

# Efeito antioxidante da biomassa de *Arthrospira platensis* sobre a oxidação lipídica

## Antioxidative effect of *Arthrospira platensis* biomass on the lipid oxidation

Dayane Meireles de Souza<sup>1</sup>

Jorge da Silva Pinho Junior<sup>1</sup>

Vanessa Naciuk Castelo Branco<sup>1</sup>

Kátia Gomes de Lima Araujo<sup>1</sup>

Beatriz do Nascimento Corrêa dos Santos<sup>\*,II</sup>

Josiane Roberto Domingues<sup>1</sup>

### RESUMO

**Introdução:** Cianobactérias são promissoras fontes naturais de antioxidantes. Condições ambientais que influenciam síntese de substâncias em cultivos de cianobactérias tem sido estudadas. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito antioxidante da biomassa de *Arthrospira platensis* no processo de oxidação lipídica do óleo e da emulsão óleo/água. **Método:** A produção de antioxidantes por *Arthrospira platensis* em função das condições de cultivo foi avaliada por meio de planejamento experimental. O efeito antioxidante dos extratos metanólicos e das biomassas foi avaliado através do índice de peróxidos. **Resultados:** Os resultados mostram que as condições de crescimento para se obter a biomassa promoveram mudança na capacidade protetora dos diferentes extratos da biomassa. Extratos obtidos a partir da biomassa cultivada sob 150  $\mu\text{mol}$  fótons/ $\text{m}^2\text{s}^{-1}$ , 1,875  $\text{g.L}^{-1}$   $\text{NaNO}_3$ ; 13,5  $\text{g.L}^{-1}$   $\text{NaHCO}_3$  (ensaio 14) e 50  $\mu\text{mol}$  fótons/ $\text{m}^2\text{s}^{-1}$ , 2,5  $\text{g.L}^{-1}$   $\text{NaNO}_3$ ; 18,0  $\text{g.L}^{-1}$   $\text{NaHCO}_3$  (padrão) mostraram maior efeito antioxidante contra a oxidação lipídica, portanto, utilizados para formulação da maionese. A maionese feita com óleo de soja e 0,5% de biomassa foi preservada da fotodegradação lipídica durante sete dias de armazenamento, mas o índice de peróxido em relação ao controle variou de 2,9 para 3,1  $\text{mEqO}_2.\text{Kg}^{-1}$ , não havendo diferença significativa da preservação proporcionada pela *tert*-butil hidroquinona, no mesmo período de armazenamento. Na maionese feita com óleo de girassol, a biomassa, independentemente da concentração, não foi capaz de proteger o produto contra a foto-oxidação. **Conclusões:** Os resultados demonstram a capacidade protetora contra a oxidação lipídica da biomassa de *Arthrospira platensis* e seu potencial para uso em alimentos ricos em lipídeos à base de óleo de soja.

**PALAVRAS-CHAVE:** Antioxidante Natural; *Spirulina*; Óleo Vegetal; Maionese

### ABSTRACT

**Introduction:** Cyanobacteria are promising natural sources of antioxidants. Environmental conditions that influence synthesis of substances in cultures of cyanobacteria have been studied. **Objective:** This investigation aimed to evaluate the antioxidative effect of *Arthrospira platensis* biomass on the process of lipid oxidation in bulk oil and oil/water emulsion. **Method:** *Arthrospira platensis* growth potential for antioxidant production under different cultivation conditions using an experimental design. The antioxidative effect of the methanolic extracts and the biomass on preventing lipid oxidation was measured by peroxide value (PV). **Results:** The results showed that the growing conditions to obtain the biomass promoted change in the protective ability of different biomass extracts. Extracts obtained from the cultivated biomass grown under 150  $\mu\text{mol}$  photons/ $\text{m}^2\text{s}^{-1}$ , 1.875  $\text{g.L}^{-1}$   $\text{NaNO}_3$ ; 13.5  $\text{g.L}^{-1}$   $\text{NaHCO}_3$  (assay14) and 50  $\mu\text{mol}$  photons/ $\text{m}^2\text{s}^{-1}$ , 2.5  $\text{g.L}^{-1}$   $\text{NaNO}_3$ ; 18.0  $\text{g.L}^{-1}$   $\text{NaHCO}_3$  (standard) showed the most antioxidative effect on preventing lipid oxidation, therefore used in the formulation of mayonnaise. The mayonnaise made with soybean oil and 0.5% biomass was preserved against lipid photodegradation during seven days of storage, but the peroxide value related to control varied from 2.9 to 3.1  $\text{mEqO}_2.\text{Kg}^{-1}$ , with no significant difference in the preservation afforded by *tert*-butylhydroquinone, in

<sup>1</sup> Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

<sup>II</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Macaé, RJ, Brasil

\* E-mail: beatriz.correa@macae.ufrj.br

Recebido: 15 nov 2016

Aprovado: 03 ago 2017



the same period of storage. In mayonnaise made with sunflower oil, biomass, independent of concentration, was unable to protect the product against photooxidation. **Conclusions:** The results demonstrate the protective ability on preventing lipid oxidation of *Arthrospira platensis* biomass and its potential for use in food lipid-based of soybean oil.

**KEYWORDS:** Natural Antioxidant; *Spirulina*; Vegetable Oil; Mayonnaise

## INTRODUÇÃO

Alimentos ricos em gordura têm lipídios em grande parte de sua composição, sendo muito suscetíveis à oxidação lipídica, que pode contribuir para mudanças de sabor e cor e é uma preocupação econômica importante na indústria alimentícia, pois afeta algumas características de qualidade dos alimentos<sup>1,2</sup>. Além disso, ela altera a qualidade nutricional devido à degradação das vitaminas lipossolúveis e dos ácidos graxos essenciais<sup>3</sup>. A degradação lipídica pode ocorrer em diferentes formas, sendo a auto-oxidação a mais comum, na qual a gordura reage com o oxigênio atmosférico em três etapas: iniciação, propagação e terminação<sup>3,4</sup>. Para evitar a oxidação lipídica, antioxidantes são adicionados a alimentos industrializados; antioxidantes de origem sintética (como butil hidroxi-anisól (BHA), butil hidroxitolueno (BHT) e terc-butil hidroquinona (TBHQ)) são os mais utilizados; no entanto, eles têm uso restrito em alguns países, devido a possíveis efeitos perigosos para a saúde humana<sup>3,5</sup>. Estudos relataram alguns desses efeitos, como danos ao DNA causados pelo uso de antioxidantes sintéticos<sup>6,7</sup>. Além disso, Braeuning et al.<sup>8</sup> mostraram que quanto maior a concentração de TBHQ, maior o seu efeito tóxico, o que leva à formação de tumores em roedores. Entretanto, os mecanismos exatos desse processo ainda não foram totalmente elucidados. Esse potencial aspecto toxicológico dos antioxidantes sintéticos desperta grande interesse na obtenção e utilização de antioxidantes de fontes naturais supostamente mais seguras, uma vez que estão presentes em plantas<sup>9,10</sup> e/ou micro-organismos<sup>11</sup>.

Nesse sentido, as cianobactérias foram identificadas como um dos grupos de organismos mais promissores para a descoberta e identificação de produtos naturais com efeito antioxidante<sup>12,13</sup>. Lima Araújo et al.<sup>14</sup> mostraram que cianobactérias conseguiram produzir substâncias com atividade antioxidante capazes de proteger o óleo de soja na prevenção da oxidação lipídica quando o extrato foi adicionado ao óleo e comparado com BHT. Outro grupo de pesquisadores mostrou que a biomassa da *Spirulina*, quando adicionada à massa, promove alto conteúdo fenólico e atividade antioxidante em comparação com a massa de controle - sem *Spirulina*<sup>15</sup>. Ademais, Ismaiel et al.<sup>16</sup> demonstraram que a *Arthrospira platensis* tem uma boa produção de clorofila-a, carotenoides e ficocianina, que são também poderosos antioxidantes.

O gênero *Arthrospira* foi oficialmente incluído no *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* em 1989<sup>17</sup> e as espécies *Arthrospira maxima* e *Arthrospira platensis*, cultivadas em nível industrial em várias regiões do mundo, são frequentemente chamadas de *Spirulina maxima* e *Spirulina platensis*. A biomassa dessas cianobactérias é comercializada sob o nome de 'spirulina'<sup>18</sup>. A Food and Drug Administration (FDA) autoriza o uso da spirulina como alimento, sem risco para a saúde, assim como o GRAS (Geralmente Reconhecido como Seguro), que certifica este gênero de cianobactérias<sup>19,20</sup>. Assim, a biomassa de *Arthrospira platensis* pode ser usada

como aditivo alimentar sem risco para a saúde. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito antioxidante da biomassa de *Arthrospira platensis* no processo de oxidação lipídica de óleo e de maionese (emulsão óleo/água).

## MÉTODO

### Produtos químicos

Metanol e diclorometano foram adquiridos da ProQuímicos (Brasil); BHT e TBHQ foram comprados da Vogler Ingredients (Brasil); carvão ativado, sorbato de potássio, benzoato de potássio, goma guar, iodeto de potássio, amido e EDTA foram adquiridos da Vetec Química Fina LTDA (Brasil); os óleos vegetais utilizados foram óleos refinados sem antioxidantes produzidos pela Cargill® Company (Brasil), o ovo inteiro pasteurizado foi produzido pela Fleischmann® Company (Brasil).

### Biomassa de *Arthrospira platensis*

Para o desenvolvimento deste trabalho, utilizou-se biomassa liofilizada de cianobactérias *Arthrospira platensis* cultivadas em nosso estudo anterior (dados não publicados) sobre a influência das condições de cultivo na produção de biomassa, em diferentes condições de bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>), nitrato de sódio (NaNO<sub>3</sub>) e irradiância luminosa, que totalizam 17 condições de cultivo, além da condição-padrão de cultivo (P) (Tabela).

### Extrato de *Arthrospira platensis*

Dezoito extratos metanólicos foram preparados por sonicação e o solvente foi removido do extrato com um evaporador rotativo a 35° C. Posteriormente, os extratos foram purificados por cromatografia em coluna aberta, utilizando carvão ativado como fase estacionária. A fase móvel consistia de um gradiente de diclorometano e metanol, em proporções de 9:1 a 1:9 (v:v), que foram eluídos em 20 ml de cada solução. Os solventes foram subsequentemente removidos com um evaporador rotativo.

### Avaliação do efeito antioxidante dos extratos na prevenção da oxidação de óleo de soja

O efeito antioxidante dos extratos na prevenção da oxidação lipídica em comparação com o antioxidante sintético BHT e TBHQ foi avaliado utilizando óleo de soja com adição de antioxidante-padrão (100 ppm) ou extrato purificado (1.000 ppm)<sup>14</sup>. Foi utilizado como controle óleo sem adição de antioxidantes ou extratos. As amostras de óleo foram submetidas à oxidação induzida termicamente em um forno Schaal durante sete dias<sup>6</sup> e foi medido o índice de peróxido (IP)<sup>21</sup>.



Tabela. Planejamento experimental de condições de cultivo de *Arthrospira platensis*.

Ensaio	NaHCO <sub>3</sub>	NaNO <sub>3</sub>	Irradiação
	(g.L <sup>-1</sup> )	(g.L <sup>-1</sup> )	( $\mu\text{mol de fótons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )
P	18,00	2,500	50,00
1	10,82	1,500	70,20
2	16,18	1,500	70,20
3	10,82	2.250	70,20
4	16,18	2,250	70,20
5	10,82	1,500	129,80
6	16,18	1,500	129,80
7	10,82	2.250	129,80
8	16,18	2,250	129,80
9	9,00	1,875	100,00
10	18,00	1,875	100,00
11	13,50	1,250	100,00
12	13,50	2,500	100,00
13	13,50	1,875	50,00
14	13,50	1,875	150,00
15	13,50	1,875	100,00
16	13,50	1,875	100,00
17	13,50	1,875	100,00

#### Avaliação do efeito antioxidante da biomassa na prevenção da oxidação de maionese

Com base nos resultados obtidos no primeiro ensaio, foi conduzido um experimento para avaliar o efeito antioxidante da biomassa na oxidação de um alimento com alto teor de gordura. A maionese artesanal foi produzida e utilizada como modelo.

#### Formulação do produto

Para a formulação da maionese, utilizou-se óleo vegetal refinado sem antioxidantes (70%) de dois tipos, óleo de soja e girassol. Ovos pasteurizados foram usados como fonte de lecitina e água. O vinagre (ácido acético) foi adicionado como acidulante na formulação da emulsão, mantendo o pH baixo. Os aditivos alimentares foram adicionados à maionese nos termos da lei brasileira<sup>22</sup>.

Os aditivos foram adicionados com base em 100 g de produto, exceto TBHQ, que foi adicionada com base em 100 g de óleo. A biomassa de *Arthrospira platensis* também foi adicionada com base em 100 g de produto, nas concentrações de 0,5% e 0,75%. Para cada tipo de óleo vegetal, quatro amostras de maionese foram formuladas, a saber: controle (sem adição de antioxidante ou biomassa), antioxidante sintético (TBHQ), biomassa de *Arthrospira platensis* a 0,5% e biomassa de *Arthrospira platensis* a 0,75%.

#### Avaliação da estabilidade oxidativa da emulsão de maionese

Para este ensaio, 45 g de cada amostra foram armazenados em tubos plásticos tipo Falcon 50 ml em condições de armazenamento que favoreceram a degradação lipídica na forma acelerada, sob incidência de luz 25  $\mu\text{mol de fóton.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  e

temperatura de 30° C  $\pm$  1° C, por 14 dias<sup>23</sup>. A capacidade de proteção da biomassa foi avaliada nos tempos 0, 7 e 14 dias de armazenamento por determinação de IP pelo método de Alemán et al.<sup>24</sup>, com pequenas modificações. Assim, para esta análise, as amostras de cada tempo foram liofilizadas para separar a fração de lipídio. Posteriormente, foi determinado o IP.

#### Análise Estatística

A avaliação do efeito de variáveis (concentração de bicarbonato de sódio, nitrato de sódio e irradiância) sobre a capacidade protetora dos extratos derivados da biomassa foi realizada com o auxílio do Statistica versão 8.0. O efeito das variáveis foi considerado estatisticamente significativo quando  $p < 0,1$ . Os resultados do índice de peróxido obtidos nos testes de avaliação do efeito antioxidante dos extratos de biomassa foram analisados estatisticamente para avaliar diferenças significativas entre as amostras. Análise de variância (ANOVA one way) foi utilizada. Em caso de diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando  $p < 0,05$ . Os dados foram analisados usando o GraphPad Prism versão 5.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Avaliação do efeito antioxidante dos extratos de *Arthrospira platensis* na prevenção da oxidação lipídica

O teste para medir a capacidade de proteção dos extratos na prevenção da oxidação lipídica foi realizado com óleo de soja adicionado do antioxidante sintético TBHQ ou BHT ou 18 extratos purificados de biomassa produzida em diferentes condições de cultivo. As amostras de óleo foram submetidas à oxidação induzida termicamente e durante esse processo ocorreu a formação de peróxido, que é um dos produtos intermediários do mecanismo de reação de deterioração lipídica. Assim, após o período de incubação, mediu-se o IP das amostras para avaliar a capacidade dos extratos de proteger o óleo e prevenir a oxidação. A Figura 1 mostra esses resultados. O controle usado foi óleo de soja sem antioxidantes. A não formação de peróxidos pela adição de antioxidantes TBHQ ou BHT ou extratos indica a capacidade desses aditivos de aumentar a estabilidade do óleo frente à oxidação. Os resultados estão expressos em “percentual do índice de peróxido do controle”.

Foi possível observar na Figura 1 que o IP do óleo de soja foi menor com a adição de 100 ppm de antioxidante sintético TBHQ e BHT e 1.000 ppm de extratos de *Arthrospira platensis* E7; E10; E11; E12; E14; E15; E16; E17 e EP, que o controle e outros tratamentos. Isso significa que esses extratos aumentam a estabilidade oxidativa, minimizando a oxidação lipídica que resulta na formação de peróxido. Os demais extratos não foram capazes de aumentar a estabilidade, uma vez que o IP de óleo adicionado desses extratos foi significativamente igual ao controle. Através de análise estatística por análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey, foi possível verificar que os antioxidantes TBHQ e BHT proporcionaram proteção significativamente diferente da proteção promovida pelos extratos, exceto E16, que não diferiu estatisticamente

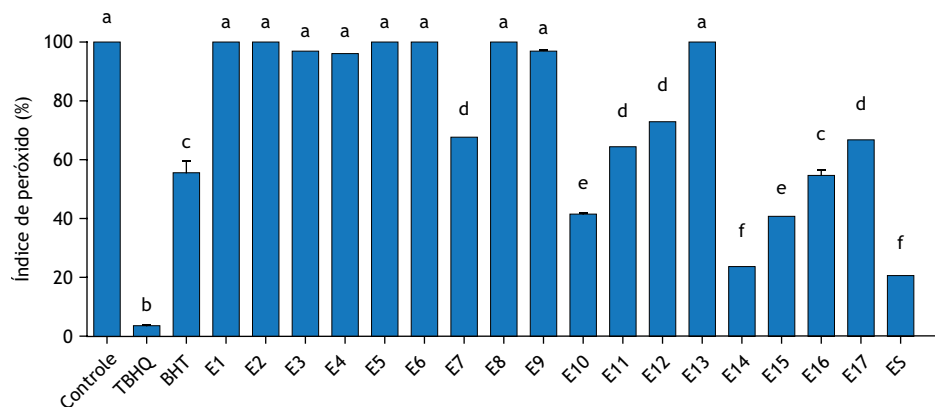


Figura 1. Índice de peróxido de óleo de soja sem antioxidante (controle) e adicionado de 100 ppm de antioxidante sintético (TBHQ ou BHT) ou 1.000 ppm de extrato de *Arthrospira platensis* (E1: extrato um; E2: extrato dois; E3: extrato três; E4: extrato quatro; E5: extrato cinco; E6: extrato seis; E7: extrato sete; E8: extrato oito; E9: extrato nove; E10: extrato dez; E11: extrato onze; E12: extrato doze; E13: extrato treze; E14: extrato catorze; E15: extrato quinze; E16: extrato dezesseis; E17: extrato dezessete; EP: extrato-padrão). Letras iguais sem diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

pelo BHT. O antioxidante TBHQ apresentou a maior capacidade de proteção. O óleo com adição de 1.000 ppm dos extratos E14 e EP obteve resultados que não diferiram estatisticamente e tiveram o maior efeito antioxidante entre os extratos testados, seguido por E10 e E15 e por BHT e E16 que também não diferiram estatisticamente entre si. Da mesma forma, o óleo adicionado aos extratos E7, E11, E12 e E17 não diferiu estatisticamente, mas teve o menor efeito antioxidante. Portanto, os tratamentos E14 e EP, ao final do período de incubação para avaliar oxidação do óleo de soja, apresentaram IP abaixo dos demais extratos, conferindo 76,41% e 79,48% de proteção ao óleo de soja para evitar a formação de hidroperóxidos, respectivamente.

Foi medido o efeito das três variáveis de cultivo de *Arthrospira platensis* sobre a capacidade de proteção dos extratos. A partir desses dados, realizou-se a análise de variância e os fatores estatisticamente significativos puderam ser observados, além de quais foram os mais relevantes para o efeito antioxidante, expressos pela capacidade de proteção medida pelo IP. Assim, a Figura 2 mostra que as variáveis luz e concentração de bicarbonato ( $\text{NaHCO}_3$ ) apresentaram efeito significativo ( $p = 0,085517$  e  $p = 0,096482$ , respectivamente), enquanto que a variável concentração de nitrato ( $\text{NaNO}_3$ ) mostrou efeito marginalmente significativo ( $p = 0,100306$ ). Assim, o termo linear da luz é a variável mais importante para o efeito antioxidante, seguido pelos termos quadráticos de  $\text{NaHCO}_3$  e  $\text{NaNO}_3$ .

Através da modificação das condições de cultivo, foram observadas diferenças no efeito antioxidante da biomassa. As condições que produziram extrato de biomassa com maior efeito antioxidante na prevenção da oxidação, em sua maioria, foram aquelas com maiores níveis de luz ( $\geq 100 \mu\text{mol fóton} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), independentemente da concentração de  $\text{NaNO}_3$  e de grandes concentrações de  $\text{NaHCO}_3$  ( $\geq 13,50 \text{ gL}^{-1}$ ). A condição de crescimento da biomassa 14 ( $150 \mu\text{mol fóton} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $1,875 \mu\text{L}^{-1} \text{ NaNO}_3$  e  $13,5 \mu\text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ ) apresentou o melhor efeito antioxidante e a biomassa da condição P foi significativamente igual. A condição-padrão foi produzida com baixa irradiância ( $50 \mu\text{mol fóton} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), mas com concentração máxima de  $\text{NaHCO}_3$  ( $18 \text{ gL}^{-1}$ ) e  $\text{NaNO}_3$  ( $2,5 \text{ gL}^{-1}$ ). Nesse caso, a

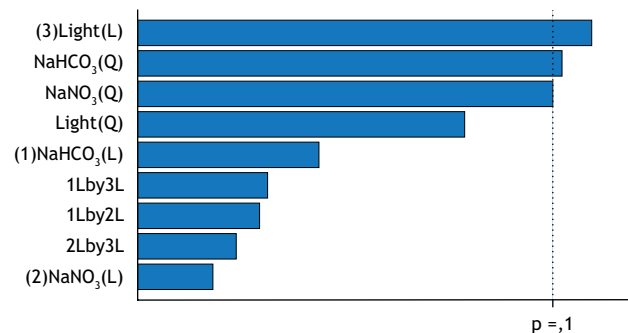


Figura 2. Gráfico de Pareto para o efeito das variáveis luz, bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) e nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ) sobre o índice de peróxido.

alta capacidade de proteção da biomassa poderia estar relacionada ao efeito das concentrações de bicarbonato e nitrato, de acordo com o gráfico de Pareto (Figura 2). A maior oferta de substrato pode refletir no acúmulo de substâncias que influenciaram a capacidade de proteção e que apresentaram uma rota biossintética diferente daquela iniciada pelo estresse oxidativo induzido por alta taxa fotossintética, em alto nível de luz.

Alguns estudos foram realizados para avaliar as melhores condições de cultivo de cianobactérias relacionadas ao seu potencial antioxidante. Shalaby et al.<sup>25</sup> relataram que no caso de *Arthrospira platensis* sob condições de estresse salino, os extratos polares das algas apresentaram o maior efeito antioxidante, incluindo pigmentos de ficobilinas, polissacarídeos sulfatados e compostos fenólicos.

Pesquisadores descobriram que o efeito antioxidante dos extratos obtidos a partir da biomassa de cianobactérias é influenciado pela cepa de *Arthrospira* usada para o cultivo e a composição do meio de crescimento. Em seu estudo, eles avaliaram o efeito antioxidante dos extratos etanólicos e relataram que valores mais altos de efeito antioxidante foram obtidos quando o meio de cultura reduziu as concentrações de  $\text{NaNO}_3$  e/ou  $\text{NaHCO}_3$ <sup>26</sup>. No presente estudo, a biomassa do extrato E14 foi cultivada com concentrações reduzidas de  $\text{NaNO}_3$  e  $\text{NaHCO}_3$ .



Outro estudo demonstrou a existência de potencial antioxidante e interações significativas com o conteúdo de compostos fenólicos de extratos metanólicos de *Arthrospira platensis*. Os autores demonstraram que concentrações mais elevadas de  $\text{NaNO}_3$  (1.875 e 2.500  $\text{g.L}^{-1}$ ) promoveram níveis mais altos de compostos fenólicos em *Arthrospira platensis* cultivada a 35 ° C. Essas concentrações de  $\text{NaNO}_3$  são iguais às condições de cultura de biomassa obtidas para E14 e EP, respectivamente, que mostraram um melhor efeito antioxidante na prevenção de oxidação para E14, do que para outros extratos de *Arthrospira platensis* <sup>27</sup>.

Lima Araújo et al.<sup>14</sup> estudaram a ocorrência de compostos antioxidantes em cianobactérias *Anabaena* PCC 7119 cultivadas sob diferentes intensidades de luz (100, 200 e 300  $\mu\text{mol fóton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ). Esses pesquisadores encontraram bom efeito antioxidante em extratos metanólicos das culturas com luz incidente de 100 e 200  $\mu\text{mol fóton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , valores de irradiância semelhantes aos estudados neste trabalho, os quais foram testados em óleo de soja.

#### Avaliação do efeito antioxidante da biomassa de *Arthrospira platensis* aplicada a uma emulsão alimentícia

Como não houve diferença significativa entre os testes 14 e P que mostraram a melhor capacidade protetora na prevenção da oxidação em óleo de soja, o ensaio-padrão (P) foi selecionado para o desenvolvimento do teste de avaliação da capacidade protetora da biomassa na prevenção da oxidação da maionese.

A Figura 3 mostra os resultados de IP em 0, 7 e 14 dias para as amostras de maionese feitas com óleo de soja e girassol. Pode-se observar que o IP inicial (tempo 0) da maionese produzida com óleo de soja é maior que o da maionese produzida com óleo de girassol; isso é provavelmente devido à composição dos ácidos graxos desses óleos. Em estudo realizado por Castelo Branco e Torres<sup>28</sup>, os resultados mostraram que mais de 50% dos ácidos graxos do óleo de soja e girassol são poliinsaturados, mas o óleo de girassol tem maior teor de monoinsaturados. Os ácidos graxos monoinsaturados são menos suscetíveis à oxidação do que os

poliinsaturados<sup>29</sup>, justificando a maior concentração de peróxidos no óleo de soja utilizado na preparação da maionese.

Na legislação brasileira não há um limite de IP para maionese, mas 10  $\text{mEqO}_2.\text{Kg}^{-1}$  é o nível máximo de IP de óleo refinado vegetal<sup>30</sup>. Com base nessa lei, todas as amostras foram classificadas como adequadas para consumo por IP.

Com base na análise estatística, observou-se que na maionese de óleo de soja a amostra controle (sem antioxidante sintético ou biomassa de *Arthrospira platensis*) no final do período de armazenamento (tempo 14) não diferiu significativamente do IP inicial (tempo 0). Esse resultado provavelmente está relacionado à capacidade de proteção dos componentes presentes no óleo de soja, como os tocoferóis. Castelo Branco<sup>31</sup> investigou a influência da composição inicial de óleos vegetais na estabilidade oxidativa e na capacidade antioxidante total. Observou-se que o óleo de soja possui alto teor de  $\gamma$ -tocoferol, sendo também o óleo com maior teor de tocoferol total. Este é naturalmente presente em óleos vegetais, sendo um antioxidante natural efetivo, como também descrito por Chaiyasit et al.<sup>2</sup>

Ainda quanto à maionese preparada com óleo de soja, observou-se que o TBHQ foi capaz de preservar a fotodegradação da maionese por 14 dias de armazenamento, enquanto a biomassa de *Arthrospira platensis* na concentração de 0,5% foi capaz de preservar apenas nos primeiros 7 dias. A análise estatística mostra que o IP medido no sétimo dia, para maionese adicionada de 0,5% de biomassa, não apresentou diferença significativa de IP medido para maionese adicionada de TBHQ. Isso demonstra que a proteção oferecida pela biomassa foi igual à conferida por TBHQ nos primeiros 7 dias. Esse resultado também demonstra a capacidade dessa biomassa de minimizar a oxidação lipídica durante 7 dias de armazenamento, sob as condições de teste. Vale ressaltar que neste experimento a maionese foi mantida em condições que aceleraram a taxa de degradação (25  $\mu\text{mol fóton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , 30 ° C), o que não corresponde àquelas em que o produto geralmente é mantido para comercialização, diferindo principalmente na intensidade da luz. Assim, pode-se inferir que

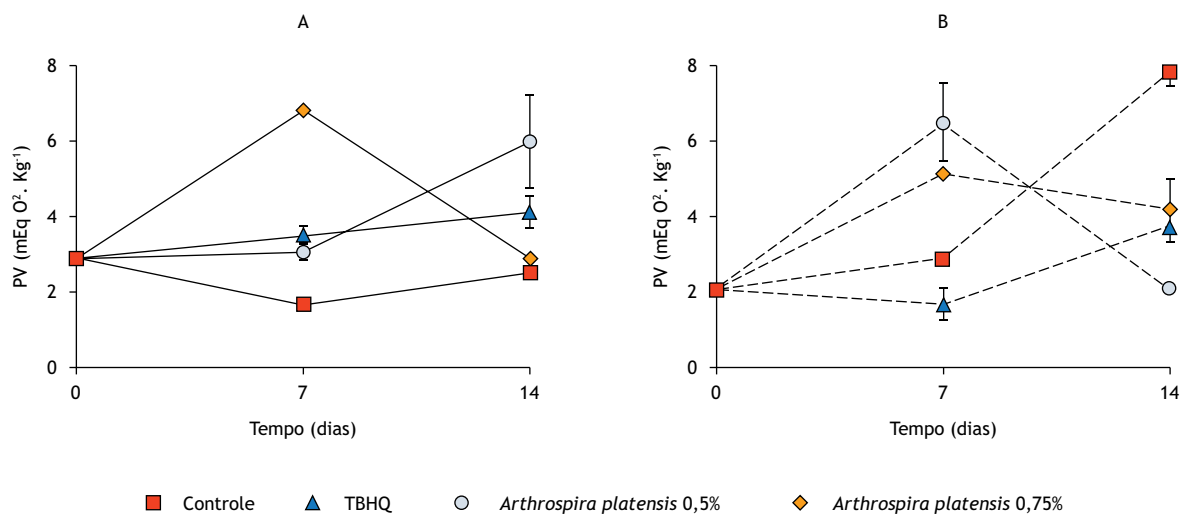


Figura 3. Índice de peróxido de maionese preparada com (A) óleo de soja e (B) óleo de girassol.





a adição de biomassa nesta concentração poderia ser capaz de proteger o produto por um longo período de tempo, potencializando o uso potencial da biomassa, nessa concentração, como substituto do antioxidante sintético.

Na maionese adicionada de 0,75% de biomassa, observou-se que o IP aumentou significativamente até o sétimo dia de armazenamento, seguido de uma diminuição até o décimo quarto dia de armazenamento e apresentando resultados significativamente iguais ao valor inicial. Isso ocorre porque o IP dá uma medida do grau de oxidação produzido pelo peróxido e hidroperóxido que reagem com o iodato de potássio<sup>32</sup>, mas os peróxidos são produzidos durante o estágio inicial de oxidação; nos estágios seguintes (propagação e terminação), eles são complexados para formar produtos secundários mais estáveis<sup>2</sup>, resultando em uma redução do IP. Abreu et al.<sup>32</sup> explicam que o IP tende a aumentar durante os estágios iniciais de oxidação porque é quando a formação da taxa de hidroperóxido é maior do que a taxa de decomposição, mas quando um valor máximo é alcançado, o IP diminui devido à menor acessibilidade do substrato e instabilidade de moléculas de peróxido.

O aumento da concentração de biomassa, de 0,5% para 0,75%, não representou maior capacidade de proteger o produto da foto-oxidação, o que poderia significar que esse incremento, além de promover maior concentração de substâncias antioxidantes à maionese, também representa o aumento de concentração de substâncias que podem ser degradadas nas mesmas condições, como clorofila e carotenoides. Essa degradação produz produtos instáveis, entre os quais espécies reativas de oxigênio, que oxidam outras moléculas, como lipídios<sup>33</sup>, o que pode explicar por que o IP aumenta em maionese com 0,75% de biomassa.

Os resultados da maionese preparada com óleo de girassol mostram que na amostra controle houve degradação lipídica durante todo o período de armazenamento, sendo esta mais intensa após o sétimo dia. Essa degradação pode estar relacionada à maior vulnerabilidade do óleo de girassol, como demonstrou Castelo Branco<sup>31</sup>, que verificou a qualidade inicial do óleo vegetal e constatou que o óleo de girassol apresenta IP mais elevado do que o óleo de soja (1,14 mEq O<sub>2</sub>.Kg<sup>-1</sup> e 0,38 mEqO<sub>2</sub>.Kg<sup>-1</sup>, respectivamente). Em outros resultados, no mesmo estudo, verificou-se que o óleo de girassol apresentou maior susceptibilidade à oxidação e menor estabilidade oxidativa.

O antioxidante sintético TBHQ garantiu proteção à maionese preparada com óleo de girassol até sete dias de armazenamento, mostrando degradação após esse período, mas essa degradação foi significativamente menor em relação ao controle, que mostrou no décimo quarto dia a maior degradação entre todas as amostras testadas de óleo de girassol. Para as amostras com 0,5% e 0,75% de biomassa, observou-se que o IP no sétimo dia apresenta um aumento significativo, seguido de redução no décimo quarto dia de armazenamento. A biomassa, independentemente da concentração adicionada, não foi capaz de proteger da foto-degradação a maionese produzida com óleo de girassol.

Alguns estudos foram realizados para investigar a estabilidade oxidativa de emulsões, como o estudo de Pavlović et al.<sup>34</sup>, que

avalia o efeito do ácido ascórbico e do EDTA em molhos emulsificados com diferentes tipos de óleo de girassol (com diferentes perfis de tocoferol) e armazenados por três meses a 25° C protegidos da luz. Os resultados mostraram que no controle da amostra (sem antioxidante), o IP aumentou rapidamente durante o primeiro mês de armazenamento; então, o aumento foi mais lento, provavelmente devido à formação de produtos de oxidação secundária. Outro estudo sobre a estabilidade oxidativa da emulsão foi realizado por Altunkaya et al.<sup>35</sup> e avaliou maionese adicionada de extrato de semente de uva, rico em compostos fenólicos. Eles investigaram as alterações oxidativas na maionese por vários métodos, incluindo IP, durante o armazenamento em condições que protegem da luz a 20° C por 8 semanas. A maionese adicionada com extrato de semente de uva mostrou IP significativamente menor em comparação com a maionese controle, após 8 semanas de armazenamento. No entanto, o progresso na oxidação segue um padrão que é normalmente encontrado na auto-oxidação, como o aumento inicial nos produtos de peroxidação lipídica, seguido por um aumento subsequente nos produtos secundários da oxidação lipídica.

Castelo Branco e Torres<sup>36</sup> descreveram que o perfil de tocoferol de óleos vegetais refinados é um dos determinantes da capacidade antioxidante total, sendo a concentração de  $\gamma$  e  $\delta$ -tocopherol responsável por essa característica. Ao avaliar diferentes amostras de óleos vegetais refinados, foram encontrados os seguintes valores no óleo de soja: 93,3 a 129,4 e 24,0 a 49,7 mg.100g<sup>-1</sup> de  $\gamma$  e  $\delta$ -tocopherol, respectivamente, enquanto que para óleo de girassol os valores foram 4,50 a 5,97 e 0,23 a 0,57 mg.100g<sup>-1</sup> de  $\gamma$  e  $\delta$ -tocopherol, respectivamente. As descobertas do estudo de Castelo Branco e Torres<sup>36</sup> são complementares às encontradas neste trabalho, apontando para um possível efeito sinérgico dos tocoferóis presentes no óleo de soja com substâncias que promovem efeito antioxidante da biomassa, promovendo a proteção da maionese produzida com óleo de soja. Esses resultados também contribuem para elucidar o comportamento observado na maionese produzida com óleo de girassol. Como o óleo de girassol possui inerentemente a menor capacidade antioxidante total e, portanto, é mais propenso à oxidação, as substâncias transportadas pela biomassa, independentemente da concentração adicionada, não foram capazes de promover a prevenção da oxidação da maionese nas condições deste estudo.

## CONCLUSÕES

Tendo em vista os resultados obtidos no presente trabalho, é possível concluir que a biomassa da *Arthrospira platensis* apresenta compostos com efeito antioxidante e que tais compostos não diminuem sua capacidade protetora frente à oxidação do óleo de soja e da maionese quando submetidos a condições experimentais. O principal objetivo de nossa pesquisa é descobrir novos compostos naturais não tóxicos como alternativa aos aditivos alimentares hoje disponíveis, contra os quais existem restrições relativas a seus efeitos tóxicos. Nesse contexto, a *Arthrospira platensis* é uma nova e promissora fonte de compostos antioxidantes. Estes resultados demonstram o potencial dessa cianobactéria como fonte de novos compostos antioxidantes a serem aplicados no processamento de alimentos.



## REFERÊNCIAS

1. Li CY, Kim HW, Li H, Lee DC, Rhee HI. Antioxidative effect of purple corn extracts during storage of mayonnaise. *Food Chem.* 2014;152:592-6. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.152>
2. Chaiyasit W, Elias RJ, McClements DJ, Decker EA. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2007;47(3):299-317. <https://doi.org/10.1080/10408390600754248>
3. Ramalho VC, Jorge N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Quim Nova.* 2006;29(4):755-60. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000400023>
4. Freire PC, Mancini-Filho J, Ferreira TA. Principais alterações físico-químicas em óleos e gorduras submetidos ao processo de fritura por imersão: regulamentação e efeitos na saúde. *Rev Nutr.* 2013;26(3):353-68. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732013000300010>
5. Shahidi F, Zhong Y. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chem Soc Rev.* 2010;39(11):4067-79. <https://doi.org/10.1039/b922183m>
6. Kashanian S, Ezzati Nazhad Dolatabadi J. DNA binding studies of 2-tert-butylhydroquinone (TBHQ) food additive. *Food Chem.* 2009;116(3):743-7. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.027>
7. Nagai F, Okubo T, Ushiyama K, Satoh K, Kano I. Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in calf thymus DNA treated with tert-butylhydroquinone, a major metabolite of butylated hydroxyanisole. *Toxicol Lett.* 1996;89(2):163-7. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(96\)03800-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(96)03800-3)
8. Braeuning A, Vetter S, Orsetti S, Schwarz M. Paradoxical cytotoxicity of tert-butylhydroquinone in vitro: what kills the untreated cells? *Arch Toxicol.* 2012;86(9):1481-7. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0841-3>
9. Almeida-Doria RF, Regitano-D'Arce MA. Antioxidant activity of Rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. *Food Sci Technol (Campinas).* 2000;20(2):2. <https://doi.org/10.1590/S0101-2061200000200013>
10. Yang Y, Song X, Sui X, Qi B, Wang Z, Li Y et al. Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. *Ind Crops Prod.* 2016;80:141-7. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.044>
11. Bertolin TE, Margarites AC, Giacomelli B, Fruetti A, Horst C, Texeira DM. Ficocianina, tocoferol e ácido ascórbico na prevenção de oxidação lipídica em charque. *Braz J Food Technol.* 2011;14(4):301-7. <https://doi.org/10.4260/BJFT2011140400036>
12. Burja AM, Banaigs B, Abou-Mansour E, Burgess JG, Wright PC. Marine cyanobacteria - a prolific source of natural products. *Tetrahedron.* 2001;57(46):9347-77. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)00931-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)00931-0)
13. Shanab SM, Mostafa SS, Shalaby EA, Mahmoud GI. Aqueous extracts of microalgae exhibit antioxidant and anticancer activities. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012;2(8):608-15. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60106-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60106-3)
14. Araújo KGL, Domingues JR, Sabaa Srur AU, Silva AJ. Production of antioxidants by *Anabaena PCC 7119* and evaluation of their protecting activity against oxidation of soybean oil. *Food Biotechnol.* 2006;20(1):65-77. <https://doi.org/10.1080/08905430500524200>
15. De Maco ER, Steffolani ME, Martínez CS, León AE. Effect of spirulina biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. *Lebensm Wiss Technol.* 2014;58(1):102-8. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.054>
16. Ismaiel MM, El-Ayouty YM, Piercey-Normore MD. Antioxidant characterization in selected cyanobacteria. *Ann Microbiol.* 2014;64(3):1223-30. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0763-1>
17. Castenholz RW. Subsection III, order oscillatoriales. In: Staley JT, Bryant MP, Pfennig N, Holt JG. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Baltimore: William & Wilkins; 1989. p. 1771-80.
18. Araújo KGL, Facchinetti AD, Santos CP. Influência da ingestão de biomassa de *Spirulina (Arthrospira sp.)* sobre o peso corporal e consumo de ração em ratos. *Food Sci Technol (Campinas).* 2003;23:1.
19. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Agency response letter GRAS Notice No. GRN 000127. Washington: Food and Drug Administration; 2003[cited 2014 Jun 18]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm153944.htm>
20. Moraes IO, Arruda RO, Maresca NR, Antunes AO, Moraes RO. *Spirulina platensis*: process optimization to obtain biomass. *Food Sci Technol (Campinas).* 2013;33(1):179-83. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013000500026>
21. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz; 2008[cited 2014 Jun 18]. Available from: [http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial\\_2008.pdf](http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf)
22. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução RDC Nº 4, de 15 de janeiro de 2007. Aprovar o regulamento técnico sobre atribuição de aditivos e seus limites máximos para a categoria de alimentos 13: molhos e condimentos. *Diário Oficial União* 17 jan 2007.
23. American Oil Chemist Society - AOCS. Official methods and recommended practices of the AOCS. (5th ed). Champaign: American Oil Chemist Society; 2003. Accelerated light exposure of edible vegetable oils, Cg 6-01.
24. Alemán M, Bou R, Guardiola F, Durand E, Villeneuve P, Jacobsen C et al. Antioxidative effect of lipophilized caffeic acid in fish oil enriched mayonnaise and milk. *Food Chem.* 2015;167:236-44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.083>



25. Shalaby EA, Shanab SM, Singh V. Salt stress enhancement of antioxidant and antiviral efficiency of *Spirulina platensis*. *J Med Plants Res*. 2010;4(24):2622-32. <https://doi.org/10.5897/JMPR09.300>
26. Tarko T, Duda-Chodak A, Kobus M. Influence of growth medium composition on synthesis of bioactive compounds and antioxidant properties of selected strains of *Arthrospira cyanobacteria*. *Czech J Food Sci*. 2012;30:258-67.
27. Colla LM, Furlong E, Costa JA. Antioxidant properties of *Spirulina (Arthrospira) platensis* cultivated under different temperatures and nitrogen regimes. *Braz Arch Biol Technol*. 2007;50(1):161-7. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132007000100020>
28. Castelo Branco VN, Torres AG. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade do óleo. *Rev Nutr*. 2011;24(1):173-87. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732011000100017>
29. Berton-Carabin CC, Ropers MH, Genot C. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: involvement of the interfacial layer. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2014;13(5):945-77. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12097>
30. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução RDC Nº 270, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. *Diário Oficial União*, 23 set 2005.
31. Castelo Branco VN. Transformações químicas na oxidação acelerada de óleos vegetais e sua relação com a capacidade antioxidante total, uma abordagem multivariada [tese]. Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2013.
32. Abreu DA, Losada PP, Maroto J, Cruz JM. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Food Res Int*. 2010;43(5):1277-82. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.03.019>
33. Streit NM, Canterle LP, Canto MW, Hecktheuer LH. As Clorofilas. *Cienc Rural*. 2005;35(3):748-55. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000300043>
34. Pavlović MD, Pucarević M, Mićović V, Zivić M, Zlatanović S, Gorjanović S et al. Influence of sunflower oil qualities and antioxidants on oxidative stability on whey-based salad dressings. *Acta Chim Slov*. 2012;59(1):42-9.
35. Altunkaya A, Hedegaard RV, Harholt J, Brimer L, Gökmen V, Skibsted LH. Oxidative stability and chemical safety of mayonnaise enriched with grape seed extract. *Food Funct*. 2013;4(11):1647-53. <https://doi.org/10.1039/c3fo60204d>
36. Castelo Branco VN, Torres AG. Generalized linear model describes determinants of total antioxidant capacity of refined vegetable oils. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2012;114(3):332-42. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201100181>

#### Agradecimentos

Agradecemos o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa Carlos Chagas Filho do estado do Rio de Janeiro (FAPERJ, Brasil).

#### Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada.

Para ver uma cópia desta licença, visite [http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt\\_BR](http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR).