10.
2. Bergenstahl, G. (1997). Physicochemical aspects of an emulsifier functionality. In *Food Emulsifiers and Their Applications* (Hasenhuettl, G.L. and Hartel, R.W., eds.), Chapman & Hall, New York, NY, chap. 6.
3. Bos, M., Nylander, T., Arnebrant, T., and Clark, D.C. (1997). Protein/emulsifier interactions. In *Food Emulsifiers and Their Applications* (Hasenhuettl, G.L. and Hartel, R.W., eds.), Chapman & Hall, New York, NY, chap. 5.
4. Deffenbaugh, L.B. (1997). Carbohydrate/emulsifier interactions. In *Food Emulsifiers and Their Applications* (Hasenhuettl, G.L. and Hartel, R.W., eds.), Chapman & Hall, New York, NY, chap. 4.
5. Krog, N.J. and Sparso, F.V. (2004). Food emulsifiers: their chemical and physical properties. In *Food Emulsions*, 4th edn. (Friberg, S., Larsson, K., and Sjoblom, J., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, chap. 2.
6. Nielsen, S.S. (2003). *Food Analysis*, 3rd edn. Kluwer Academic, New York.
7. Wroltsad, R.E. (senior editor) (2005). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, New York, NY.
8. O'Keefe, S.F. (2002). Nomenclature and classification of lipids. In *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (Akoh, C.C. and Min, D.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 1–40.
9. Simopoulos, A.P. (1999). Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 70: 560S–569S.
10. O'Neil, M.J. (senior editor) (2001). *Merck Index*, 13th edn. Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ.
11. White, P.J. (2000). Fatty acids in oilseeds. In *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications*, 2nd edn. (Chow, C.K., ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 209–238.
12. Ackman, R.G. (2000). Fatty acids in fish and shellfish. In *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications*, 2nd edn. (Chow, C.K., ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 153–174.
13. Decker, E.A. (1996). The role of stereospecific saturated fatty acid position on lipid nutrition. *Nutr. Rev.* 54: 108–110.
14. Parish, E.J., Boos, T.L., and Li, S. (2002). The chemistry of waxes and sterols. In *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (Akoh, C.C. and Min, D.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 103–132.
15. Weiss, T.J. (1983). *Food Oils and Their Uses*, 2nd edn. AVI Publishing, Westport.
16. Gunstone, F.D. and Padley, F.B. (1997). *Lipid Technologies and Applications*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY.
17. Akoh, C.C. and Min, D.B. (2002). *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY.
18. Israelachvili, J.N. (1992). *Intermolecular and Surface Forces*. Academic Press, London.
19. Hartel, R.W. (2001). *Crystallization in Foods*. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, MD.
20. Marangoni, A. and Narine, S. (2002). *Physical Properties of Lipids*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY.
21. Larsson, K. (2004). Molecular organization in lipids and emulsions. In *Food Emulsions*. 4th edn. (Friberg, S., Larsson, K., and Sjoblom, J., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, chap. 3.
22. Walstra, P. (1987). Fat crystallization. In *Food Structure and Behaviour* (Blanshard, J.M.V. and Lillford, P., eds.), Academic Press, London, chap. 5.
23. Walstra, P. (2003). *Physical Chemistry of Foods*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY.
24. Formo, M.W. (1979). Physical properties of fats and fatty acids. In *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, Vol. 1, 5th edn. (Swern, D., ed.), John Wiley & Sons, New York, NY, chap. 3.
25. Gunstone, F.D. and Norris, F.A. (1983). *Lipids in Foods: Chemistry, Biochemistry and Technology*. Pergamon Press, Oxford.
26. Birker, P.J.M.W.L. and Padley, F.B. (1987). Physical properties of fats and oils. In *Recent Advances in Chemistry and Technology of Fats and Oils* (Hamilton, R.J. and Bhati, A., eds.), Elsevier Applied Science, London, chap. 1.
27. Timms, R.E. (1991). Crystallization of fats. *Chem. Ind.* May: 342–349.
28. Timms, R.E. (1995). Crystallization of fats. In *Developments in Oils and Fats* (Hamilton, R.J., ed.), Blackie Academic and Professional, London, chap. 8.
29. Coupland, J.N. and McClements, D.J. (1997). Physical properties of liquid edible oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74: 1559–1564.
30. Sherman, P. (1968). *Emulsion Science*. Academic Press, London.
31. Moran, D.P.J. (1994). Fats in spreadable products. In *Fats in Food Products*, Blackie Academic and Professional, London.
32. Pike, O.A. (2003). Fat characterization. In *Food Analysis*, 3rd edn. (Nielsen, S.S., ed.), Kluwer Academic, New York, NY, pp. 227–246.
33. McClements, D.J. (2004). *Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques*, 2nd edn. CRC Press, Boca Raton, FL.



34. Hernqvist, L. (1984). On the structure of triglycerides in the liquid state and fat crystallization. *Fette Seifen Anstrichmittel* 86: 297.
35. Hutchings, J.B. (1999). *Food Color and Appearance*, 2nd edn. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, MD.
36. Coupland, J. (2002). Determination of solid fat content by nuclear magnetic resonance. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (Wrolstad, R., ed.), John Wiley & Sons, New York, pp. D2.4.1–D2.4.18.
37. Lawler, P.J. and Dimick, P.S. (2002). Crystallization and polymorphism of fats. In *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (Akoh, C.C. and Min, D.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, chap. 9.
38. Bot, A., Floter, E., Lammers, J.G., and Pelan, E. (2003). Controlling the texture of spreads. In *Texture in Foods, Volume 1: Semi-Solid Foods* (McKenna, B.M., ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, chap. 14.
39. Atkins, P.W. (1994). *Physical Chemistry*, 5th edn. Oxford University Press, Oxford.
40. Mullin, J.W. (2001). *Crystallization*, 4th edn. Butterworth-Heinemann, Oxford.
41. Dickinson, E., McClements, D.J., and Povey, M.J.W. (1991). Ultrasonic investigation of the particle size dependence of crystallization in n-hexadecane-in-water emulsions. *J. Coll. Interf. Sci.* 142: 103–110.
42. Boistelle, R. (1988). Fundamentals of nucleation and crystal growth. In *Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids* (Garti, N. and Sato, K., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, chap. 5.
43. Ghotra, B.S., Dyal, S.D., and Narine, S.S. (2002). Lipid shortenings: a review. *Food Res. Int.* 35: 1015–1048.
44. Garti, N. and Yano, J. (2001). The roles of emulsifiers in fat crystallization. In *Crystallization Processes in Fats and Lipid Systems* (Garti, N. and Sato, K., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, p. 211.
45. Johnson, L.A. (2002). Recovery, refining, converting and stabilizing edible oils. In *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (Akoh, C.C. and Min, D.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 223–274.
46. Rousseau, D. and Marangoni, A.G. (2002). Chemical interesterification of food lipids: theory and practice. In *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (Akoh, C.C. and Min, D.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 301–334.
47. Willis, W.M. and Marangoni, A.G. (2002). Enzymatic interesterification. In *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (Akoh, C.C. and Min, D.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 1–40.
48. Flack, E. (1997). Butter, margarine, spreads and baking fats. In *Lipid Technologies and Applications* (Gunstone, F.D. and Padley, F.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 265–304.
49. McClements, D.J. (2002). Theoretical prediction of emulsion color. *Adv. Coll. Interf. Sci.* 97: 63–89.
50. Lonchamp, P. and Hartel, R.W. (2004). Fat bloom in chocolate and compound coatings. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 106: 241–274.
51. Min, D.B. and Boff, J.M. (2002). Lipid oxidation in edible oil. In *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (Akoh, C.C. and Min, D.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 335–364.
52. Frankel, E.N. (1998). *Lipid Oxidation*. Oily Press, Scotland.
53. Huang, S.W., Frankel, E.N., and German, J.B. (1994). Antioxidant activity of alpha-tocopherols and gamma-tocopherols in bulk oils and in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 42: 2108–2114.
54. Abidi, S.L. and Rennick, K.A. (2003). Determination of nonvolatile components in polar fractions of rice bran oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 80: 1057–1062.
55. Zhuang, H., Barth, M.M., and Hildebrand, D. (2002). Fatty acid oxidation in plant lipids. In *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (Akoh, C.C. and Min, D.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 413–464.
56. German, J.B. and Creveling, R.K. (1990). Identification and characterization of a 15-lipoxygenase from fish gills. *J. Agric. Food Chem.* 38: 2144–2147.
57. Decker, E.A. and McClements, D.J. (2001). Transition metal and hydroperoxide interactions: an important determinant in the oxidative stability of lipid dispersions. *Inform* 12: 251–255.
58. Girotti, A.W. (1998). Lipid hydroperoxide generation, turnover and effector action in biological systems. *J. Lipid Res.* 39: 1529–1542.
59. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Meth. Enzymol.* 186: 1–88.
60. Faustman, C., Liebler, D.C., McClure, T.D., and Sun, Q. (1999). Alpha, beta-unsaturated aldehydes accelerate oxymyoglobin oxidation. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3140–3144.
61. Smith, L.L. and Johnson, B.H. (1989). Biological activities of oxysterols. *Free Rad. Biol. Med.* 7: 285–332.
62. Liebler, D.C. (1993). The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin E. *Crit. Rev. Toxicol.* 23: 147–169.
63. Buettner, G.R. (1993). The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation,  $\alpha$ -tocopherol, and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.* 300: 535–543.
64. Shahidi, F. and Wanasundara, J.P.K. (1992). Phenolic antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32: 67–103.
65. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. (2001). Vitamin E. In *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids*. National Academy Press, Washington, DC, pp. 186–283.
66. Frankel, E.N., Huang, S.-W., Aeschbach, R., and Prior, E. (1996). Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. *J. Agric. Food Chem.* 44: 131–135.
67. Aruoma, O.I., Halliwell, B., Aeschbach, R., and Löliger, J. (1992). Antioxidant and pro-oxidant properties of active rosemary constituents: carnosol and carnosol and carnosic acid. *Xenobiotica* 22: 257–268.
68. Mielche, M.M. and Bertelsen, G. (1994). Approaches to the prevention of warmedoven flavour. *Trend. Food Sci. Technol.* 5: 322–327.
69. Howard, L.R., Pandjaitan, N., Morelock, T., and Gil, M.I. (2002). Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and growing season. *J. Agric. Food Chem.* 50: 5891–5896.
70. Britz, S.J. and Kremer, D.F. (2002). Warm temperatures or drought during seed maturation increase free  $\alpha$ -tocopherol in seeds of soybean (glycine max {L.} Merr.). *J. Agric. Food Chem.* 50: 6058–6063.
71. Talcott, S.T., Howard, L.R., and Brenes, C.H. (2000). Antioxidant changes and sensory properties of carrot puree processed with and without periderm tissue. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1315–1321.
72. Tong, L.M., Sasaki, S., McClements, D.J., and Decker, E.A. (2000). Mechanisms of antioxidant activity of a high molecular weight fraction of whey. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1473–1478.
73. Decker, E.A. (2002). Antioxidant mechanisms. In *Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (Akoh, C.C. and Min, D.B., eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 517–542.
74. Mahoney, J.R. and Graf, E. (1986). Role of  $\alpha$ -tocopherol, ascorbic acid, citric acid and EDTA as oxidants in a model system. *J. Food Sci.* 51: 1293–1296.
75. Sofos, J.N. (1986). Use of phosphates in low-sodium meat products. *Food Technol.* 40: 52–57.
76. Liebler, D.C. (1992). Antioxidant reactions of carotenoids. *Ann. NY Acad. Sci.* 691: 20–31.
77. Palozza, P. and Krinsky, N.I. (1992). Antioxidant effect of carotenoids *in vivo* and *in vitro*—an overview. *Meth. Enzymol.* 213: 403–420.
78. Kanner, J., German, J.B., and Kinsella, J.E. (1987). Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 25: 317–364.
79. Porter, W.L. (1993). Paradoxical behavior of antioxidants in food and biological systems. *Tox. Indus. Health* 9: 93–122.
80. Chen, H., Lee, D.J., and Schanus, E.G. (1992). The inhibitory effect of water on the  $\text{Co}^{2+}$  and  $\text{Cu}^{2+}$  catalyzed decomposition of methyl linoleate hydroperoxides. *Lipids* 27: 234–239.
81. Beuge, J.A. and Aust, S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* 52: 302–310.
82. Pegg, R.B. (2002). Spectrophotometric measurement of secondary lipid oxidation products. In *Current Protocols in Food Analytical*

- Chemistry* (Wrolstad, R., ed.), John Wiley & Sons, New York, NY, pp. D2.4.1–D2.4.18.
83. Shantha, N.C. and Decker, E.A. (1994). Rapid sensitive iron-based spectrophotometric methods for the determination of peroxide values in food lipids. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem. Int.* 77: 421–424.
  84. Larick, D.K. and Parker, J.D. (2002). Chromatographic analysis of secondary lipid oxidation products. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (Wrolstad, R., ed.), John Wiley & Sons, New York, pp. D2.2.1–D2.4.9.
  85. Yu, T.C. and Sinnhuber, R.O. (1967). An improved 2-thiobarbituric acid (TBA) procedure for measurement of autooxidation in fish oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 44: 256–261.
  86. Grundy, S.M. (2001). United States cholesterol guidelines 2001: expanded scope of intensive low-density lipoprotein-lowering therapy. *Am. J. Cardiol.* 88: 23J–27J.
  87. Willet, W.C., Stampfer, M.J., Manson, J.E., et al. (1993). Intake of *trans* fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *Lancet* 341: 581–585.
  88. Exler, J. (1987). *Composition of Foods: Finfish and Shellfish Products*. USDA Handbook 8-15, Washington, DC.
  89. Ha, Y.L., Grimm, N.K., and Pariza, M.W. (1987). Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 8: 1881–1887.
  90. Lee, K.N., Kritchevsky, D., and Pariza, M.W. (1994). Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 108: 19–25.
  91. Park, Y., Storkson, J.M., Albright, K.J., Liu, W., and Pariza, M.W. (1999). Evidence that the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids* 34: 235–241.
  92. Quilez, J., Garcia-Lorda, P., and Salas-Salvado, J. (2003). Potential uses and benefits of phytosterols in diet: present situation and future directions. *Clin. Nutr.* 22: 343–351.
  93. Bendich, A. (2004). From 1989 to 2001: what have we learned about the “biological actions of beta-carotene”? *J. Nutr.* 134: 225S–230S.
  94. Granado, F., Olmedilla, B., and Blanco, I. (2003). Nutritional and clinical relevance of lutein in human health. *Brit. J. Nutr.* 90: 487–502.
  95. Nguyen, M.L. and Schwartz, S.J. (1999). Lycopene: chemical and biological properties. *Food Tech.* 53: 38–45.