

Débora Maria Moreno Luzia

**Oxidação lipídica e antioxidantes extraídos de fontes
naturais**

1ª. Edição

2022

Este livro faz parte da minha Tese de Doutorado.

Antioxidantes naturais são importantes na prevenção de doenças, tanto para plantas como para animais, inibindo ou retardando a oxidação das biomoléculas por meio da prevenção da iniciação ou da propagação da cadeia de reações da oxidação. Com isso, dietas acrescidas de frutas, vegetais, tubérculos, cascas, castanhas, sementes oleaginosas, entre outras fontes vegetais, estão associados à menor incidência de doenças coronarianas e inflamatórias, e certos tipos de câncer. Neste contexto, o objetivo desta revisão foi apresentar a classificação, os mecanismos de ação, os tipos e funções dos antioxidantes naturais, e suas medidas analíticas de avaliação da capacidade antioxidante de fontes vegetais, visando verificar o seu potencial antioxidante para possível aplicação na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética.

SUMÁRIO

1. Introdução	4
2. Oxidação lipídica	4
3. Antioxidantes.....	7
3.1. Classificação e mecanismo de ação	7
3.2. Tipos de antioxidantes	9
3.3. Funções dos antioxidantes naturais	10
3.4. Medidas analíticas	11
3.4.1. β-caroteno/ácido linoleico	12
3.4.2. DPPH[•]	12
3.4.3. FRAP	12
3.4.4. ABTS^{•+}	13
3.4.5. ORAC	13
3.5. Fontes vegetais	14
4. Considerações finais	16
5. Referências bibliográficas	17

1. Introdução

Os óleos e gorduras estão sujeitos a diversas reações que resultam em modificações de suas características originais. Estas envolvem alterações biológicas, físicas e químicas, dentro das quais se enquadra o processo de oxidação lipídica (NAMIKI, 1990; NAWAR, 1985).

O retardo ou a prevenção da oxidação lipídica, uma das principais causas da deterioração de alimentos, pode ser realizado pela adição de antioxidantes, que mantêm a qualidade e prolongam a vida de prateleira do alimento (MONFERRER; VILLALTA, 1993; MUKAI et al., 1993).

A estabilidade oxidativa é um dos mais importantes indicadores utilizados para avaliação da qualidade dos óleos comestíveis. A diferença da estabilidade entre os diversos tipos de óleos vegetais é decorrente principalmente da presença de ácidos graxos poli-insaturados e da quantidade de antioxidantes naturais, além da adição de antioxidantes sintéticos.

Nos últimos anos, pesquisas vêm sendo realizadas a fim de divulgar à comunidade científica e ao consumidor a capacidade antioxidante encontrada em fontes vegetais, isoladas ou combinadas, para prevenir doenças, além de melhorar a qualidade de vida do ser humano. Por outro lado, os antioxidantes não se limitam somente aos gêneros alimentícios, ou seja, eles também podem ser empregados nas indústrias farmacêuticas e cosméticas.

2. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, tornando os alimentos impróprios para consumo, além de provocar outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos, pela formação de compostos potencialmente tóxicos (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). O mecanismo da oxidação lipídica é tradicionalmente descrito por diferentes caminhos.

- Reações hidrolíticas

As reações hidrolíticas são catalisadas pelas enzimas lipases, presentes nas sementes oleaginosas, ou pela ação de calor e umidade, com formação de ácidos graxos livres, que aumentam a acidez do óleo e, em menor quantidade, a formação de metilcetonas e lactonas, podendo produzir aromas desagradáveis (O'BRIEN, 1998).

- Oxidação enzimática

A oxidação por via enzimática ocorre pela ação das enzimas lipoxigenases que atuam sobre os ácidos graxos poli-insaturados, catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada poli-insaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas que podem envolver-se em diferentes reações degradativas (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

- Fotoxidação

O mecanismo da fotoxidação de gorduras insaturadas é promovido essencialmente pela radiação ultravioleta (UV) em presença de fotossensibilizadores (clorofila, mioglobina, riboflavina e outros), que absorvem a energia luminosa de comprimento de onda na faixa do visível e a transferem para o oxigênio tripleto ($^3\text{O}_2$), gerando o estado singlete ($^1\text{O}_2$) (BERGER; HAMILTON, 1995).

O $^1\text{O}_2$ reage diretamente com as ligações duplas por adição, formando hidroperóxidos diferentes dos que se observam na ausência de luz e de sensibilizadores, e que por degradação posterior originam aldeídos, alcoóis e hidrocarbonetos (SÁ; OLIVEIRA; REGITANO D'ARCE, 2004).

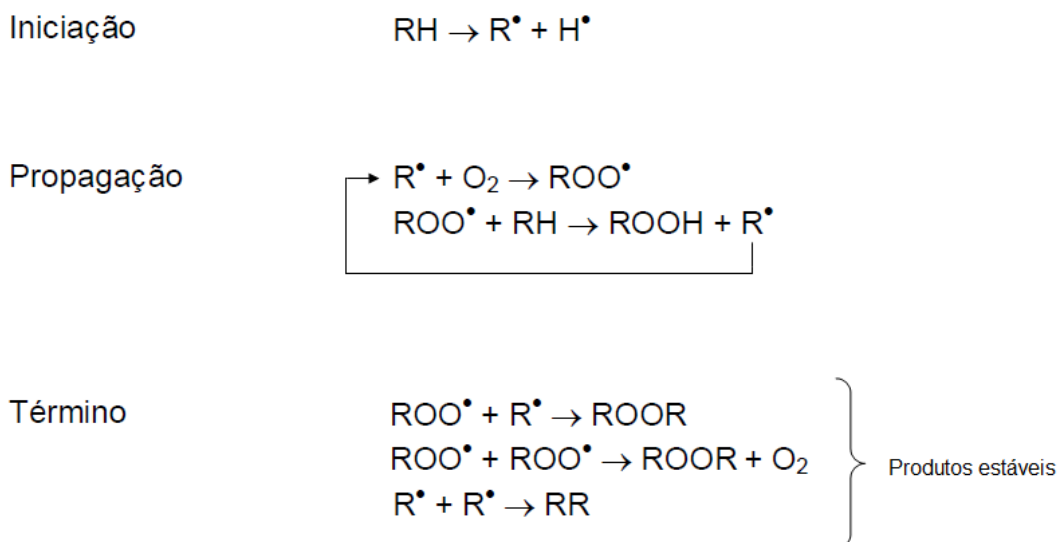
- Autoxidação

A autoxidação é o principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras (WENG; WANG, 2000). Segundo Ordóñez et al. (2005), o mecanismo de oxidação é uma das principais reações de deterioração dos alimentos, implicando no aparecimento de sabores e odores desagradáveis. Essa reação de deterioração provoca redução no valor nutritivo do alimento, como consequência da perda de ácidos graxos essenciais, sendo alguns produtos, resultantes da reação, potencialmente tóxicos.

De acordo com Jadhav et al. (1996), a oxidação dos óleos e gorduras está

associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre conforme as etapas ilustradas na Figura 1.

Figura 1 - Mecanismo de reação da oxidação lipídica.



RH - Ácido graxo insaturado; R[•] - Radical livre; ROO[•] - Radical peróxido; ROOH - Hidroperóxido

Fonte: RAMALHO; JORGE (2006).

Na etapa da iniciação, ocorre a formação de radicais livres devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo, em condições favorecidas por luz e calor. Na propagação, os radicais livres (moléculas susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico) são convertidos em (outros radicais) produtos primários da oxidação lipídica (peróxidos e hidroperóxidos). Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando num processo autocatalítico. No término, os radicais combinam-se formando produtos estáveis (produtos secundários de oxidação), obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não-voláteis) (MELO; GUERRA, 2002).

Para prevenir a autooxidação de óleos/gorduras, há a necessidade de diminuir a incidência de todos os fatores que a favorecem, mantendo ao mínimo os níveis de energia, temperatura e luz, que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de formação de radicais livres, evitando a presença de traços de metais no óleo, impedindo o contato com o oxigênio e bloqueando a formação de radicais livres por meio de antioxidantes, os quais, em pequenas quantidades, atuam interferindo nos processos de oxidação de lipídios (JORGE; GONÇALVES, 1998).

3. Antioxidantes

O uso de antioxidantes na indústria de alimentos e seus mecanismos funcionais tem sido amplamente estudado. Uma preocupação atual das indústrias é estabelecer um controle da alteração de óleos e gorduras durante seu uso, devido a relação com a qualidade e vida de prateleira do produto. Portanto, nas últimas décadas, alguns aditivos vêm adquirindo importância significativa, devido à sua contribuição, tanto na diminuição da deterioração de óleos e gorduras, como no aumento da vida útil do produto no mercado. Dentro deste contexto, os antioxidantes têm lugar de destaque, cuja efetividade como inibidor das reações autoxidativas durante armazenamento, processamento e utilização de óleos e gorduras é indiscutível e conduz sua utilização como aditivos usados em quantidades limitadas (MOURE et al., 2001).

3.1. Classificação e mecanismo de ação

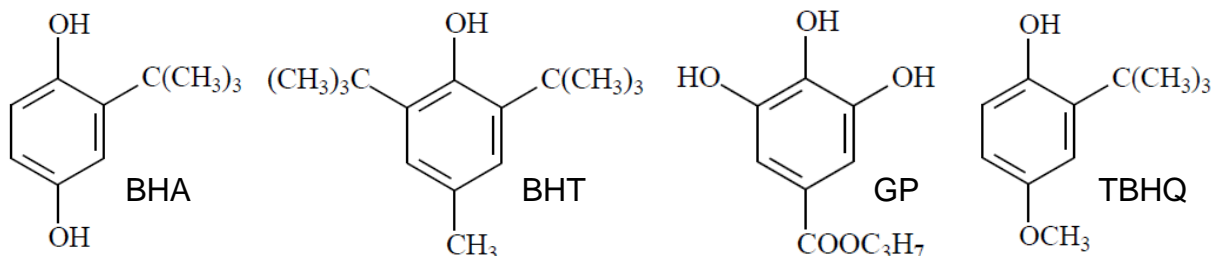
Biologicamente, os antioxidantes podem ser denominados como substâncias sintéticas ou naturais, adicionadas aos produtos para prevenir ou retardar sua deterioração pela ação do oxigênio do ar. E bioquimicamente, os antioxidantes são designados de enzimas ou outras substâncias orgânicas, como vitamina E, capazes de amenizar os efeitos nocivos da oxidação em tecidos (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

Estruturalmente, os antioxidantes são compostos aromáticos que possuem pelo menos uma hidroxila, podendo ser sintéticos, largamente utilizados pela indústria de alimentos, ou naturais, que fazem parte da constituição de diversos alimentos (PODSEDEK, 2007).

Os antioxidantes, segundo o mecanismo de ação, são classificados em antioxidantes primários e secundários. Os primários são compostos de estrutura fenólica (Figura 2): butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), galato de propila (GP) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ), que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, pela doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (DUBINSKY, 2000; SIMIC; JAVANOVIC, 1994). Madhavi e

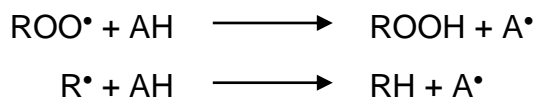
Salunkhe (1995) apresentaram o mecanismo de ação para os antioxidantes primários, representado na Figura 3.

Figura 2 - Estrutura fenólica dos antioxidantes primários.



Fonte: Autor, 2012.

Figura 3 - Mecanismo de ação dos antioxidantes primários.



onde:

ROO[•] e R[•] - Radical peróxido e radical livre

AH - Antioxidante com um átomo de hidrogênio

A[•] - Radical inerte

Fonte: Autor, 2012.

Os antioxidantes secundários contribuem para retardar a autoxidação por mecanismos diferentes aos dos antioxidantes primários (CHOE; MIN, 2006). Nesta categoria encontram-se:

- ✓ Agentes quelantes – complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica. Um par de elétrons não compartilhado na sua estrutura molecular promove ação de complexação. Os mais comuns são ácidos cítricos e seus sais, fosfatos e sais do ácido etileno diamina tetra acético (EDTA);
- ✓ Removedores de oxigênio – atuam capturando o oxigênio presente no meio, por reações químicas estáveis, tornando-os, conseqüentemente, indisponíveis para atuar como propagadores da autoxidação. Ácido ascórbico e palmitato de ascorbila são os melhores exemplos deste grupo;
- ✓ Compostos que decompõem os hidroperóxidos – formam produtos estáveis,

- como os fosfolipídios em determinadas condições;
- ✓ Compostos que regeneram os antioxidantes primários – como o ácido ascórbico, que regenera o α -tocoferol.

3.2. Tipos de antioxidantes

Os antioxidantes sintéticos como BHA, BHT, GP e TBHQ são os mais utilizados na indústria de alimentos para diminuir a fase de propagação da reação de oxidação.

Estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade desses antioxidantes apresentarem efeito carcinogênico em experimentos com animais (BOTTERWECK et al., 2000). Por esse motivo, o uso de antioxidantes sintéticos é restringido em vários países, visto que existe a possibilidade de terem efeitos indesejáveis para a saúde humana (ALMEIDA-DORIA; REGITANO-D'ARCE, 2000; CUVELIER; RICHARD; BERSET, 1996).

O TBHQ não é permitido no Canadá e na Comunidade Econômica Europeia (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002). Segundo o *Codex Alimentarium Commission* (2009), o limite máximo permitido para BHA, TBHQ, BHT, GP, e combinações de dois ou mais antioxidantes é de 175, 120, 75, 100 e 200 mg/kg, respectivamente. No Brasil, o uso de antioxidantes é controlado pelo Ministério da Saúde que limita em 200 mg/kg tanto para BHA como para TBHQ e 100 mg/kg para BHT e GP como concentrações máximas permitidas (BRASIL, 2005).

Tendo em vista os indícios de problemas que podem ser provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, há grande interesse na obtenção e utilização de antioxidantes provenientes de fontes naturais porque são presumidamente seguros, visto que ocorrem em plantas e frutas. Nesse sentido, muitas pesquisas têm sido dirigidas com a finalidade de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, com o intuito de diminuir sua quantidade nos alimentos (COIMBRA; DEL RÉ; JORGE, 2009; JORGE; MALACRIDA, 2008; LUZIA; JORGE, 2011; SOARES, 2002).

As substâncias presentes em fontes naturais, que são capazes de agir como antioxidantes são minerais, vitaminas e compostos fenólicos. Dentre os mais importantes, sob o ponto de vista tecnológico, podem-se citar os tocoferóis, os

carotenoides, alguns ácidos orgânicos como cítrico e ascórbico, e os flavonoides. Esses compostos podem agir como redutores de radicais livres, inibidores ou supressores de $^1\text{O}_2$ e ainda como inativadores de metais pró-oxidantes.

O potencial antioxidante de um composto é determinado pela reatividade do mesmo como doador de elétrons ou hidrogênio, sua capacidade de deslocar ou estabilizar elétrons desemparelhados e suas reatividades com outro antioxidante ou com o oxigênio molecular (MOURE et al., 2001).

Okonogi et al. (2007) avaliaram a capacidade antioxidante e a citotoxicidade de resíduos de cascas de diferentes frutas: romã (*Punica granatum*), rambutam (*Nephelium lappaceum*) e mangostão (*Garcinia mangostana*), e constataram que poderiam ser aproveitados devido ao grande potencial antioxidante.

Segundo estudo realizado por Leong e Shui (2002), a capacidade antioxidante de frutas como goiaba, uva, manga, kiwi, melão, mamão, abacate, coco, melancia, laranja, sapoti e rambutam variou de acordo com a espécie, de 0,06% para sapoti até 70,2% para rambutam.

3.3. Funções dos antioxidantes naturais

Além de prevenir a deterioração oxidativa dos lipídios, os antioxidantes atuam benéficamente na saúde prevenindo o surgimento de doenças relacionadas ao envelhecimento, câncer e doenças cardíacas. A formação de radicais livres está associada com o metabolismo normal das células aeróbicas. O consumo de oxigênio inerente à multiplicação celular leva à geração de uma série desses radicais. A interação destas espécies com moléculas de natureza lipídica em excesso produz novos radicais hidroperóxidos e diferentes peróxidos. A produção de radicais livres é controlada nos seres vivos por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena ou serem obtidos pela dieta. Quando há limitação na disponibilidade de antioxidantes, podem ocorrer lesões oxidativas de caráter cumulativo e os grupos de radicais podem interagir com os sistemas biológicos de formas citotóxicas (SOUZA et al., 2007).

Segundo Krishnaiah, Sarbatly e Nithyanandam (2011), os antioxidantes extraídos de plantas medicinais e ervas reduzem o estresse oxidativo nas células e, portanto, são úteis no tratamento de várias doenças, como câncer, doenças