



Avaliação da estabilidade lipídica do ovo atomizado adicionado da mistura otimizada de antioxidantes e mantido sob diferentes temperaturas de estocagem[#]

Evaluation of lipid stability of atomized egg added the optimized blend of antioxidants and kept under different temperatures

Michelle Garcêz de Carvalho¹; Alfredo Tenuta Filho²; Felipe Rabello Lourenço³; Terezinha de Jesus Andreoli Pinto⁴; Luciene Fagundes Lauer Macedo⁵

Resumo: A atomização pode afetar a estabilidade lipídica do ovo, resultando em modificações químicas indesejáveis como a oxidação lipídica e o escurecimento não-enzimático. Dessa forma, a prevenção ou redução da oxidação lipídica do ovo pode ser realizada com uso de antioxidantes e condições adequadas de embalagem e estocagem. O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito da mistura otimizada de antioxidantes (alecrim, chá verde e BHA) sobre a estabilidade lipídica do ovo integral pasteurizado atomizado, estocado sob as temperaturas de 5°C e 25°C, por 90 dias. Por meio de teste de concentração de antioxidantes, usando a metodologia de superfície de resposta, foi adicionada a mistura otimizada de antioxidantes (150ppm de BHA, 600ppm de alecrim e 300ppm de chá verde) ao ovo líquido integral pasteurizado, antes da atomização. O produto atomizado foi estocado em frasco de polietileno de alta densidade, opaco, sob atmosfera de nitrogênio, a 5±2°C e 25±2°C, e analisado (umidade, capacidade antioxidante total da fração lipídica, substâncias absorvidas a 233nm e óxidos de colesterol livres) após 1, 30, 60 e 90 dias. O efeito protetor da mistura dos antioxidantes ao ovo integral pasteurizado mantido por 90 dias, a 5°C, afetou somente a formação das substâncias absorvidas a 233nm. Enquanto que a 25°C, somente a umidade não foi afetada. A estabilidade lipídica foi melhor quando o ovo atomizado foi estocado a 5°C do que a 25°C.

Palavras-Chave: Ovo atomizado, antioxidantes e estocagem

Abstract: The atomization can affect the stability of the lipid egg, resulting in undesirable chemical changes to lipid oxidation and non-enzymatic browning. Thus, the prevention or reduction of egg lipid oxidation may be performed with use of antioxidants and suitable packaging and storage conditions. The objective of this study was to investigate the effect of optimized blend of antioxidants (rosemary, green tea and BHA) on lipid stability of pasteurized egg atomized, stored at temperatures of 5°C and 25°C for 90 days. Through antioxidant concentration test using response surface methodology was added optimized mixture of antioxidants (BHA 150ppm, 600ppm and 300ppm rosemary green tea) the pasteurized liquid egg prior to atomization. The atomized product was stored in high density polyethylene, opaque, in a nitrogen atmosphere, at 5 ± 2°C and 25±2°C, and analyzed (moisture, total antioxidant capacity of the lipid fraction, substances absorbed the 233nm and oxides of free cholesterol) after 1, 30, 60 and 90 days. The protective effect of the mixture of antioxidants in the pasteurized egg kept for 90 days at 5°C, only affected the formation of absorbable substances 233nm. While at 25°C, the humidity was not affected. Lipid stability was better atomized egg was stored at 5°C than at 25°C.

Keywords: Egg atomized, antioxidants and storage

Autor para correspondência: E.Mail: michellegarcezpi@hotmail.com

Recebido em 10.07.2007. Aceito em 30.12.2017

[#]Trabalho proveniente de tese de doutorado do autor

¹ Colaboração realizada pela Universidade de São Paulo. Departamento de Ciências Farmacêuticas, campus São Paulo. Apoio da FAPESP, CNPq e DANISCO. Autor para correspondência. E.Mail: *michellegarcezpi@hotmail.com

^{1*} Professora Doutora da Universidade Federal de Sergipe - michellegarcezpi@hotmail.com

² Doutor em Ciência de Alimentos. Laboratório de Química e Bioquímica de produtos de origem animal - Universidade de São Paulo – eetenuta@usp.br

^{3,4} Doutores em Fármaco e Medicamentos - Laboratório de Controle Biológico - Universidade de São Paulo – feliperl@usp.br; tjapinto@usp.br.

⁵ Mestre em Ciência de Alimento - Laboratório de Análise de Alimentos - Universidade de São Paulo –lulauer@usp.com.br

<http://dx.doi.org/>

Introdução

O ovo atomizado é amplamente usado na preparação de alimentos por causa de sua segurança microbiológica e reduzido volume no que se refere ao produto com casca ou líquido (BERGQUIST, 1995), conseqüentemente, a atomização estende a sua vida de prateleira para 6 meses a 1 ano, não necessitando ser refrigerado (MEDINA, 2009).

A atomização está baseada em quatro fases: atomização do líquido; transferência de calor por contato direto entre o líquido atomizado e o ar quente; evaporação da água; e, separação do produto em pó (LANNES, 2003; FELLOWS, 2006).

A segurança e a qualidade do ovo atomizado dependem da qualidade da matéria-prima, do processo de secagem, das condições de transporte e estocagem (GALOBART et al., 2002; CABONI et al., 2005). Os ácidos graxos presentes no ovo fresco não são

facilmente oxidados (PIKE; PENG, 1985), permanecendo inalterados durante a estocagem (MARSHALL; SAMS; VAN ELSWYK, 1994; CHERIAN; WOLFE; SIM, 1996). Esta estabilidade pode ser atribuída aos antioxidantes naturais presentes, como os tocoferóis e carotenóides, e à estrutura das lipoproteínas de baixa densidade da gema (PIKE; PENG, 1985; TERNES; LEITSCH, 1996; WENZEL; SEUSS-BAUM.; SCHLICH, 2010). Fosfolípidos e proteínas entrelaçadas na estrutura externa da gema de ovo, previnem a interação do oxigênio com núcleo da partícula de lipídio (PIKE; PENG, 1985; CABONI et al., 2005). Entretanto, a oxidação é facilitada durante o processamento do ovo, especialmente quando envolve tratamento em altas temperaturas, como na atomização (Mazalli; Bragagnolo, 2007), resultando na ocorrência de modificações químicas como a oxidação

lipídica (ácidos graxos e colesterol) e o escurecimento não-enzimático (reação de Maillard), com formação de compostos indesejáveis, como dialdeído malônico, óxidos de colesterol e produtos da reação de Maillard (WAHLE; HOPPE; MCINTOSH, 1993; CABONI et al., 2005; MAZALLI; BRAGAGNOLO, 2007).

A prevenção da oxidação de ácidos graxos pelo uso de antioxidantes é frequentemente utilizada na indústria de alimentos (Galobart; Barroeta; Baucells, 2001; Bertolin et al., 2010; Bertolin et al., 2011), como isso, mantêm mais estável a composição nutricional, as características sensoriais e reduz ou previne a formação de compostos tóxicos [KUBOW, 1990; CHOW, 1992). Diversas pesquisas têm sido realizadas no intuito de serem encontrados produtos naturais com atividade antioxidante, para substituir os antioxidantes sintéticos ou fazer associação entre eles, diminuindo a quantidade desses últimos nos alimentos (ESTEVEZ et al., 2007; FASSEAS et al., 2007; MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007).

Extratos obtidos de fontes naturais, como o alecrim (Georgantelis et al., 2007; Afonso; Santana; Mancini-

Filho, 2010) chá verde (Perumalla, A.V.S.; Navam, 2011), provaram possuir forte atividade antioxidante, devido ao elevado teor de compostos fenólicos. Esses extratos são de uso permitido em alimentos e substitutos potenciais de antioxidantes sintéticos (Ahn; Gru; Mustapha, 2007), devido à semelhante de sua atividade antioxidante (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007; ANGELO, P.M.; JORGE, 2007; TRINDADE; MANCINI-FILHO; VILLAVICENCIO, 2010).

Portanto o objetivo deste estudo foi investigar o efeito da mistura otimizada de extrato de alecrim, extrato de chá verde e BHA sobre a estabilidade lipídica do ovo integral pasteurizado atomizado, estocado por 90 dias a 5°C e 25°C.

Material e Métodos

Reagentes e Amostras

Os reagentes utilizados tinham grau analítico compatível e antioxidantes naturais da Danisco como o Extrato de chá Verde - GuardianTM Green Tea Extract 20M e Extrato de alecrim - GuardianTM Rosemary Extract 08.

As amostras de ovo *in natura* (em casca) recém-produzido (3 dias)

foram adquiridas em supermercados na cidade de São Paulo-SP. Foram ensaiadas amostras em triplicata (n = 3) compreendendo 12 ovos/amostra, isentos de casca, as quais ficaram estocadas na própria embalagem comercial, mantidas em temperatura ambiente (25°C±2) até o início dos experimentos (até 2 dias). O prazo de estocagem correspondeu ao de validade de 30 dias indicado pelo fabricante.

Obtenção do ovo líquido integral, ovo líquido integral pasteurizado e ovo líquido integral pasteurizado atomizado

O ovo líquido integral e ovo líquido integral pasteurizado foram obtidos de acordo com a metodologia adotada por Escarabajal (2011). O ovo líquido integral pasteurizado resfriado obtido anteriormente foi adicionado de três partes de água destilada, misturado com auxílio de u bastão de vidro e então submetido à atomização em escala de laboratório (Buchi Mini Spray Dryer B-290), nas seguintes condições empregadas: temperatura de entrada de 170°C; temperatura de saída de 63°C; vazão de alimentação, de 15mL/min.; fluxo do atomizador, de 439L/h; e, tempo de operação de 1h/L (ESCARABAJAL, 2011; CARVALHO, 2012).

Adição da mistura otimizada de antioxidantes (extrato de alecrim, extrato de chá verde e BHA) ao ovo

Por meio de teste de concentração de antioxidantes, usando a metodologia de superfície de resposta (RSM), foram adicionados antioxidantes (Extrato de alecrim, Extrato de Chá Verde e BHA) em diferentes concentrações ao ovo líquido integral pasteurizado, antes da atomização (CARVALHO, 2012). Adotou-se um delineamento experimental completo do tipo 2³, com 2 replicatas no ponto central, totalizando 11 ensaios independentes (MONTGOMERY, 2000). Todos os ensaios foram realizados em triplicata. A concentração em ppm dos antioxidantes adicionados ao ovo líquido integral pasteurizado baseou-se na concentração de lipídios totais do ovo líquido integral. O produto atomizado obtido foi mantido a 5±2°C até à realização das análises (até 2 dias). Posteriormente, a concentração da mistura de antioxidantes foi otimizada (DERRINGER; SUICH, 1980).

Estocagem do ovo líquido integral pasteurizado atomizado

Uma vez conhecidas as concentrações ótimas dos antioxidantes,

os mesmos foram adicionados ao ovo líquido integral pasteurizado antes da atomização. O produto atomizado foi estocado em frasco de polietileno de alta densidade, opaco, sob atmosfera de nitrogênio, a $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, e analisado após 1, 30, 60 e 90 dias.

A atmosfera desejada (inerte) foi viabilizada pelo deslocamento do ar interno da embalagem, por jato de nitrogênio, com imediato rosqueamento da tampa do frasco.

Quantificações analíticas

Umidade

Determinada após a secagem da amostra em estufa (Fabbe - Primar) a 105°C , até peso constante em balança analítica (BG 400 Gehaka) (BRASIL, 2005).

Lipídios totais

Feito por gravimetria, após a extração com clorofórmio/metanol (2:1, v/v) (FOLCH.; LEES; STANLEY, 1957), adaptado por Csallany (1989), com adição de NaCl 0,88%, no caso do ovo líquido, com posterior eliminação do solvente (32°C , sob vácuo) em rotaevaporador (TECNAL) e aquecimento em estufa a $105^{\circ}\text{C}/40$ minutos.

Avaliação da capacidade antioxidante total da fração lipídica pelo método do fosfomolibdênio

O procedimento analítico foi realizado com base em Mohamed, Pineda, Aguilar (2007), Pietro, Pineda, Aguilar (1999) e Carvalho (2012). Os resultados foram expressos em equivalentes em mg de α -tocoferol/g.

Quantificação das substâncias absorvidas a 233nm (AS-233)

Para a quantificação das substâncias absorvidas a 233nm, a extração lipídica seguiu o que foi indicado por Folch, Lees, Stanley (1957). A extração das AS-233 foi segundo Penazzi et al. (1995) e a detecção realizada em espectrofotômetro de UV-visível 1800 (SHIMADZU) a 233nm. Os resultados foram expressos em equivalente em μg 7-cetocolesterol/ mg lipídio.

Quantificação dos óxidos de colesterol livres

Os óxidos de colesterol analisados foram o 7-cetocolesterol (7-CETO), 7α - hidroxicoolesterol (7α -OH) e 7β -hidroxicoolesterol (7β -OH), na forma livre. Para a quantificação desses óxidos, primeiro realizou-se a extração lipídica segundo Folch, Lees e Stanley (1957) e, em seguida procedeu-se a

extração dos óxidos de colesterol livres segundo Penazzi et al. (1995) e a detecção realizada por CLAE em cromatógrafo com detector de arranjo de fotodiodos (UV-VIS) (SHIMADZU, modelo LC-10ADVP). O monitoramento se deu a 206nm, para o 7 α -OH e 7 β -OH, e a 233nm, para o 7-ceto (CSALLANY, et al., 1989; KITAHARA, 2004; CARVALHO, 2012).

Análise estatística

Empregou-se a metodologia de superfície de resposta (RSM), para avaliar o efeito combinado das variáveis independentes sobre as variáveis dependentes, calcular os coeficientes de regressão (R^2) e otimizar a concentração da mistura de antioxidantes (DERRINGER; SUICH, 1980). Com auxílio do software SAS (1997), os dados referentes aos diferentes tempos de estocagem foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas, para verificar a homogeneidade das médias. As médias que se apresentaram homogêneas ($p>0,05$) foram submetidas ao teste de Tukey. Os valores-p foram considerados significativos quando menores que 0,05.

Resultados e discussão

No presente estudo, para verificar os efeitos da adição de antioxidantes e das condições de estocagem sobre a estabilidade lipídica do ovo integral pasteurizado atomizado, ao ovo integral pasteurizado foi adicionado à mistura dos antioxidantes alecrim, chá verde e BHA, nas concentrações otimizadas de 600, 300 e 150ppm, respectivamente, antes da atomização. Em seguida, o produto foi mantido em embalagem plástica impermeável ao oxigênio, sob atmosfera de nitrogênio, ao abrigo da luz e nas temperaturas de $5\pm 2^\circ\text{C}$ e $25\pm 2^\circ\text{C}$, por até 90 dias, e avaliado quanto à umidade, capacidade antioxidante total da fração lipídica (CATL), substâncias absorvidas a 233nm (AS-233) e 7-cetocolesterol (7-ceto) (Tabelas 1, 2, 3 e 4). Os óxidos de colesterol 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH), incluídos na investigação, não puderam ser quantificados por estarem abaixo dos limites de quantificação correspondentes.

Na Tabela 1 encontram-se os resultados da Umidade (U), capacidade antioxidante total da fração

lipídica (CATL), substâncias absorvidas a 233nm (AS-233) e 7-cetocolesterol (7-CETO) do ovo integral pasteurizado atomizado sem antioxidantes (controle) e com a

mistura de antioxidantes otimizada (AA), estocado por até 90 dias a $5\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Tabela 1. Umidade (U), capacidade antioxidante total da fração lipídica (CATL), substâncias absorvidas a 233nm (AS-233) e 7-cetocolesterol (7-CETO) do ovo integral pasteurizado atomizado sem antioxidantes (controle) e com a mistura de antioxidantes otimizada (AA), estocado por até 90 dias a $5\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Amostras	Dia	U	CATL	AS-233	7-CETO
Controle 5°C	1	2,93 ^b ±0,17	2,29 ^{ab} ±0,10	3,57 ^a ±0,37	0,0212 ^{ab} ±0,0002
AA 5°C	1	3,01 ^b ±0,27	1,92 ^b ±0,27	1,77 ^b ±0,21	0,033 ^a ±0,0006
Controle 5°C	30	2,89 ^b ±0,27	2,38 ^{ab} ±0,49	3,38 ^a ±0,57	0,0259 ^{ab} ±0,0085
AA 5°C	30	2,18 ^b ±0,10	2,31 ^{ab} ±0,17	1,23 ^b ±0,14	0,0200 ^{ab} ±0,0005
Controle 5°C	60	3,19 ^b ±0,27	2,40 ^{ab} ±0,05	1,31 ^b ±0,14	0,0198 ^{ab} ±0,0004
AA 5°C	60	2,08 ^{bc} ±0,48	2,15 ^b ±0,17	1,43 ^b ±0,13	0,0190 ^{ab} ±0,0010
Controle 5°C	90	4,08 ^{ab} ±0,16	1,88 ^b ±0,08	1,36 ^b ±0,17	0,0163 ^b ±0,0003
AA 5°C	90	2,93 ^b ±0,11	2,91 ^{ab} ±0,13	1,41 ^b ±0,25	0,0158 ^b ±0,0009
p-valor*		0,85	0,10	0,39	<0,001
p-valor [#]		<0,001	0,001	<0,001	0,001

Resultados médios (n=3)±desvio-padrão expressos em base seca. U: g de umidade/100g; CATL: equivalente em mg de α -tocoferol/ g; AS-233: equivalente em μg 7-cetocolesterol/ mg lipídio; 7-CETO: μg 7-cetocolesterol/ mg lipídio. Letras diferentes na mesma coluna representam resultados estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey. *Valor-p para teste de homogeneidade de variâncias de Hartley (F-max); #Valor-p para a análise de variância univariada ou teste de Kruskal-Wallis.

Como verificado na Tabela 1 a adição de antioxidantes exerceu efeito somente sobre AS-233, que foram reduzidas após 1 e 30 dias de estocagem a 5°C. As condições de atomização em escala industrial exercem efeito sobre a oxidação do colesterol (0,084 μg 7-

cetocolesterol/ mg lipídio) (MORALES-AIZPURÚA; TENUTA-FILHO, 2002) se comparado com o obtido neste estudo em ovo atomizado em escala laboratorial (0,0212 μg 7-cetocolesterol/ mg lipídio) (Tabela 1). Além disso, é importante considerar,

que as características do alimento e as interações entre seus componentes e produtos de decomposição, durante o processamento e/ou estocagem, definem o perfil dos óxidos formados e as quantidades correspondentes (MAERKER, 1987).

Na Tabela 2, encontram-se os resultados da Umidade (U), capacidade antioxidante total da fração lipídica (CATL), substâncias absorvidas a

233nm (AS-233) e 7-cetocolesterol (7-CETO) do ovo integral pasteurizado atomizado sem antioxidantes (controle) e com a mistura de antioxidantes otimizada (AA), estocado por até 90 dias a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$. A CATL a 25°C Na Tabela 2, teve seu nível rebaixado no 60° dia e aumentado no 90° dia, sem razão aparente, além disso, houve diminuição das AS-233 após 1 dia e, do 7-ceto após 30 e 60 dias.

Tabela 2. Umidade (U), capacidade antioxidante total da fração lipídica (CATL), substâncias absorvidas a 233nm (AS-233) e 7-cetocolesterol (7-CETO) do ovo integral pasteurizado atomizado sem antioxidantes (controle) e com a mistura de antioxidantes otimizada (AA), estocado por até 90 dias a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Amostras	Dia	U	CATL	AS-233	7-CETO
Controle 25°C	1	$2,93^{\text{c}}\pm 0,17$	$2,55^{\text{abc}}\pm 0,29$	$3,86^{\text{a}}\pm 0,45$	$0,0198^{\text{d}}\pm 0,0002$
AA 25°C	1	$3,01^{\text{bc}}\pm 0,27$	$1,82^{\text{cd}}\pm 0,33$	$1,67^{\text{bc}}\pm 0,13$	$0,0332^{\text{a}}\pm 0,0005$
Controle 25°C	30	$2,89^{\text{c}}\pm 0,32$	$2,74^{\text{ab}}\pm 0,20$	$1,39^{\text{bcd}}\pm 0,23$	$0,0236^{\text{c}}\pm 0,0004$
AA 25°C	30	$3,33^{\text{bc}}\pm 0,19$	$2,85^{\text{ab}}\pm 0,13$	$0,77^{\text{d}}\pm 0,009$	$0,0213^{\text{d}}\pm 0,0007$
Controle 25°C	60	$2,91^{\text{bc}}\pm 0,23$	$2,56^{\text{ab}}\pm 0,19$	$0,92^{\text{cd}}\pm 0,25$	$0,0305^{\text{b}}\pm 0,0067$
AA 25°C	60	$2,79^{\text{c}}\pm 0,04$	$1,65^{\text{d}}\pm 0,19$	$1,59^{\text{bc}}\pm 0,01$	$0,0216^{\text{cd}}\pm 0,0002$
Controle 25°C	90	$3,95^{\text{abc}}\pm 0,15$	$2,27^{\text{bcd}}\pm 0,33$	$1,63^{\text{bc}}\pm 0,10$	$0,0235^{\text{cd}}\pm 0,0033$
AA 25°C	90	$3,48^{\text{abc}}\pm 0,04$	$2,91^{\text{a}}\pm 0,42$	$1,90^{\text{b}}\pm 0,37$	$0,0195^{\text{d}}\pm 0,0010$
p-valor*		0,50	0,51	0,05	0,30
p-valor#		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Resultados médios ($n=3$) \pm desvio-padrão expressos em base seca. U: g de umidade/100g; CATL: equivalente em mg de α -tocoferol/ g; AS-233: equivalente em μg 7-cetocolesterol/ mg lipídio; 7-CETO: μg 7-cetocolesterol/ mg lipídio. Letras diferentes na mesma coluna representam resultados estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey. * Valor-p para teste de homogeneidade de variâncias de Hartley (F-max); # Valor-p para análise de variância univariada ou teste de Kruskal-Wallis.

A redução observada das AS-233 após 1° dia e 7-ceto após 30 e 60 dias (Tabela 2) pode ter associação com o efeito dos antioxidantes e da provável

transformação em outros óxidos de colesterol não quantificados nas condições analíticas estabelecidas (ANGELO, 1992; KITAHARA, 2004; HUR; PARK; JOO, 2007). Estudo realizado por Kitahara (2004) revelou que o ovo atomizado e liofilizado estocados por 180 dias, a 28°C, resultou no progresso da oxidação do colesterol (22,80 a 109,1 µg óxidos/g).

Na Tabela 3, O aumento da umidade (134,81 a 139%) nos 90 dias de estocagem, independentemente da

temperatura poderia significar maior atividade de água ((ANGELO, 1992) e esta afetar as reações envolvendo a CATL, AS-233 e 7-CETO. No presente caso, o incremento da umidade poderia ter sido consequência da manipulação inadequada das amostras e/ou fechamento inadequado da embalagem. Houve aumento da umidade após 90 dias de estocagem, independentemente da temperatura, mas sem reflexo aparente sobre os demais indicadores analisados (Tabela 3).

Tabela 3. Umidade (U), capacidade antioxidante total da fração lipídica (CATL), substâncias absorvidas a 233nm (AS-233) e 7-cetocolesterol (7-CETO) do ovo integral pasteurizado atomizado sem antioxidantes (controle) estocado por 90 dias a 5±2 e a 25±2°C.

Amostras	Dia	U	CATL	AS-233	7-CETO
Controle 5°C	1	2,93 ^b ±0,17	2,29 ^{ab} ±0,10	3,57 ^a ±0,37	0,0212 ^{ab} ±0,0002
Controle 25°C	1	2,93 ^b ±0,17	2,55 ^{ab} ±0,29	3,86 ^a ±0,45	0,0198 ^{ab} ±0,0002
Controle 5°C	30	2,89 ^b ±0,27	2,38 ^{ab} ±0,49	3,38 ^a ±0,57	0,0259 ^{ab} ±0,0085
Controle 25°C	30	2,89 ^b ±0,32	2,74 ^a ±0,20	1,39 ^b ±0,23	0,0236 ^{ab} ±0,0004
Controle 5°C	60	3,19 ^b ±0,27	2,40 ^{ab} ±0,05	1,31 ^b ±0,14	0,0198 ^{ab} ±0,0004
Controle 25°C	60	2,91 ^b ±0,23	2,56 ^{ab} ±0,19	0,92 ^b ±0,25	0,0305 ^a ±0,0067
Controle 5°C	90	4,08 ^a ±0,16	1,88 ^b ±0,08	1,36 ^b ±0,17	0,0163 ^{bc} ±0,0003
Controle 25°C	90	3,95 ^a ±0,15	2,27 ^{ab} ±0,33	1,63 ^b ±0,10	0,0235 ^{ab} ±0,0033
p-valor*		0,98	0,09	0,34	<0,001
p-valor#		<0,001	0,03	<0,001	0,03

Resultados médios (n=3)±desvio-padrão expressos em base seca. U: g de umidade/100g; CATL: equivalente em mg de α-tocoferol/ g; AS-233: equivalente em µg 7-cetocolesterol/ mg lipídio; 7-CETO: µg 7-cetocolesterol/ mg lipídio. Letras diferentes na mesma coluna representam resultados estatisticamente diferentes (p< 0,05), de acordo com o teste de Tukey. *Valor-p para teste de homogeneidade de variâncias de Hartley (F-max); #Valor-p para a análise de variância univariada ou teste de Kruskal-Wallis

Na Tabela 4, verificou-se o efeito da adição da mistura de antioxidantes e das condições de estocagem do ovo integral pasteurizado atomizado sobre a estabilidade

oxidativa do colesterol, não foi visualizada correlação (p>0,05) entre as substâncias absorvidas a 233nm e o 7-ceto. Contudo, foi observada correlação linear decrescente do 7-ceto durante os

90 dias de experimento quando estocado a $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ ($r = -0,8892$) e a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ($r = -0,8339$), que pode ser explicado pela possível transformação do 7-ceto em outros compostos (DERRINGER; SUICH, 1980; PENAZZI et al., 1995; KITAHARA,

2004). A CATL e as AS-233, não foram afetadas em relação às temperaturas ensaiadas (5°C e 25°C), no período experimental. Entretanto, após 60 e 90 dias a concentração de 7-ceto foi afetada, sendo menor a 5°C (Tabela 4).

Tabela 4. Umidade (U), capacidade antioxidante total da fração lipídica (CATL), substâncias absorvidas a 233nm (AS-233) e 7-cetocolesterol (7-CETO) do ovo integral pasteurizado atomizado com a mistura de antioxidantes otimizada (AA), estocado por até 90 dias a 5 ± 2 e a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Amostras	Dia	U	CATL	AS-233	7-CETO
AA 5°C	1	$3,01^{bc}\pm 0,27$	$1,92^b\pm 0,27$	$1,77^{ab}\pm 0,21$	$0,033^a\pm 0,0006$
AA 25°C	1	$3,01^{bc}\pm 0,27$	$1,82^b\pm 0,33$	$1,67^{ab}\pm 0,13$	$0,0332^a\pm 0,0005$
AA 5°C	30	$2,18^{bc}\pm 0,10$	$2,31^{ab}\pm 0,17$	$1,23^{bc}\pm 0,14$	$0,0200^{bcd}\pm 0,0005$
AA 25°C	30	$3,33^{ab}\pm 0,19$	$2,85^a\pm 0,13$	$0,77^c\pm 0,009$	$0,0213^{bc}\pm 0,0007$
AA 5°C	60	$2,08^{bc}\pm 0,48$	$2,15^b\pm 0,17$	$1,43^{ab}\pm 0,13$	$0,0190^d\pm 0,0010$
AA 25°C	60	$2,79^{bc}\pm 0,04$	$1,65^b\pm 0,19$	$1,59^{ab}\pm 0,01$	$0,0216^b\pm 0,0002$
AA 5°C	90	$2,93^{bc}\pm 0,11$	$2,91^a\pm 0,13$	$1,41^{ab}\pm 0,25$	$0,0158^e\pm 0,0009$
AA 25°C	90	$3,48^{ab}\pm 0,04$	$2,91^a\pm 0,42$	$1,90^a\pm 0,37$	$0,0195^{cd}\pm 0,0010$
p-valor*		0,36	0,7	0,11	0,73
p-valor#		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Resultados médios ($n=3$) \pm desvio-padrão expressos em base seca. U: g de umidade/100g; CATL: equivalente em mg de α -tocoferol/g; AS-233: μg 7-cetocolesterol/mg lipídio; 7-CETO: μg 7-cetocolesterol/mg lipídio. Letras diferentes na mesma coluna representam resultados estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey. *Valor-p para teste de homogeneidade de variâncias de Hartley (F-max); #Valor-p para a análise de variância univariada ou teste de Kruskal-Wallis.

A literatura indica que a estocagem sob refrigeração (4°C) em embalagens a vácuo e ao abrigo da luz preveniram a oxidação do colesterol e consequentemente a formação de óxidos de colesterol em ovo atomizado

(CABONI et al., 2005; ESCARABAJAL; TENUTA-FILHO, 2005). No presente estudo, ao verificar o efeito da adição da mistura de antioxidantes e das condições de estocagem do ovo integral pasteurizado

atomizado sobre a estabilidade oxidativa do colesterol, não foi visualizada correlação ($p > 0,05$) entre as substâncias absorvidas a 233nm e o 7-ceto. Contudo, foi observada correlação linear decrescente do 7-ceto durante os 90 dias de experimento quando estocado a $5 \pm 2^\circ\text{C}$ ($r = -0,8892$) (Figura 1) e a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ($r = -0,8339$) (Figura 2), que pode ser explicado pela possível

transformação do 7-ceto em outros compostos (DERRINGER; SUICH, 1980; PENAZZI et al., 1995; KITAHARA, 2004) e/ou o fato de os antioxidantes usados terem sido eficientes em reduzir a suas concentrações (HUBER; PIKE; HUBER, 1995), poderiam justificar os resultados encontrados.

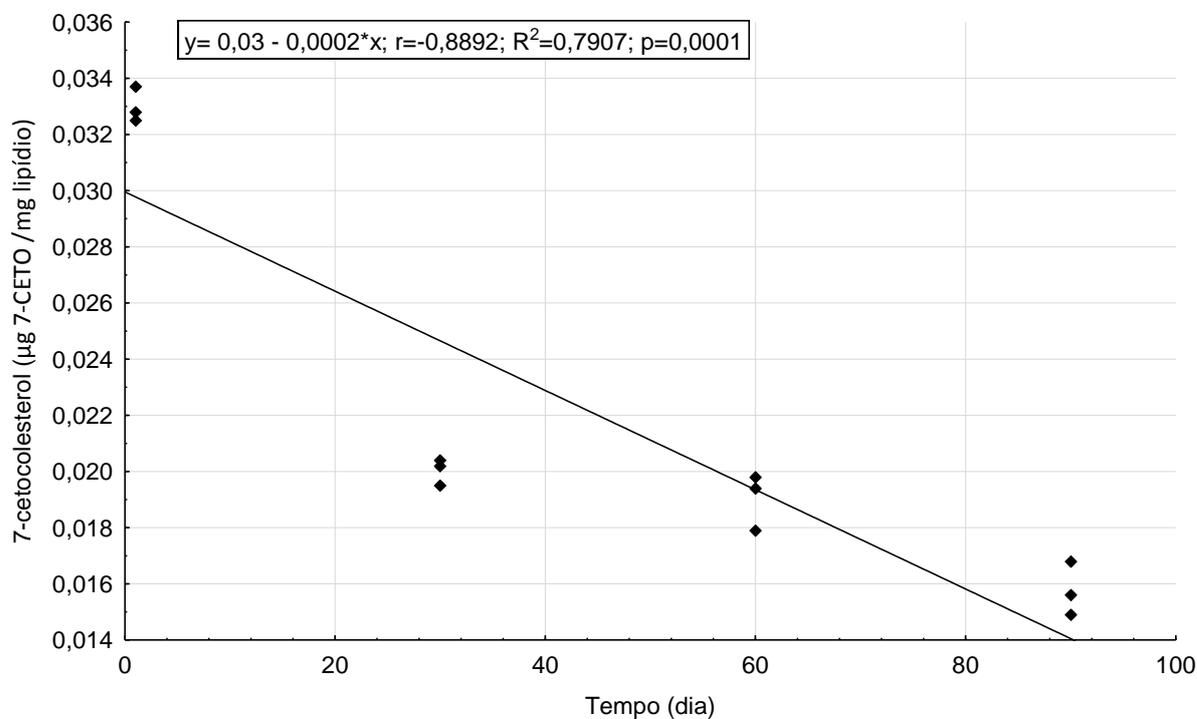


Figura 1. Correlação entre o 7-cetocolesterol (μg 7-CETO/mg lipídio) e o tempo de estocagem, a $5 \pm 2^\circ\text{C}$, do ovo integral pasteurizado atomizado adicionado de antioxidantes.

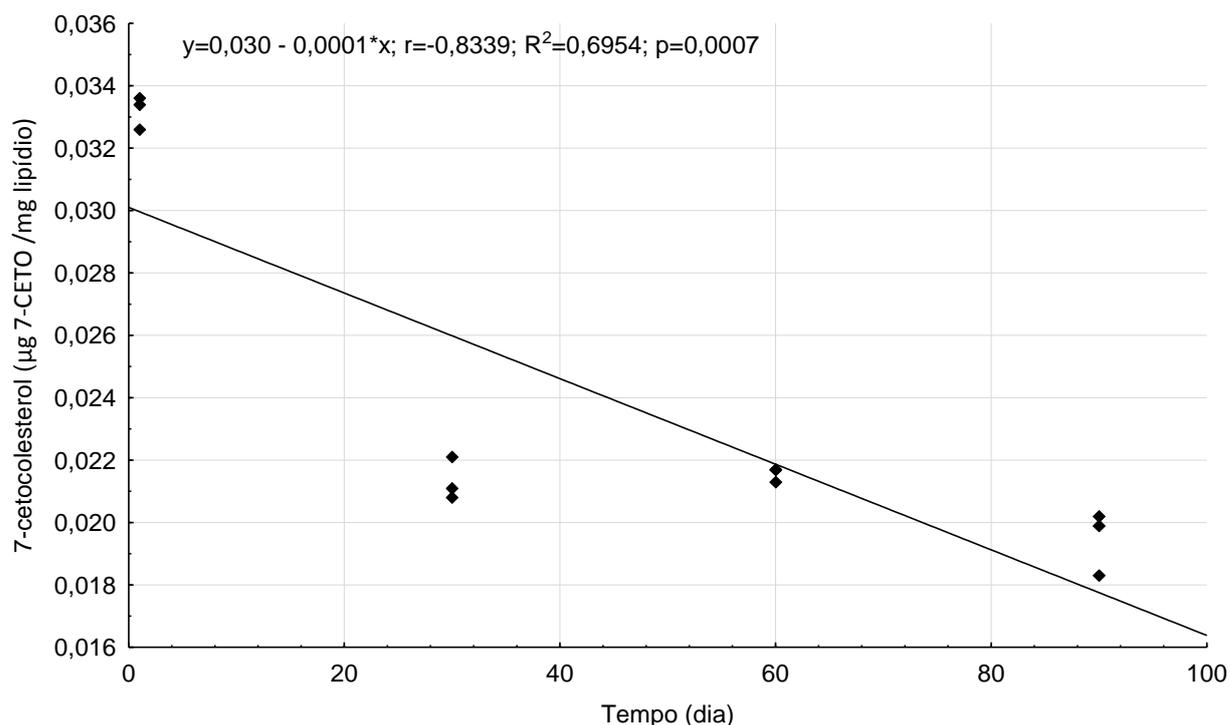


Figura 2. Correlação entre o 7-cetocolesterol (μg 7-CETO/ mg lipídio) e o tempo de estocagem, a $25\pm 2^\circ\text{C}$, do ovo integral pasteurizado atomizado adicionado de antioxidantes

Caboni et al. (2005) ao avaliarem o efeito da atomização e estocagem (4°C e 20°C / 12 meses) sobre a qualidade química do ovo integral, verificaram que a atomização industrial não afetou a composição dos tocoferóis (α -tocoferol e γ -tocoferol), mas provocou a reação de Maillard e aceleração da oxidação do colesterol, aumentando de 24 para $55\mu\text{g}$ a ocorrência de óxidos/g de lipídio. Não houve mudanças significativas nos compostos analisados (tocoferol, retinol, óxidos de colesterol e glicose) quando o ovo atomizado foi estocado a

4°C . Entretanto, a 20°C , ocorreu aumento significativo de óxidos de colesterol, de 63,8 para $167\mu\text{g/g}$ de lipídio, enquanto os tocoferóis permaneceram praticamente inalterados e os retinóis diminuíram de 0,44 para $0,21\text{ mg}/100\text{g}$ de ovo.

Mazalli e Bragagnolo (MAZALLI; BRAGAGNOLO, 2009), visando verificar o efeito do processamento (cozimento e fritura) do ovo estocado a 5°C e 25°C , por 45 dias, relataram que apenas o 7-cetocolesterol foi afetado pela temperatura de estocagem, e a sua concentração foi

maior em ovos mantidos a 25°C.

Lai et al. (1995) não verificaram redução de óxidos de colesterol em ovo integral atomizado, na presença *tert*-butil hidroquinona (TBHQ) e óleo resina de alecrim, cuja ineficiência foi atribuída à uma provável volatilização e subsequente perda durante a atomização. Enquanto, Guardiola et al. (1997) adicionando ao ovo líquido integral uma mistura de palmitato de ascorbila com α -tocoferol e galato de propila antes da atomização, concluíram que a combinação do palmitato de ascorbila com o α -tocoferol resultou num ligeiro efeito pró-oxidante, ao passo que o galato de propila preveniu a perda de ácidos graxos poli-insaturados, a formação de óxidos de colesterol e a redução da cor, associada à oxidação de carotenóides.

A adição de extrato de tocoferóis ao ovo atomizado não evitou o aumento das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e dos ácidos graxos livres, ou a redução dos carotenóides totais, ao longo de 90 dias de estocagem, à temperatura ambiente. Contudo, os tocoferóis reduziram a formação de óxidos de colesterol, demonstrando melhoria significativa do

produto final (MEDINA, 2009). Ao acrescentar extratos comerciais de alecrim e de tocoferóis, ao ovo integral pasteurizado antes da atomização, também obtido em laboratório, Escarabajal (2011) concluiu que ambos não foram efetivos na prevenção da oxidação do colesterol que inicialmente (dia 0) o 7-cetocolesterol ($\mu\text{g}/\text{mg}$ lipídio) aumentou de 0,033 a 0,044 (após 90 dias), podendo estar associado à ausência de antioxidantes e às diferentes condições de estocagem adotadas.

A adição de BHA e tocoferóis à gema líquida, seguida da atomização e estocagem, sob temperatura ambiente, por 36 meses, resultou na inibição da formação de 7-cetocolesterol. Paralelamente, uma maior formação de 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH) foi verificada (BRINKERHOFF et al., 2002).

Conclusões

As condições de estocagem adotadas e a adição dos antioxidantes foram efetivas para manter mais estável o ovo atomizado quando estocado a 5°C. Dessa forma, as condições de estocagem e a mistura de antioxidantes otimizada poderiam ser adotadas em escala industrial. Nesse contexto, é

recomendável que sejam testadas outras misturas de antioxidantes e outros tipos de embalagens. Além disso, verificar se adição dos antioxidantes nas

concentrações estudadas interferem nas características sensoriais e reológicas do ovo.

Referências

1. AFONSO, M. S.; SANTANA, L. S.; MANCINI-FILHO, J. Interação entre antioxidantes naturais e espécies reativas do oxigênio nas doenças cardiovasculares: perspectivas para a contribuição do alecrim (*Rosmarinus offi cinalis* L.). **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, SP, v. 35, n. 1, p. 129-148, abr. 2010.
2. AHN, J.; GRU, N, I.; MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change and lipid oxidation in cooked beef. **Food Microbiology**, v. 24, p.7–14. 2007.
3. ANGELO, A. J. Lipid oxidation in food. **American chemical society**. Washington, DC, p. 1-13, 1992.
3. ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p.232-240, 2007.
4. BERGQUIST, D.H. Egg dehydration. In: STADELMAN, W.J.; COTTERIL, O.J. (Ed), **Egg science and technology** (4th ed.), Food Product Press, Binghamton, NY, p. 335–376, 1995.
5. BERTOLIN, T. E.; CENTENAR, A.; GIACOMELLI, B.; GIACOMELLI, F.; COLLA, L. M.; RODRIGUES, V. M. Antioxidantes naturais na prevenção da oxidação lipídica em charque de carne ovina. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 13, n. 2, p. 83-90, abr./jun. 2010.
6. BERTOLIN, T. E.; MARGARITES, A. C. F.; GIACOMELLI, B.; FRUETTI, A.; HORST, C.; TEIXEIRA, D. M. F. Ficocianina, tocoferol e ácido ascórbico na prevenção da oxidação lipídica em charque. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 14, n. 4, p. 301-307, out./dez. 2011.
7. BRASIL. **Métodos Físico-Químicos para Análises de Alimentos**. 4.ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz; Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1020p. (Série A. Normas e manuais técnicos).
8. BRINKERHOFF, B. E.; HUBBER, K. C.; HUBBER, C. S.; PIKE, O. A. Effect of antioxidants on cholesterol oxidation in spray-dried egg yolk during extended ambient storage. **Food Chem. Toxicol.** Oxford, v. 67, n.8, p.2857-2857, 2002.
9. CABONI, M.F.; BOSELLI, E.; MESSIA, M.C.; VELAZCO, V.; FRATIANNI, A.; PANFILI, G.; MARCONI, E. Effect of processing and storage on the chemical quality markers of spray-dried whole egg. **J. Food Chem.**, Barking, v. 92, p. 293-303, 2005.
10. CARVALHO, M. G. **Influência do processamento, de antioxidantes e da estocagem sobre a estabilidade oxidativa lipídica do ovo**. 2012. 155p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
11. CHERIAN, G.; WOLFE, F.H.; SIM, J.S. Feeding dietary oils with tocopherols: effects on internal qualities of eggs during storage. **Journal of Food Science**, v. 61, p. 15-18, 1996.
12. CHOW, C. K. **Biological effects of oxidized fatty acids**. In: Fatty acids in Foods and Their Health Implications. C. K. Chow (Ed.). Marcel Dekker, Inc., New York, NY, p.689–705, 1992.

13. CSALLANY, A.S.; KINDOM, S.E.; ADDIS, P.B.; LEE, J. HPLC method for quantitation of cholesterol and four of its major oxidation products in muscle and liver tissues. **Lipids**, Champaign, v. 24, n. 7, p. 645-651, 1989.
14. DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimisation of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, p. 214–219, 1980.
15. ESCARABAJAL, C. **Estabilidade oxidativa de colesterol em ovo líquido, ovo líquido pasteurizado e em ovo em pó atomizado, obtidos em laboratório**. 2011. 106p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
16. ESCARABAJAL, C.; TENUTA-FILHO, A. Estabilidade oxidativa do colesterol em ovo integral em pó. **Rev. Ciências Farmacêuticas**. São Paulo, v. 41, p. 483-490, 2005.
17. ESTEVEZ, M.; RAMIREZ, R.; VENTANAS, S.; CAVA, R.; Sage and rosemary essential oil versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver patê. **LWT. Food Sci. Technol.**, v. 40, n.1, p. 58-65, 2007.
18. FASSEAS, M., MOUNTZOURIS, K., TARANTILIS, P., POLISSOU, M.; ZERVAS, G. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. **Food Chemistry**, v.106, p.1188–1194, 2007.
19. FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**, 2ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602p.
20. FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 726, p. 497-509, 1957.
21. GALOBART, J.; GUARDIOLA, F.; BARROETA, A.C.; LÓPEZ-FERRER, S.; BAUCCELLS, M.D. Influence of dietary supplementation with α -tocopheryl acetate and canthaxanthin on colesterol oxidation in w3 and w6 fatty acids-enriched spray-dried eggs. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 7, p. 2460-2466, 2002.
22. GALOBART, J.; BARROETA, A.C.; BAUCCELLS, M. D.; GUARDIOLA, F. Lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with w3 and w6 polyunsaturated fatty acids during storage as affected by dietary vitamin E and canthaxanthin supplementation. **Poultry Science**, v. 80, p. 327-337, 2001.
23. GEORGANTELIS, D; BLEKAS, G; KATIKOU, P; AMBROSIADIS, I; FLETOURIS, D. Effect of rosemary extract, chitosan and alfa-tocopherol on lipid oxidation and colour stability during storage of beef burgers. **Meat Science**, 75, 256–264, 2007.
24. GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; RAFECAS, M.; GRAU, A.; JORDAN, A.; BOATELL, J. Oxysterol formation in spray-dried egg processed and stored under various conditions: prevention and relationship with other quality parameters. **J. Agric. Food Chem.**, v. 25, p. 2229-2243, 1997.
25. HUR, S. J.; PARK, G. B.; JOO, S. T. Formation of cholesterol oxidation products (COPS) in animal products. **Food control**. v. 18, n. 8, p. 939-947, 2007.
26. KITAHARA, S. E. **Efeito do processamento e da estocagem sobre a formação de óxidos de colesterol em ovos**. 2004. p.80. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
27. KUBOW, S. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 1, p. 67–71, 1990.
28. LANNES, S. C. S.; MEDEIROS, M. L. Processamento de *achocolatado* de cupuaçu por *spray-dryer*. **Revista Brasileira de**

Ciências Farmacêuticas. v. 39, n. 1, jan./mar., 2003.

29. LAI, S. M.; GRAY, J. I.; BUCKLEY, D. J.; KELLY, P. M. Influence of Free Radicals and Other Factors on Formation of Cholesterol Oxidation Products in Spray-Dried Whole Egg. **J. Agric. Food Chem.**, v. 43, n. 5, p. 1127–1131, 1995.

30. MAERKER, G. Cholesterol autoxidation-current status'. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, Champaign, v. 64, n. 3, p. 388-392, 1987.

31. MARIUTTI, L.R.B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. **Braz. J. Food Technol.**, v. 10, n. 2, p. 96-103, abr./jun. 2007.

32. MARSHALL, A. C.; SAMS, A. R.; VAN ELSWYK, M. E. Oxidative stability and sensory quality of stored eggs from hens fed 1.5% Menhaden oil. **J. Food Sci.** v. 59, p. 561–563, 1994.

33. MAZALLI, M. R.; BRAGAGNOLO, N. Effect of Storage on Cholesterol Oxide Formation and Fatty Acid Alterations in Egg Powder. **J. Agric. Food Chem.** v. 55, p. 2743–2748, 2007.

34. MAZALLI, M. R.; BRAGAGNOLO, N. Increase of Cholesterol Oxidation and Decrease of PUFA as a Result of Thermal Processing and Storage in Eggs Enriched with n-3 Fatty Acids. **J. Agric. Food Chem.** v. 57, p. 5028–5034, 2009.

35. MEDINA, M. K. J. **Óxidos de colesterol em ovo em pó comercial: ocorrência e efeito do processamento e adição de tocoferóis no produto armazenado.** 2009. 117p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

36. MOHAMED, R.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Antioxidant capacity of extracts from wild and crop plants of the

mediterranean region. **J. Food Science.** v. 72, n.1, 2007.

37. MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments.** New York: Wiley, 2000.

39. MORALES-AIZPURÚA, I.C.; TENUTA-FILHO, A. Óxidos de colesterol: ocorrência em alimentos, formação e efeitos biológicos. **Revista Brasileira Ciências Farmaceuticas,** São Paulo, v. 38, n. 4, p. 431-442, 2002.

40. PENAZZI, G.; CABONI, M. F.; ZUNIN, P.; EVANGELISTI, F.; TISCORNIA, E.; TOSCHI, T.G.; LERCKER, G. Routine high-performance liquid chromatographic determination of free 7-ketocholesterol in some foods by two different analytical methods, **J. Am. Oil Chem. Soc.** Champaign, v. 72, n. 2, p. 1523-1527, 1995.

41. PERUMALLA, A.V.S.; NAVAM, S. H. Green tea and grape seed extracts — Potential applications in food safety and quality. **Food Research International.** v. 44, p. 827–839, 2011.

42. PIKE, O. A.; PENG, I. C. Stability of shell egg and liquid yolk to lipid oxidation. **Poultry Sci.** v. 64, p.1470–1475, 1985.

43. PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry.** v. 269, n. 2, p. 337–341, 1999.

44. TERNES, W.; LEITSCH, S. **Chemistry of egg yolk.** in: Proceedings of the VII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products. Poznan, Poland. WPSA Polish Branch, Poznan, Poland. p. 127–144, 1997.

45. TRINDADE, R. A.; MANCINI-FILHO, J.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H. Natural antioxidants protecting irradiated beef

burgers from lipid oxidation. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 98–104, 2010.

46. SAS INSTITUTE. SAS software: application of statistical tests through release 6.12. Cary: Statistical Analysis System Institute, 1997.

47. WAHLE, K.W. J; HOPPE, P.P; MCINTOSH, G. Effects of storage and various intrinsic vitamin E concentrations on lipid oxidation in dried egg powders. **J. Sci. Food Agric.**, v. 61, p. 463-469, 1993.

48. WENZEL, M.; SEUSS –BAUM, I.; SCHLICH, E. Influence of Pasteurization, Spray- and Freeze-Drying, and Storage on the Carotenoid Content in Egg Yolk. **J. Agric. Food Chem.** v. 58, p. 1726–1731, 2010.