



Foto: Ana Cristina Krolow

COMUNICADO
TÉCNICO

387

Pelotas, RS
Abril, 2021

Embrapa

Metodologia Científica: Identificação de Antioxidantes Naturais para Aumentar a Estabilidade Oxidativa de Gorduras Ovinas

Ana Cristina Krolow
Márcia Vizzotto
Rogério Oliveira Jorge
Núbia M. L. Ferri
Paula Schild Lobo
Liane Galarz
Maria R. V. de Meneses
Elen Nalério

OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL

2 FOME ZERO
E AGRICULTURA
SUSTENTÁVEL



Metodologia Científica: Identificação de Antioxidantes Naturais para Aumentar a Estabilidade Oxidativa de Gorduras Ovinas¹

¹ Farmacêutica-bioquímica, doutora em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Bacharel em Química, especialista em Ciência dos Alimentos, analista da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Farmacêutica-bioquímica, especialista em Desenvolvimento de Medicamentos, analista da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Engenheira de Alimentos, mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, técnica da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Estudante, bolsista CNPq, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul- Rio-Grandense, Pelotas, RS. Médica-veterinária, doutora em Ciência e Tecnologia de Agroindustrial, pesquisadora da Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS..

A carne ovina fornece nutrientes essenciais e de alto valor biológico, alto teor de vitaminas, minerais e proteína de alta qualidade. Entretanto, é rica em ácidos graxos saturados derivados do processo e digestão de lipídeos nos ruminantes. Nesses animais, os ácidos graxos provenientes da dieta são hidrolisados e, em seguida, os poli-insaturados são rapidamente hidrogenados pelos micro-organismos do rúmen, resultando na produção de ácidos graxos saturados (principalmente ácido esteárico; 18:00). Essa é uma das principais razões pela alta natureza saturada dos lipídeos nos ruminantes (Senegalhe et al., 2014).

Na carne, a oxidação acontece de forma espontânea e massiva afetando, principalmente, os lipídios e, na sequência, as proteínas, com o desencadeamento do ranço e estresse oxidativo. O ranço oxidativo (OR) representa uma das principais causas da deterioração da carne. Além de produzir odores

desagradáveis, é responsável pela perda de sabor, textura, consistência, aparência e valor nutricional da carne; assim como o estresse oxidativo (OS), constitui um importante mecanismo de dano biológico em seres vivos (Fellenberg; Speisky, 2006).

Devido ao conteúdo de ácidos graxos saturados, a carne ovina é suscetível às reações oxidativas, o que pode ocasionar alterações indesejáveis nos produtos cárneos, como perda de cor, alteração de textura, desenvolvimento de sabor e odor estranhos, o que pode levar à limitação da vida útil dos produtos. Para evitar esses efeitos indesejáveis, uma das alternativas é o uso de antioxidantes na elaboração de produtos derivados de carnes. Entretanto, a indústria de produtos cárneos faz uso de antioxidantes sintéticos, sendo mais utilizados Hidroxianisol Butilado (BHA), Hidroxitolueno Butilado (BHT), Propil

Galato (PG) e Terc Butil Hidroquinona (TBHQ).

Diante da procura dos consumidores por reduzir o consumo de produtos que contenham aditivos sintéticos, surgiu a demanda pelo desenvolvimento de antioxidantes naturais utilizando extratos de diversos vegetais, como extratos de frutas, de folhas e óleos essenciais. Esses extratos, além de apresentarem a mesma eficiência dos antioxidantes aplicados, podem proporcionar maior aceitação pelo consumidor, pois fazem associação entre extratos vegetais (frutas e hortaliças) e menores efeitos danosos à saúde.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar um método de extração para obtenção de extratos vegetais com atividade antioxidante e identificar uma concentração ideal de extrato com o intuito de aumentar a estabilidade oxidativa de gordura ovina.

Nesta publicação, são relatadas as informações necessárias para a elaboração dos extratos vegetais de arará vermelho e folhas de oliveira, com suas respectivas atividades antioxidantes, o método de extração das gorduras, as concentrações dos extratos adicionados às gorduras e os resultados obtidos no equipamento denominado Rancimat, usando-se os protocolos descritos.

Materiais e métodos

Teste da atividade antioxidante dos

extratos vegetais elaborados sobre a gordura ovina

- A extração das gorduras é realizada pelo método Bligh & Dyer, que usa o sistema de solventes clorofórmio:metanol:água, adicionados em duas etapas, cuja extração é realizada a frio, preservando a integridade dos lipídios extraídos, permitindo sua utilização posterior para qualquer finalidade.
- Adição dos extratos e análise no aparelho Rancimat (Figura 1), cujo mecanismo acelera o processo de oxidação da amostra pelo uso de temperatura e oxigênio, em que o parâmetro de medida é o aumento da condutividade da água. Basicamente, o fluxograma do processo se desenvolve conforme descrito seguir:
 - **Aquecimento - Fluxo de ar** (fornece O_2) – **início de oxidação** (libera ácidos orgânicos; retirados da amostra por fluxo de ar e são conduzidos até a água) – **aumento da condutividade da água** (medido pela célula de condutividade).
 - Tempo de indução ou índice de estabilidade oxidativa (OSI), é usado para medir a estabilidade oxidativa de óleos animais e vegetais e gorduras, e para examinar a eficiência de antioxidantes.



Figura 1. Aparelho Rancimat



Figura 2. Esquema ilustrativo do princípio de funcionamento do aparelho Rancimat.

Fonte:

Materiais necessários

Reagentes

Água obtida por sistema de osmose reversa, álcool de cereais (solvente extrator), solução de cloreto de potássio (KCl) 88 %, clorofórmio P.A., metanol P.A.

Equipamentos

Moinho de bancada, shaker, multiprocessador de alimentos, mixer de alimentos, capela de exaustão de gases, bomba de vácuo, rotaevaporador rotativo a vácuo, balança semianalítica de três dígitos, aparelho Rancimat.

Vidrarias e materiais

Provetas de 50 mL e de 100 mL, béquer de 600 mL e de 250 mL, funil de Büchner, kitasato, filtro TNT, mangueiras, funil de separação de 500 mL com tampa e torneira, suporte universal, aro para funil de separação, tubos para o aparelho Rancimat.

Preparo de soluções

Solução de Cloreto de potássio (KCl) 0,88%

Pesar 0,5 g de cloreto de potássio em papel filtro. Transferir para um béquer de 50 mL e diluir com água destilada. Colocar o cloreto de potássio diluído em um balão volumétrico de 250 mL. Completar 250 mL com água destilada.

Protocolo de elaboração dos extratos

Folhas de oliveira

- As folhas são coletadas, lavadas e higienizadas, permanecendo em bandejas para secagem ao ar por, aproximadamente, 6 dias. Após

essa secagem, as folhas são trituradas em moinho de bancada.

- Para cada 50 gramas de folha triturada, é adicionado um volume total de 1.000 mL do solvente extrator (álcool de cereais), da seguinte forma:
- 50 g de folhas adicionadas de 250 mL de solvente, permanecendo no shaker por uma hora. Após esse tempo, a amostra é filtrada a vácuo, sendo o sobrenadante reservado em frasco âmbar.
- No mesmo pellet anterior, são adicionados mais 250 mL do solvente extrator, colocado no shaker novamente por uma hora, feita a filtração e o sobrenadante é ajuntado ao extrato anterior.
- Essa sequência é realizada até completar o volume de 1 litro do solvente extrator.
- Após a combinação de todas as extrações, o extrato é levado ao rotaevaporador para concentração.
- Ao final do processo, são obtidos 50 mL de extrato concentrado.

Frutos de araçá vermelho

- Os araçás são colhidos, lavados, higienizados e picados.
- Para cada 1.000 gramas de araçás picados, são adicionados um volu-

me total de 1.000 mL do solvente extrator (álcool de cereais), da seguinte forma:

- 250 g de araçás adicionadas de 250 mL de solvente, permanecendo no shaker por uma hora. Após esse tempo, a amostra é filtrada a vácuo, sendo o sobrenadante reservado em frasco âmbar.
- No mesmo pellet anterior, são adicionados mais 250 mL do solvente extrator, colocado no shaker novamente por uma hora, feita a filtração e o sobrenadante é ajuntado ao extrato anterior.
- Essa sequência é realizada até completar o volume de 1 litro do solvente extrator
- Após a combinação de todas as extrações, o extrato é levado ao rotaevaporador para concentração.
- Ao final do processo, são obtidos 100 mL de extrato concentrado.

Protocolo do método Bligh & Dyer (1959, adequado por Feltes et al., 2016) de extração da gordura de tecido animal (ovino), adaptado por Ferri e Krolow

- Triturar a amostra em multiprocessador de alimentos.
- Pesar 50 g da amostra em balança analítica em bequer de 1.000 mL.
- Adicionar 50 mL de clorofórmio, 100 mL de metanol e 80 mL de água destilada (proporção de 1:2:0,8; respectivamente).
- Agitar com turrax por 4 minutos e mais 4 minutos com mixer de alimentos.
- Filtrar a amostra com a mistura clorofórmio+metano+água em sistema de filtração a vácuo, acoplando o funil de Büchner ao kitasato, usando TNT como papel filtro
- Após essa filtração, transferir o resíduo do TNT para béquer de 250 mL, adicional 50 mL de clorofórmio e agitar novamente por 4 minutos com mixer de alimentos.
- Filtrar novamente em sistema a vácuo, juntar os dois filtrados líquidos e transferir para o funil de separação.

- Adicionar 50 mL de KCl 88% ao filtrado no funil de separação, tampar o funil e agitar suavemente a mistura para homogeneizar, tomando o cuidado de manter a torneira voltada para cima e aberta para eliminar os gases formados.
- Manter o funil de separação sob refrigeração por 2 horas.
- Após esse período, retirar da refrigeração, colocar o funil no suporte universal e filtrar a parte orgânica (na parte líquida inferior presente no funil de separação).
- Transferir a parte orgânica para um balão de fundo redondo e acoplá-lo ao rotaevaporador rotativo a vácuo.
- Evaporar o solvente orgânico da amostra em banho a 45 °C e pressão do vácuo de 600 mmHg.
- Quando evaporar todo o solvente, retirar a gordura do balão de fundo redondo transferindo para um tubo de Falcon com tampa.
- Conservar sob refrigeração até o momento da adição dos extração.

Protocolo de adição dos extratos às gorduras ovinas

- Pesar 1,0 % de extratos de araçá

e de folhas de oliveira em béquer, usando balança semianalítica de três dígitos.

- Sobre essa pesagem dos extratos, acrescentar 10 gramas de gordura ovina previamente extraída pelo método Bligh & Dyer (conforme descrito acima).
- Realizar a homogeneização das amostras e levar ao Rancimat.

balões próprios do equipamento, tomando o cuidado para a amostra não escorrer ou ter contato com as paredes do tubo, pois isso afeta o resultado, independentemente de se fazer limpeza nas paredes internas com papel absorvente.

- Acoplar os tubos ao equipamento conforme pode ser observado nas Figuras 1 e 2.

Protocolo para análise em Rancimat

- Pesar 4 gramas da mistura de gordura+extratos homogeneizados em

Resultados e discussão

Dados obtidos pelo uso dessa metodologia, nas condições em que as atividades foram executadas, são apresentados a seguir (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Extratos vegetais: concentração de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante total nos extratos vegetais. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2021.

MATERIAL VEGETAL UTILIZADO	Compostos fenólicos totais		Atividade antioxidante total	
	mg/100 g amostra	mg/mL extrato	µg/g amostra	µg/mL extrato
Folhas de oliveira	1957	9	342	160
Frutas de araçá vermelho*	559	5 (10x)	1771	1610 (10x)

* Observação: O extrato do araçá vermelho está 10x mais concentrado do que o extrato das folhas de oliveira.

Tabela 2. Rancimat – estabilidade oxidativa: tempo de estabilidade oxidativa em gordura ovina (GbO), Hidroxitolueno Butilado (BHT), gordura + extrato de araçá (G+EA), gordura + extrato de folha da espinheira-santa (G+EFES) e gordura + extrato de folha de oliveira (G+EFO). Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, 2021.

AMOSTRAS	Tempo (horas)*
GbO (testemunha)	0,17
BHT (padrão antioxidante em carnes)	6,45
G+ EA	0,23
G+ EFO	5,04

*média das repetições

Padrões usados para análise no Rancimat: temperatura: 110 °C; Delta T: 0,90 °C; fluxo de gás: 9 L/h.

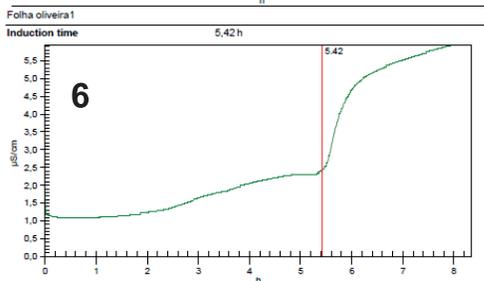
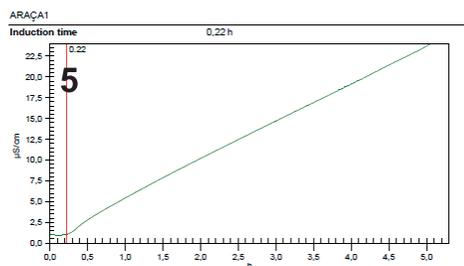
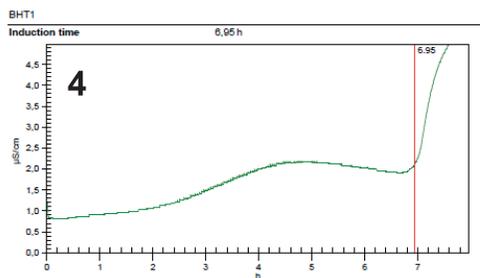
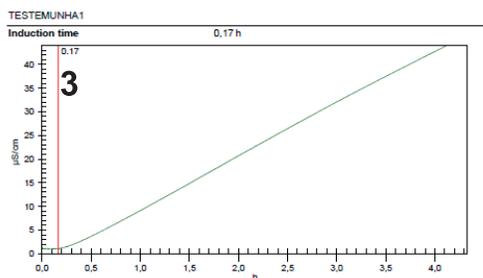
Esses resultados mostram que, apesar do extrato de araçá vermelho apresentar maior atividade antioxidante total, por estar 10 vezes mais concentrado do que o extrato das folhas de oliveira, apresentou ser menos efetivo na estabilidade oxidativa de gordura ovina.

Pode-se inferir que os compostos fenólicos totais das folhas de oliveiras foram os principais responsáveis pelo aumento da estabilidade oxidativa.

O extrato de folha da oliveira apresentou resultados mais próximos do

BHT, que é um antioxidante sintético muito usado na indústria de carnes. Portanto, esse extrato poderá exercer sua função como um bom antioxidante natural em carnes.

Abaixo são apresentados os gráficos emitidos pelo equipamento Rancimat relativos aos tempos de estabilidade oxidativa da gordura ovina (testemunha), Hidroxitolueno Butilado (padrão de antioxidante para carnes), extratos de araçá e de folha de oliveira (como antioxidantes naturais), nas Figuras 3, 4, 5 e 6, respectivamente.



Considerações finais

O extrato de araçá vermelho é menos eficiente no processo oxidativo de gordura ovina, em comparação com o extrato de folhas de oliveira.

Apesar dos resultados favoráveis obtidos no processo, o extrato de folhas

de oliveira somente poderá ser validado quando usado nos derivados carnes ovinos, pois outros fatores poderão interferir sobre a estabilidade oxidativa da gordura ovina.

Referências

FELLENBERG, M. A.; SPEISKY, H. Antioxidants: their effects on broiler oxidative stress and its meat oxidative stability.

World's Poultry Science Journal, v. 62, n. 1, p. 53-70, Mar. 2006.

FELTES, M. M. C.; ROSA, A. D.; DORS, G. C.; GONÇALVES, L.; GONZALEZ, S. L. (org.). **Procedimentos operacionais padronizados de bromatologia de alimentos**. 1. ed. Blumenau: Instituto Federal Catarinense, 2016. 172 p.

SENEGALHE, F. B. D.; BURIN, P. C.; FUZIKAWA, I. H. de S.; PENHA, D. dos S.; LEONARDO, A. P. Ácidos graxos na carne e gordura ovina. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, p. 80-101, 2014.

Embrapa Clima Temperado

BR 392 km 78 - Caixa Postal 403
CEP 96010-971, Pelotas, RS
Fone: (53) 3275-8100
www.embrapa.br/clima-temperado
www.embrapa.br/fale-conosco

1ª edição

Obra digitalizada (2021)

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Clima Temperado

Presidente

Luis Antônio Suita de Castro

Vice-Presidente

Walkyria Bueno Scivittaro

Secretária-Executiva

Bárbara Chevallier Cosenza

Membros

*Ana Luiza B. Viegas, Fernando Jackson,
Marilaine Schaun Peluffé, Sonia Desimon*

Revisão de texto

Bárbara Chevallier Cosenza

Normalização bibliográfica

Graciela Oliveira

Editoração eletrônica

Fernando Jackson

Foto da capa

Ana Cristina Krolow



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO

