

Comportamento do Óleo de Semente de Uva Submetido à Oxidação Lipídica

Gabriela Kovaleski (Universidade Estadual de Ponta Grossa) gabi95k@hotmail.com
Marina Tolentino Marinho (Universidade Estadual de Ponta Grossa) mtolentinomarinho@gmail.com
Larissa Evangelista de Freitas Aguiar (Universidade Estadual de Ponta Grossa) larissa_aguiar01@hotmail.com

Resumo:

O seguinte estudo busca obter informações sobre os diferentes métodos acelerados da oxidação lipídica para verificar a estabilidade oxidativa do óleo de semente de uva e também objetiva avaliar a eficiência dos diferentes antioxidantes utilizados para as amostras. Amostras de óleo de semente de uva orgânico, sem adição de antioxidantes e adicionadas de antioxidantes sintéticos (BHT, TBHQ e PG), foram submetidas à termo-oxidação (*Schaal Oven Test*), foto-oxidação em câmara de luz UV durante 60 dias, e *Rancimat*. A foto-oxidação do óleo de semente de uva proporcionou valores levemente maiores de índice de peróxidos que a termo-oxidação, sendo que na termo-oxidação o antioxidante mais eficiente foi o PG, enquanto na oxidação fotoquímica, o óleo sem antioxidante apresentou menores índices de peróxidos e se mostrou mais estável nas análises de RMN¹H. Na utilização do método *Rancimat*, a amostra com antioxidante TBHQ se mostrou mais estável. Os resultados demonstram que o óleo de semente de uva apresenta um comportamento diferenciado possivelmente pela presença de antioxidantes naturais e que a eficiência dos antioxidantes varia de acordo com o método utilizado e composição das amostras.

Palavras chave: Óleo de Semente de Uva, Oxidação lipídica, Antioxidantes Sintéticos.

Behavior of the Grape Seed Oil Submitted to Lipid Oxidation

Abstract

The following study aims to gather information about the different accelerated methods of lipid oxidation to check the oxidative stability of grape seed oil and evaluate the efficiency of different antioxidants used for the samples. Samples of organic grape seed oil, without antioxidant and with synthetic antioxidant added (BHT, TBHQ, and PG) were subjected to thermo-oxidation (*Schaal Oven Test*), photo-oxidation in UV light Chamber for 60 days, and *Rancimat*. The photo-oxidation of grape seed oil resulted in slightly higher values of peroxide than the thermo-oxidation, even though the thermal oxidation the most efficient antioxidant was PG, while in photochemical oxidation, the oil without antioxidant has presented lower indexes of peroxides and proved to be more stable in the analyses of RMN¹H. Using *Rancimat* method, the sample with TBHQ antioxidant proved to be more stable. The study showed that grape seed oil has a differentiated behavior possibly by the presence of natural antioxidants and that antioxidant efficiency varies according to the method used and the composition of the samples.

Key-words: Grape Seed Oil, Lipid Oxidation, Synthetic Antioxidants

1. Introdução

A oxidação lipídica é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis tornando os alimentos impróprios para consumo, além de também provocar outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, devido à degradação de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (SILVA, 1999).

Existem duas principais vias de reação da oxidação lipídica: a auto-oxidação e foto-oxidação. A auto-oxidação é uma via primária para a formação de hidroperóxidos lipídicos que formam produtos secundários que causam sabores significativamente indesejáveis ao óleo. Já a foto-oxidação ocorre quando um óleo é exposto à luz em presença de sensibilizadores como clorofila ou riboflavina que quando ativada pela luz reage com o oxigênio e este reage com o ácido graxo para formar hidroperóxido (HU; JACOBSEN, 1994).

A estabilidade oxidativa é um parâmetro global para avaliação de qualidade de óleos que reflete diretamente na qualidade da matéria-prima. Para verificar a estabilidade oxidativa existem testes acelerados como o Schaal Oven Test (temperatura elevada), incidência direta da luz e o alto consumo de oxigênio. Esses testes também são utilizados para verificar a eficiência de antioxidantes (HILL, 1994).

O principal interesse no óleo de semente de uva é seu alto valor de ácidos graxos insaturados, como o ácido linoleico, que excede o óleo de cártamo, óleo de girassol, óleo de milho e o óleo de soja. Além disso, esse óleo contém uma grande quantidade de taninos sendo resistente à oxidação (CAO e ITO, 2003).

Estudos revelam os benefícios do consumo do óleo de semente de uva, como a prevenção de trombose, redução do colesterol, inibição do câncer de mama, pele e outros, e esse óleo ainda possui grandes quantidades de tocoferol (vitamina E), que é um antioxidante (CAO e ITO, 2003).

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável, com uma implicação direta no valor comercial, nutricional e na vida de prateleira dos alimentos. Assim, o presente trabalho tem como objetivo comparar diferentes métodos de indução de lipídios à oxidação, analisar a eficácia de diferentes antioxidantes em óleo de semente de uva submetido à oxidação acelerada, e monitorar a oxidação por técnicas clássicas e por RMN de ^1H .

2. Metodologia

O óleo de semente de uva orgânico foi obtido por prensagem a frio e cedido pela empresa Econatura Produtos Ecológicos e Naturais LTDA. Foram adicionados três antioxidantes sintéticos ao óleo de semente de uva para comparação de sua eficácia: TBHQ (terc-butil hidroquinona), BHT (butil hidroxitolueno) e PG (galato de propila) ao óleo de uva. Adicionou-se aproximadamente 0,0065g de cada antioxidante, diluído em um pouco de etanol, para 65 mL de óleo, sob agitação. As amostras de óleo adicionadas de antioxidantes e uma amostra de óleo puro como controle foram colocadas em tubos de ensaio e submetidas a testes acelerados de oxidação (teste da estufa ou *Schaal Oven Test*, câmara de foto-oxidação e *rancimat*). As análises realizadas a cada 15 dias foram o índice de peróxido, índice de acidez e a Ressonância Magnética Nuclear de ^1H apenas nos dias 0 e 60.

3. Resultados

3.1 Acidez

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados obtidos de índice de acidez para a amostra de óleo de semente de uva sem adição e com adição de antioxidantes submetida à termo-oxidação e foto-oxidação durante 60 dias.

Tempo	Amostras ¹	Acidez (mg KOH/g amostra)		<i>p</i> ^{**}
		Térmica	Fotoquímica	
Zero	CONT	3,38±0,06	3,38±0,06	1,00
	BHT	3,38±0,06	3,38±0,06	
	PG	3,38±0,06	3,38±0,06	
	TBHQ	3,38±0,06	3,38±0,06	
	Média±DP	3,38±0,06	3,38±0,06	
	<i>p</i>[*]	1,00	1,00	
15 dias	CONT	3,86±0,27	3,19±0,13	<0,001
	BHT	4,08±0,14	3,35±0,17	
	PG	3,66±0,12	3,35±0,08	
	TBHQ	3,91±0,04	3,31±0,23	
	Média±DP	3,87±0,21^A	3,30±0,15^B	
	<i>p</i>[*]	0,08	0,60	
30 dias	CONT	3,83±0,13	3,58±0,10	<0,01
	BHT	3,71±0,23	3,66±0,16	
	PG	4,12±0,22	3,36±0,10	
	TBHQ	3,72±0,11	3,60±0,26	
	Média±DP	3,85±0,23^A	3,55±0,19^B	
	<i>p</i>[*]	0,08	0,23	
45 dias	CONT	3,54±0,03	3,54±0,11	<0,001
	BHT	3,71±0,07	3,39±0,08	
	PG	3,58±0,03	3,37±0,04	
	TBHQ	3,54±0,10	3,34±0,21	
	Média±DP	3,59±0,09^A	3,41±0,13^B	
	<i>p</i>[*]	0,05	0,27	
60 dias	CONT	3,86±0,10	3,74±0,13	0,66
	BHT	3,84±0,12	3,75±0,24	
	PG	3,79±0,03	3,79±0,12	
	TBHQ	3,65±0,05	3,77±0,13	
	Média±DP	3,79±0,11	3,76±0,14	
	<i>p</i>[*]	0,05	0,98	

¹ CONT: óleo sem adição de antioxidantes; BHT: óleo com adição do antioxidante BHT; PG: óleo com adição do antioxidante PG; TBHQ: óleo com adição do antioxidante TBHQ. n=3. ^{ABC} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os métodos de oxidação (Teste t, *p* < 0,05, *p*^{**}).

Fonte: As autoras
(2016)

Tabela 1 – Efeito do tempo e do método de oxidação acelerada (térmica e fotoquímica) no índice de acidez em óleo de semente de uva orgânico sem adição e com adição de antioxidantes sintéticos

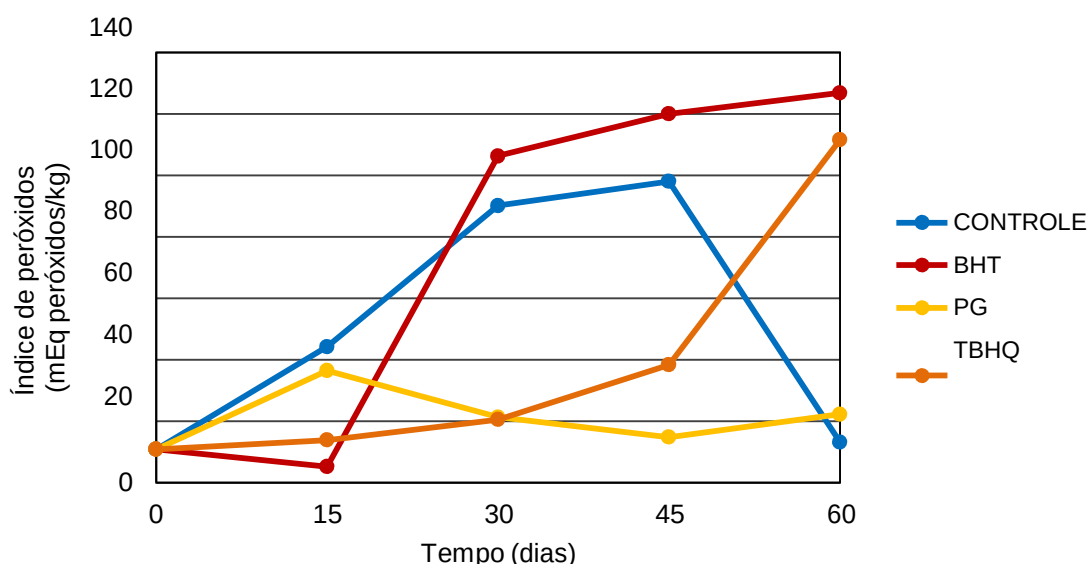
De acordo com a Resolução RDC nº270 de 22 de setembro de 2005 (Brasil, 2005), para óleos prensados a frio e não refinados, o valor de Índice de acidez máximo permitido é de 4,0 mgKOH/g. Pode-se observar que o óleo está dentro das normas exigidas pela legislação, mesmo após 60 dias de oxidação.

A termo-oxidação apresentou níveis levemente maiores de acidez quando comparado à foto-oxidação. Houve diferença significativa nos tempos 15 e 45 dias entre os métodos. Analisando as amostras, não houve diferenças significativas em nenhum dos tempos analisados.

O óleo de semente de uva possui o antioxidante natural tocoferol e este se mostrou bastante eficiente quando comparado aos antioxidantes sintéticos já que nas amostras adicionadas destes, a estabilidade do óleo foi a mesma.

3.2 Índice de peróxido

A Figura 1 representa o Índice de peróxido das amostras submetidas à oxidação térmica.



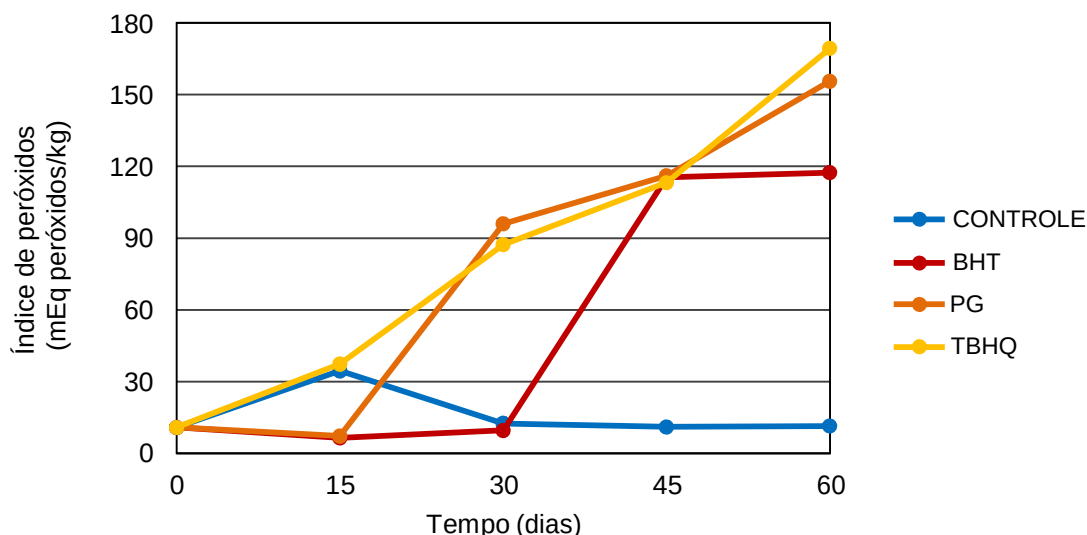
Fonte: As autoras (2016)

Figura 1 – Efeito do tempo no índice de peróxidos de amostras de óleo de semente de uva orgânico sem adição e com adição de antioxidantes sintéticos submetidos à oxidação térmica.

Conforme mostra o gráfico acima, a amostra controle apresentou comportamento típico de formação de peróxido, havendo um aumento do índice até o tempo 45 e posterior decaimento até tempo de 60 dias.

A amostra com o antioxidante BHT obteve o maior índice de formação de peróxido de todos os tratamentos, sendo que um aumento significativo ocorreu a partir do tempo de 15 dias, enquanto o TBHQ apresentou o mesmo comportamento, porém esse aumento foi significativo após 30 dias de oxidação térmica. O antioxidante que apresentou menor índice de peróxido e maior estabilidade durante os 60 dias foi o PG, mostrando assim ser o mais eficiente na proteção contra a termo-oxidação.

O índice de peróxidos do óleo de semente de uva submetido à oxidação fotoquímica, encontra-se no Figura 2.



Fonte: As autoras
(2016)

Figura 2 – Efeito do tempo no índice de peróxidos de amostras de óleo de semente de uva orgânico sem adição e com adição de antioxidantes sintéticos submetidos à oxidação fotoquímica em câmara de luz UV.

A Resolução RDC nº270 de 22 de setembro de 2005, ANVISA, rege que o máximo permitido de índice de peróxido para óleos prensados a frio é de 15 mEq/kg de amostra, ou seja, o óleo de semente de uva, inicialmente, estava dentro do limite imposto pela legislação, apresentando valor de 10,83 mEq/kg.

Para a foto-oxidação os antioxidantes não foram eficientes pois conforme mostra a Figura 2, o Controle obteve os menores índices de peróxido e depois do tempo 30 dias manteve-se estável.

A amostra com o antioxidante TBHQ mostrou-se menos eficiente do que as outras amostras com antioxidante. Já a amostra com o PG manteve-se estável até 15 dias e a taxa aumentou após esse período, enquanto a amostra com BHT manteve-se estável até o tempo de 30 dias.

O óleo de semente de uva contém o antioxidante natural tocoferol que está presente em maior quantidade na forma de alfa-tocoferol (MORETTO e FETT, 1998) o que justifica sua estabilidade frente a processos oxidativos.

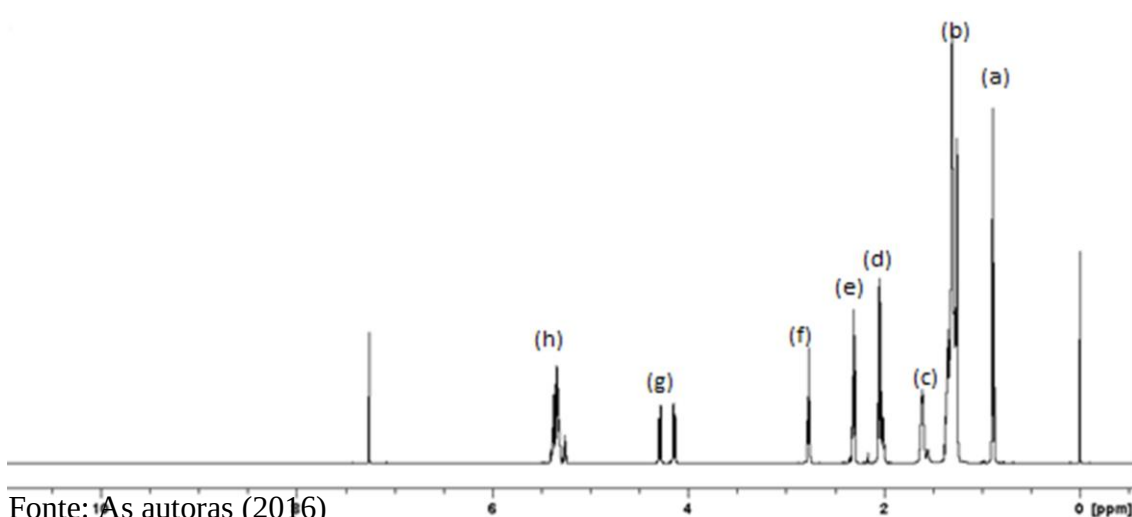
Comparando os dois métodos acelerados de oxidação constata-se que o Controle foi amplamente oxidado na auto-oxidação enquanto na oxidação fotoquímica manteve-se estável, mostrando que o efeito antioxidante do tocoferol foi eficiente na presença de luz UV, mas foi inibido em altas temperaturas.

O antioxidante BHT apresenta baixa estabilidade frente à altas temperaturas (RAMALHO, 2006), esse comportamento pode ser observado na termo-oxidação (Figura 5), onde o BHT foi o antioxidante menos eficiente, enquanto na foto-oxidação mostrou eficiência razoável comparado aos outros antioxidantes.

Em temperaturas elevadas, o TBHQ é considerado o melhor antioxidante sintético para óleos pois resiste ao aquecimento (JORGE, 2009), esse comportamento pode ser observado no Figura 5 onde mostra que este manteve-se relativamente estável até o tempo de 45 dias.

3.3 RMN de ^1H

A Figura 3 representa o espectro de RMN do óleo de semente de uva no tempo zero de oxidação.



Fonte:

As autoras (2016)

Figura 3 - Espectro de RMN ^1H do óleo de semente de uva orgânico.

Ao observar o espectro do óleo de semente de uva, pode-se citar os principais picos presentes:

Em **(f)** observa-se os H dialílicos que estão presentes em ácidos graxos poli-insaturados como o ácido linoleico e linolênico, em **(d)** observa-se a região do H alílico que está presente em todos os ácidos graxos que contêm ao menos uma insaturação, como ácido oleico, linolênico e linoleico **(e)** representa os H ligados aos carbonos sem insaturação.

Comparando com o Espectro de RMN ^1H de um triacilglicerol (Figura 1) pode-se perceber que o pico de sinal $\sim 0,98\text{ppm}$ que corresponderia aos H da metila que estão presentes no ácido linolênico não existe no espectro do óleo de semente de uva, ou seja, esse óleo não contém ácido linolênico.

A tabela 2 representa os valores calculados de ácido linoleico, ácido oleico e ácidos graxos saturados obtidos pela medição da área dos picos de RMN ^1H .

	Amostras ¹	Tempo zero	Térmica	Fotoquímica	P
Ácido linoleico (%)	CONT	65,48±0,68	64,63±0,90 ^A	65,85±0,40 ^A	0,17
	BHT	65,48±0,68 ^a	58,63±0,15 ^{cC}	61,20±0,29 ^{bB}	<0,001
	PG	65,48±0,68 ^a	64,91±0,41 ^{aA}	60,40±1,16 ^{bBC}	<0,001
	TBHQ	65,48±0,68 ^a	62,59±0,66 ^{bB}	59,25±0,59 ^{cC}	<0,001
	p	1,00	<0,001	<0,001	
Ácido oleico (%)	CONT	22,93±0,71	23,40±1,28	22,30±0,28 ^B	0,36
	BHT	22,93±0,71	23,83±0,40	24,17±0,58 ^A	0,09
	PG	22,93±0,71 ^{ab}	22,42±0,26 ^b	23,79±0,48 ^{aA}	<0,05
	TBHQ	22,93±0,71	23,05±0,44	23,65±0,15 ^A	0,24
	p	1,00	0,18	<0,01	
Saturados (%)	CONT	11,59±0,43	11,97±0,44 ^C	11,84±0,15 ^D	0,49
	BHT	11,59±0,43 ^c	17,50±0,35 ^{aA}	14,62±0,86 ^{bC}	<0,001
	PG	11,59±0,43 ^b	12,67±0,17 ^{bC}	15,80±0,82 ^{aBC}	<0,001
	TBHQ	11,59±0,43 ^c	14,36±0,22 ^{bB}	17,10±0,58 ^{aA}	<0,001
	p	1,00	<0,001	<0,001	

¹ CONT: óleo sem adição de antioxidantes; BHT: óleo com adição do antioxidante BHT; PG: óleo com adição do antioxidante PG; TBHQ: óleo com adição do antioxidante TBHQ. n=3. ^{ABC} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os métodos de oxidação (Teste t, p < 0,05, p**).

Fonte: As autoras
(2016)

Tabela 3 – Composição óleo de semente de uva sem adição de antioxidantes (controle) e adicionado de diferentes antioxidantes no tempo zero e após 60 dias de oxidação térmica e fotoquímica

Comparando os antioxidantes com os métodos de oxidação, a porcentagem de ácido linoleico contido no óleo de uva (tabela 2), mostra que para o controle não houve diferença significativa entre os métodos, o mesmo ocorreu para o ácido oleico e para os ácido graxos saturados. Já para a amostra com antioxidante BHT mostra que houve diferença significativa entre os métodos, sendo que o óleo adicionado desse antioxidante foi mais instável na oxidação térmica. Os resultados da amostra com o antioxidante PG mostram que o tempo zero não houve diferença com a oxidação térmica, mas houve diferença com a oxidação fotoquímica. Na amostra com o antioxidante TBHQ houve diferença entre o tempo zero e os dois métodos, sendo que a oxidação foi maior no método fotoquímico.

Ao comparar as amostras entre si, na oxidação térmica, percebe-se que a porcentagem de ácido linoleico no controle diferiu entre as amostras com o antioxidante BHT e TBHQ, enquanto não houve diferença com o PG. E na oxidação fotoquímica a amostra com o antioxidante PG e TBHQ não diferiram entre si, mas essas, apresentaram diferenças comparando-se com o controle e com o antioxidante BHT.

Para o ácido oleico, também houve diferenças entre os métodos, mas isso só ocorreu para a amostra com o antioxidante PG: todos diferiram entre si, sendo que na oxidação fotoquímica apresentou maior porcentagem de ácido, pois a oxidação de ácido linoleico também foi maior nesse método. Comparando o controle com os antioxidantes, houve diferença significativa apenas na oxidação fotoquímica, mas os antioxidantes não diferiram entre si.

Os ácidos graxos saturados na amostra com o antioxidante BHT mostraram-se em maiores teores na oxidação térmica do que na oxidação fotoquímica. Para a amostra com o antioxidante PG houve um aumento para os dois métodos comparados ao tempo zero, sendo que na oxidação fotoquímica esse aumento foi mais expressivo. Observou-se o mesmo para a amostra com o antioxidante TBHQ.

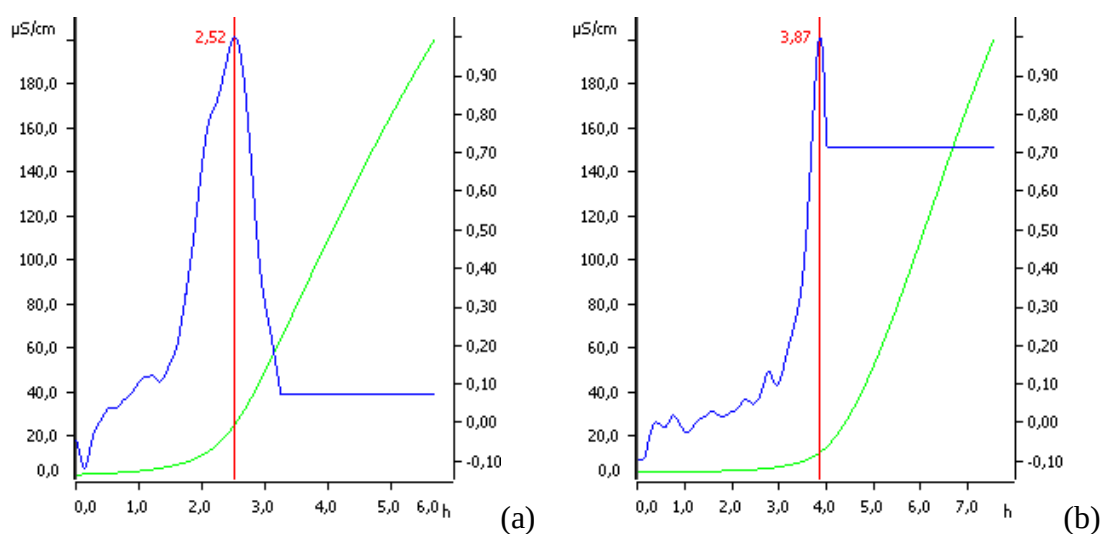
Comparando as 4 amostras, a amostra com o antioxidante BHT e TBHQ diferiram entre si e com as amostras com o antioxidante PG e o controle, sendo que entre esses não houve diferença significativa, para a termo oxidação. Para a foto oxidação houve diferença significativa entre todas as amostras.

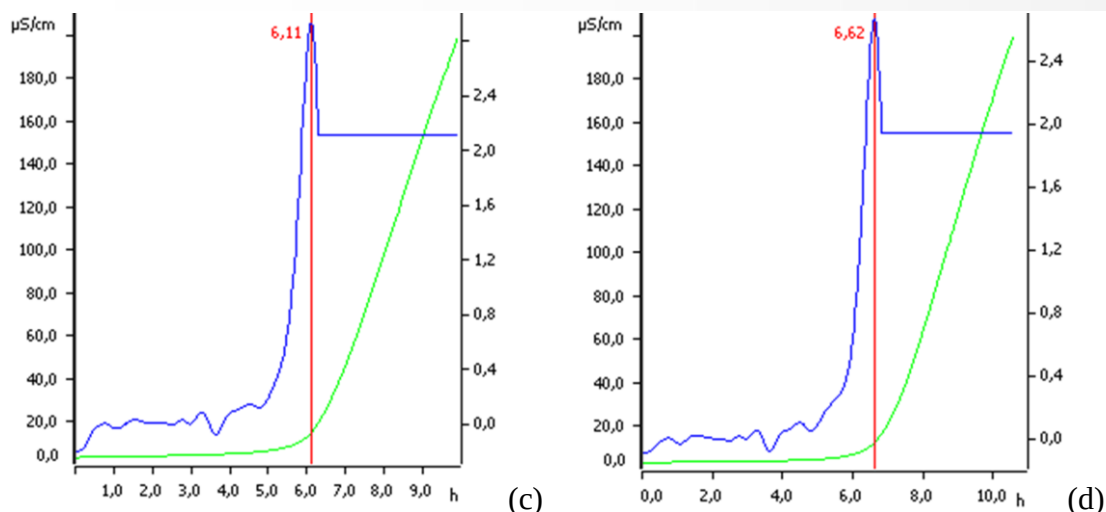
De acordo com a porcentagem de ácidos graxos saturados no óleo no tempo zero e após os 60 dias dos dois métodos, o controle manteve-se estável. Diferentemente da amostra com o antioxidante BHT que obteve o maior resultado de ácidos graxos saturados na oxidação térmica. Enquanto na oxidação fotoquímica a maior porcentagem de ácido graxo saturado foi a amostra com o TBHQ. O aumento dos ácidos graxos saturados é decorrente da diminuição proporcional dos ácidos graxos poli insaturados, devido a sua destruição por oxidação e polimerização.

Uma hipótese que pode explicar o controle manter-se estável até 60 dias nos dois métodos, comparado com as amostras que continham antioxidantes, é que pode ter havido um sinergismo negativo entre os compostos fenólicos antioxidantes do óleo de semente de uva e os antioxidantes adicionados.

3.4 Resultados do método *Rancimat*

A figura 4 representa os resultados obtidos pelo método *Rancimat*.





Fonte: As autoras
(2016)

Figura 4 – Resultados para o tempo de indução a oxidação (horas) das amostras de óleo de semente de semente de uva sem adição de antioxidantes (a); adicionado de BHT (b); adicionado de PG (c); adicionado de TBHQ (d)

O período de indução é o intervalo entre o início da análise e o tempo em que a condutividade da amostra aumenta bruscamente, devido aos produtos voláteis da oxidação (VITORINO, 2012). Analisando o período de indução dos gráficos obtidos pelo *Rancimat* pode-se constatar que o antioxidante TBHQ foi mais eficiente, devido a sua estabilidade em temperaturas elevadas comparado aos outros antioxidantes (JORGE, 2009). O controle obteve menor tempo de indução à oxidação, sendo o menos estável, pois não houve adição de antioxidantes.

4. Conclusão

Os métodos acelerados de oxidação térmica em estufa e de oxidação fotoquímica em câmara de luz UV, apresentaram resultados que foram confirmados pela análise de RMN de ^1H .

O estudo mostrou que a eficiência dos antioxidantes varia de acordo com o método utilizado, das composições das amostras e as técnicas utilizadas.

O óleo de semente de uva é um óleo com alta estabilidade oxidativa o qual mostrou-se estável mesmo sem adição de antioxidantes e que em algumas situações, o comportamento é ainda melhor quando não adicionado de antioxidantes.

Referências

BRASIL. Resolução ANVS/MS nº. 270, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 set. 2005. Seção 1.

CAO, X.; ITO, Y. Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 1021, p. 117-124, 2003.

JORGE, N.; LUZIA, D. M. M. Atividade antioxidante do extrato de semente de limão (*citrus limon*) adicionado ao óleo de soja em teste de estocagem acelerada. *Química Nova*, São José do Rio Preto, v. 32, n. 4, p.946-949, jan. 2009.

MORETTO, E.; FETT, R. Definição de óleos e Gorduras tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos. São Paulo. Varela, 1998. 144 p.

RAMALHO, V.C. Ação antioxidante de alfa-tocoferol e extrato de alecrim em óleo de soja submetido à termoxidação. 2005. 154 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2005.

SILVA F. A. M; BORGES M. F. M; FERREIRA M. A. *Métodos para Avaliação do Grau de Oxidação Lipídica e da Capacidade Antioxidante*. Quím. Nova. 1999 p. 94-103.

VITORIANO, B. A. F. CONGRESSO BRASILEIRO DE AUTOMÁTICA, 2012, Campina Grande. *Determinação da estabilidade oxidativa de biocombustíveis*. Campina Grande:____, 2012. 7 p.

ANEXO

Os anexos devem vir ao final do trabalho. Vale salientar que o trabalho completo, incluindo as referências bibliográficas e os anexos, não deve exceder 12 páginas e 1 Mb.



VI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO
Ponta Grossa, PR, Brasil, 30 de Novembro a 02 de Dezembro de 2016