UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Estabilidade oxidativa do colesterol em ovo
líquido, em ovo líquido pasteurizado e em ovo em
pó atomizado, obtidos em laboratório

Claudia Escarabajal

Tese para obtenção de grau de
DOUTOR

Orientador:
Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho

São Paulo
2011

Claudia Escarabajal

Estabilidade oxidativa do colesterol em ovo líquido, em ovo líquido pasteurizado e em ovo em pó atomizado, obtidos em laboratório

Comissão julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho
orientador/presidente

1o. examinador

2o. examinador

3o. examinador

4o. examinador

São Paulo, _____ de _____

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

E76e Escarabajal, Claudia
Estabilidade oxidativa do colesterol em ovo líquido, em ovo líquido pasteurizado e em ovo em pó atomizado, obtidos em laboratório / Claudia Escarabajal. -- São Paulo, 2011. 106p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental
Orientador: Tenuta Filho, Alfredo

1. Ovos : Colesterol : Ciência dos alimentos 2. Antioxidante : Ciência dos alimentos 3. Processos : Tecnologia de alimentos I. T. II. Tenuta Filho, Alfredo, orientador.

641.375 CDD

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, por todo carinho e a meu companheiro Adriano, com amor e admiração pelo seu apoio, compreensão, carinho e presença incansável ao longo do período de elaboração deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho, pela sugestão do tema deste trabalho, pelo apoio irrestrito durante todo meu curso de doutorado, pelos ensinamentos nas disciplinas onde fui sua aluna e pelo grande foco nos aspectos realmente importantes presentes no desenvolvimento desta tese.

A coordenadora do Curso de Pós-Graduação, Professora Dra Bernadette D.G. Melo Franco, pela oportunidade de superação profissional.

Agradeço aos meus colegas da FCF com quem convivi ao longo do meu curso de doutorado, que participaram direta e indiretamente, facilitando o desenvolvimento do projeto.

A CNPq pela concessão da bolsa de doutorado e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

Muito Obrigada

RESUMO

Escarabajal, C. **Estabilidade oxidativa do colesterol em ovo líquido, em ovo líquido pasteurizado e em ovo em pó atomizado, obtidos em laboratório.** 2011. 106 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

O ovo é importante como alimento e como matéria-prima industrial. Tem alto conteúdo de colesterol, o qual, por sua vez, está sujeito à oxidação. Os óxidos formados interferem na morfologia e função da membrana celular, inibem a biossíntese do colesterol, e são aterogênicos, citotóxicos, mutagênicos e cancerígenos. O processamento e o armazenamento levam à oxidação do colesterol. O presente trabalho teve como objetivos **(a)** a caracterização e avaliação do ovo líquido integral (OLI) em relação ao armazenamento da matéria-prima; **(b)** a avaliação do ovo líquido integral (OLI), do ovo líquido integral pasteurizado (OLIP), do ovo integral em pó atomizado (OIPA) e do ovo integral em pó atomizado armazenado, em relação à estabilidade oxidativa do colesterol; e **(c)** a avaliação do efeito da adição de antioxidantes naturais durante o processamento do ovo integral em pó atomizado, em relação à estabilidade oxidativa do colesterol. O OLI produzido a partir de matéria-prima armazenada por 30 dias, a 4°C, não foi afetado quanto à estabilidade oxidativa do colesterol. A pasteurização e a atomização, realizadas em condições de laboratório, não levaram ao comprometimento oxidativo do colesterol. Foi constatada oxidação significativa do colesterol no OIPA, obtido em condições de laboratório, quando armazenado por 90 dias, a 25°C, na ausência de luz. Os antioxidantes naturais comerciais GUARDIAN® Rosemary Extract (RE) e o GUARDIAN™ TOCO 70 (TOCO 70) não foram efetivos na prevenção da oxidação induzida do colesterol, quando adicionados (antes ou depois da atomização) ao ovo integral em pó atomizado obtido em condições de laboratório, armazenado por 21 dias, a 25°C, na ausência de luz.

Palavras-chave: colesterol, óxidos de colesterol, antioxidantes, pasteurização, atomização, armazenamento

ABSTRACT

Escarabajal, C. **Cholesterol oxidative stability in whole egg, in pasteurized whole egg and in atomized powder egg, obtained in laboratory.** 2011. 106 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

Egg is important as food and as industrial raw material. It has high cholesterol, which, in turn, is subject to oxidation. Cholesterol oxides interfere with morphology and function of cell membrane, inhibit cholesterol biosynthesis, and are atherogenic, cytotoxic, mutagenic and carcinogenic. Processing and storage lead to oxidation of cholesterol. Present study aimed **(a)** characterization and evaluation of liquid whole egg (OLI) in relation to storage of raw material; **(b)** evaluation of liquid whole egg (OLI), liquid pasteurized whole egg (OLIP), atomized powder whole egg (OIPA) and stored atomized powder whole egg, relative to cholesterol oxidative stability, and **(c)** evaluation of natural antioxidants addition's effect in processing of atomized powder whole egg, relative to cholesterol oxidative stability. OLI produced from raw materials stored for 30 days, at 4°C, was not affected on cholesterol oxidative stability. Pasteurization and atomization, performed under laboratory conditions, did not lead to significant cholesterol oxidation. It has been found significant cholesterol oxidation in OIPA, obtained under laboratory conditions, when stored for 90 days at 25°C in absence of light. Commercial natural antioxidants GUARDIAN® Rosemary Extract (RE) and GUARDIAN™ TOCO 70 (TOCO 70) were not effective in prevention of cholesterol induced oxidation when added (before or after spraying) to atomized powder whole egg obtained under laboratory conditions, stored for 21 days at 25°C in absence of light.

Keywords: cholesterol, cholesterol oxides, antioxidants, pasteurization, spray drying, storage

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Composição do ovo (g/100g) e produtos derivados*	30
Tabela 2 – Conteúdo de colesterol em alimentos (mg/100g).....	31
Tabela 3 – Parâmetros de validação da metodologia para colesterol e óxidos de colesterol.....	50
Tabela 4 – Umidade e lípidos totais do ovo líquido integral derivado de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura (controle 0) e com 30 dias de armazenagem a 4°C.....	55
Tabela 5 – Capacidade antioxidativa do ovo líquido integral derivado de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura (controle 0) e com 30 dias de armazenagem, a 4°C, medido pelo DPPH* (2,2-difenil-picrilhidrazila), (%), em base seca.....	56
Tabela 6 – Fenólicos totais em ovo líquido integral derivado de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura (controle 0) e com 30 dias de armazenagem, a 4°C, expressados em mg de ácido gálico/g de amostra, em base seca.....	57
Tabela 7 – Colesterol (mg/100g) em ovo líquido integral derivado de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura (controle 0) e com 30 dias de armazenagem, a 4°C.....	58
Tabela 8 – 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH) e 25-hidroxicolesterol (25-OH) livres (em μ g/g de lípidos e ou de amostra em base seca) em ovo líquido integral, derivado de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura (controle 0) e com 30 dias de armazenagem, a 4°C.....	60
Tabela 9 – Somatório dos óxidos de colesterol derivados do carbono 7 da molécula do colesterol Σ C7 (7-ceto (7-cetocolesterol), 7 α -OH (7 α -hidroxicolesterol) e 7 β -OH (7 β -hidroxicolesterol)), 25-OH (25-hidroxicolesterol) e somatório dos OsC, Σ OsC (7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH) em μ g/g de lípidos e μ g/g de amostra (base seca), em ovo líquido integral, derivado de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura (controle 0) e com 30 dias de armazenagem, a 4°C.....	62
Tabela 10 – Umidade e lípidos totais do ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA).....	63
Tabela 11 – Capacidade antioxidativa em ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA) (reconstituído), medido pelo DPPH* (2,2-difenil-picrilhidrazila) (%).....	65
Tabela 12 – Fenólicos totais do ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA) (reconstituído) expressados em mg de ácido gálico/g de amostra.....	66
Tabela 13 – 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH) e 25-hidroxicolesterol (25-OH) livres (μ g/g de	

lípidos) em ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA).....	67
Tabela 14 – 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH) e 25-hidroxicoolesterol (25-OH) livres (μ g/g de amostra, base seca) em ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA).....	68
Tabela 15 – Somatório dos OsC do carbono 7 da molécula do colesterol, Σ C7 (7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e 25-hidroxicoolesterol (25-OH) e o somatório dos OsC, Σ OsC (7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH), em μ g/g de lípidos e μ g/g de amostra (base seca) em de ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA).....	69
Tabela 16 – Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (mg aldeído malônico /Kg) em ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA).....	70
Tabela 17 – Umidade e lípidos totais em ovo integral em pó atomizado, armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias à temperatura ambiente (25°C), no escuro (g/100g)	71
Tabela 18 – Capacidade antioxidativa em ovo integral em pó atomizado armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias, à temperatura ambiente (25°C), no escuro, medida pelo DPPH* (2,2-difenil-picrilhidrazila) (%) (base seca).....	72
Tabela 19 – Fenólicos totais em ovo integral em pó atomizado, armazenado (0, 30, 60 e 90 dias) à temperatura ambiente (25°C), no escuro, expressados em mg de ácido gálico/g de amostra.....	72
Tabela 20 – 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH) e 25-hidroxicoolesterol (25-OH) livres em μ g/g de lípidos, em ovo integral em pó atomizado armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias, à temperatura ambiente (25°C), no escuro.....	73
Tabela 21 – 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH) e 25-hidroxicoolesterol (25-OH) em μ g/g de amostra (base seca) em ovo integral em pó atomizado armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias, à temperatura ambiente (25°C), no escuro.....	74
Tabela 22 – Somatório dos OsC do carbono 7 da molécula do colesterol, Σ C7 (7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e 25-hidroxicoolesterol (25-OH) e o somatório dos OsC, Σ OsC (7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH) em μ g/g de lípidos e μ g/g de amostra (base seca) em ovo integral em pó atomizado armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias, à temperatura ambiente (25°C), no escuro.....	75
Tabela 23 – Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (mg aldeído malônico/Kg) em ovo integral em pó armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias, à temperatura ambiente (25°C), no escuro, em base seca.....	77
Tabela 24 – Estabilidade oxidativa do colesterol, avaliado através dos óxidos 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e o Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), em ovo	

integral em pó atomizado armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias, à temperatura de 25°C, no escuro	79
Tabela 25 – Estabilidade oxidativa do colesterol, avaliado através dos óxidos 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e o Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), em ovo integral em pó atomizado adicionado de sulfato de cobre, armazenado por 0, 7, 14 e 21 dias, à temperatura de 25°C, no escuro.....	80
Tabela 26 – Estabilidade oxidativa do colesterol, avaliado através dos óxidos 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e o Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), em ovo integral em pó atomizado adicionado de sulfato de cobre, e antioxidante RE, antes do processo da atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias, à temperatura de 25°C, no escuro.....	82
Tabela 27 – Estabilidade oxidativa do colesterol, avaliado através dos óxidos 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e o Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), em ovo integral em pó atomizado adicionado de sulfato de cobre e antioxidante TOCO 70, antes do processo da atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias, à temperatura de 25°C, no escuro.....	83
Tabela 28 – Estabilidade oxidativa do colesterol, avaliado através dos óxidos 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e o Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH) em ovo integral em pó atomizado adicionado de sulfato de cobre e do antioxidante RE, após o processo da atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias, à temperatura de 25°C, no escuro.....	85
Tabela 29 – Estabilidade oxidativa do colesterol, avaliado através dos óxidos 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e o Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), em ovo integral em pó atomizado adicionado de sulfato de cobre e do antioxidante TOCO 70, após o processo da atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias, à temperatura de 25°C, no escuro.....	86

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Curva de calibração de fenólicos totais expressados em ácido gálico....	52
Gráfico 2 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7 α -OH (7 α -hidroxicolesterol), 7 β -OH (7 β -hidroxicolesterol) e 25-OH (25-hidroxicolesterol), Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), Σ OsC (7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH) (em μ g/g de lípides) em ovo integral em pó atomizado, armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias a temperatura ambiente (25°C) no escuro	103
Gráfico 3 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7 α -OH (7 α -hidroxicolesterol), 7 β -OH (7 β -hidroxicolesterol) e 25-OH (25-hidroxicolesterol), Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), Σ OsC (7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH) (em μ g/g de amostra, base seca) em ovo integral em pó atomizado, armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias a temperatura ambiente (25°C) no escuro (base seca).....	103
Gráfico 4 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7 α -OH (7 α -hidroxicolesterol), 7 β -OH (7 β -hidroxicolesterol) e Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), (em μ g/g de lípides) em ovo integral em pó atomizado, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias a 25°C no escuro.....	104
Gráfico 5 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7 α -OH (7 α -hidroxicolesterol), 7 β -OH (7 β -hidroxicolesterol) e Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), (em μ g/g de lípides) em ovo integral em pó atomizado com adição de sulfato de cobre, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias a 25°C no escuro.....	104
Gráfico 6 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7 α -OH (7 α -hidroxicolesterol), 7 β -OH (7 β -hidroxicolesterol) e Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), (em μ g/g de lípides) em ovo integral em pó atomizado com adição de sulfato de cobre e antioxidante RE, antes da atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias a 25°C no escuro	105
Gráfico 7 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7 α -OH (7 α -hidroxicolesterol), 7 β -OH (7 β -hidroxicolesterol) e Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), (em μ g/g de lípides) em ovo integral em pó atomizado com adição de sulfato de cobre e antioxidante TOCO 70, antes da atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias a 25°C no escuro	105
Gráfico 8 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7 α -OH (7 α -hidroxicolesterol), 7 β -OH (7 β -hidroxicolesterol) e Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), (em μ g/g de lípides) em ovo integral em pó atomizado com adição de sulfato de cobre e antioxidante RE, após atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias a 25°C no escuro.....	106
Gráfico 9 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7 α -OH (7 α -hidroxicolesterol), 7 β -OH (7 β -hidroxicolesterol) e Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), (em μ g/g de lípides) em ovo integral em pó atomizado com adição de sulfato de cobre e antioxidante TOCO 70, após a atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias a 25°C no escuro	106

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Molécula de colesterol (TAI; CHEN; CHEN, 1999).....	19
Figura 2 – Formação de óxidos de colesterol (TAI; CHEN; CHEN, 1999).....	21
Figura 3 – Esquema do atomizador e do fluxo do ar de secagem.....	44
Figura 4 – Ilustração do atomizador.....	45
Figura 5 – Avaliação do efeito da adição dos antioxidantes naturais comerciais ao ovo integral em pó atomizado sobre a estabilidade oxidativa do colesterol	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OsC	Óxidos de colesterol
7 α -OH	7 α -hidroxicolesterol
7 β -OH	7 β -hidroxicolesterol
7-ceto	7-cetocolesterol
5,6 α -epóxido	colesterol-5,6 α -epóxido
5,6 β -epóxido	colesterol-5,6 β -epóxido
25-OH	25-hidroxicolesterol
20-OH	20-hidroxicolesterol
Triol	Colestanotriol
HMG-CoA redutase	Hidroximetilglutaril-CoA redutase
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
CNNPA-MS	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, do Ministério da Saúde
DINAL-MS	Divisão Nacional de Alimentos do Ministério da Saúde
Luz UV	Luz Ultravioleta
HPLC	High-performance liquid Chromatographic
TBARS	Substâncias que Reagem com o Ácido Tiobarbitúrico
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
r	Coefficiente de correlação
M	Média
DP	Desvio padrão
CV	Coefficiente de variação
p	Nível de significância
TBHQ	Terc Butil Hidroquinona (Tert-butylhydroquinone)
BHA	Butilato de hidróxianisol (butylated hydroxyanisole)
BHT	Butilhidroxitolueno (Butylated hydroxytoluene)
TOCO 70	GUARDIAN™ TOCO 70
RE	GUARDIAN® Rosemary Extract
OLI	Ovo líquido integral
OLIP	Ovo líquido integral pasteurizado
OIPA	Ovo integral em pó atomizado

LISTA DE SÍMBOLOS

KOH	Hidróxido de potássio
$^1\text{O}_2$	Oxigênio singlete
$^3\text{O}_2$	Oxigênio triplete
O_3	Ozônio
NO_x , NO, NO_2	Óxidos de nitrogênio
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1 OXIDAÇÃO DO COLESTEROL.....	19
2.1.1 Autooxidação.....	20
2.1.2 Peroxidação lipídica.....	22
2.1.3 Oxidação fotoquímica.....	24
2.2 EFEITOS BIOLÓGICOS DE ÓXIDOS DE COLESTEROL.....	25
2.3 CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS DO OVO.....	30
2.4 ESTABILIDADE OXIDATIVA DO COLESTEROL EM OVO.....	31
2.4.1 Óxidos de colesterol em ovo integral, ovo integral em pó, gema de ovo e gema de ovo em pó.....	31
2.4.2 Efeito do processamento e/ou armazenagem do ovo sobre a estabilidade oxidativa do colesterol.....	34
2.5 ANTIOXIDANTES.....	38
3 OBJETIVOS.....	41
3.1 OBJETIVO GERAL.....	41
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.1 REAGENTES.....	42
4.2 AMOSTRAS.....	42
4.2.1 Ovo líquido integral.....	43
4.2.2 Ovo líquido integral pasteurizado.....	43
4.2.3 Ovo integral em pó atomizado.....	43
4.2.4 Estabilidade oxidativa do colesterol em ovo integral em pó durante a armazenagem.....	45
4.2.5 Estabilidade oxidativa do colesterol em ovo integral em pó com adição de antioxidantes naturais durante a armazenagem.....	46
4.3 QUANTIFICAÇÃO DE LÍPIDES TOTAIS E UMIDADE.....	47
4.4 QUANTIFICAÇÃO DE COLESTEROL	48
4.5 QUANTIFICAÇÃO DE ÓXIDOS DE COLESTEROL LIVRES.....	48
4.6 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA USADA NA QUANTIFICAÇÃO DO COLESTEROL E ÓXIDOS DE COLESTEROL LIVRES.....	49

4.7 QUANTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS QUE REAGEM COM O ÁCIDO TIOBARBITÚRICO – TBARS.....	50
4.8 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	50
4.9 QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS	51
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	52
4.10.1 Avaliação do ovo líquido integral quanto à capacidade antioxidativa, à presença de compostos fenólicos e à estabilidade oxidativa do colesterol, em relação ao armazenamento (30 dias).....	52
4.10.2 Avaliação do processamento, armazenamento, e da adição de antioxidantes naturais comerciais em relação à estabilidade oxidativa do colesterol.....	53
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
5.1 UMIDADE, LÍPIDES TOTAIS, CAPACIDADE ANTIOXIDATIVA, FENÓLICOS TOTAIS, COLESTEROL E ÓXIDOS DE COLESTEROL DO OVO LÍQUIDO INTEGRAL OBTIDO DE MATÉRIA-PRIMA COM DOIS A TRÊS DIAS DE POSTURA E DEPOIS DE ARMAZENADA A 4°C, POR 30 DIAS.....	54
5.1.1 Umidade e lípides totais.....	54
5.1.2 Capacidade antioxidativa.....	55
5.1.3 Fenólicos totais.....	56
5.1.4 Colesterol.....	58
5.1.5 Óxidos de colesterol.....	59
5.2 AVALIAÇÃO DO OVO LÍQUIDO INTEGRAL, DO OVO LÍQUIDO INTEGRAL PASTEURIZADO E DO OVO INTEGRAL EM PÓ ATOMIZADO, PROCESSADOS EM LABORATÓRIO, E DO OVO INTEGRAL EM PÓ ATOMIZADO ARMAZENADO (0, 30, 60 E 90 DIAS), EM RELAÇÃO À ESTABILIDADE OXIDATIVA DO COLESTEROL.....	62
5.2.1 Umidade e lípides totais.....	62
5.2.2 Capacidade antioxidativa.....	64
5.2.3 Fenólicos totais.....	65
5.2.4 Óxidos de colesterol.....	66
5.2.5 Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico – TBARS.....	69
5.2.6 Avaliação do ovo integral em pó atomizado em relação à estabilidade oxidativa do colesterol durante o armazenamento.....	70
5.2.6.1 Umidade e lípides totais.....	70
5.2.6.2 Capacidade antioxidativa.....	71
5.2.6.3 Fenólicos totais.....	72
5.2.6.4 Óxidos de colesterol	73
5.2.6.5 Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico – TBARS.....	76

5.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ADIÇÃO DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS COMERCIAIS DURANTE O PROCESSAMENTO DO OVO INTEGRAL EM PÓ ATOMIZADO MANTIDO ARMAZENADO, EM RELAÇÃO À ESTABILIDADE OXIDATIVA DO COLESTEROL.....	77
5.3.1 Avaliação da estabilidade oxidativa do colesterol do ovo integral em pó atomizado adicionado ou não de sulfato de cobre, durante o armazenamento	78
5.3.2 Avaliação do antioxidante naturais adicionados ao ovo integral em pó atomizado antes e depois do processo de atomização, durante o armazenamento.....	81
6 CONCLUSÕES	89
REFERÊNCIAS.....	90
APÊNDICE.....	103

1 INTRODUÇÃO

Estudos envolvendo a oxidação do colesterol em alimentos têm sido motivados principalmente pelas importantes características biológicas de óxidos tóxicos formados, os quais interferem na morfologia e função da membrana celular, inibem a biossíntese do próprio colesterol e são aterogênicos, citotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos.

A ocorrência de colesterol é restrita quase que exclusivamente a produtos de origem animal. Um dos alimentos de maior conteúdo é o ovo localizado na gema, em cuja fração lipídica está presente em cerca de 5%. O ovo e seus produtos têm sido estudados devido à sua grande quantidade em colesterol e dos óxidos de colesterol (OsC) encontrados.

Em geral é considerado que em alimentos frescos não são detectados óxidos de colesterol e que sua ocorrência pode se dar durante o processamento (doméstico inclusive) e/ou armazenagem.

Em ovo em pó comercial ocorrem quantidades significativas de OsC, as quais têm sido associadas às elevadas temperaturas e tipo de aquecimento, empregados na atomização, e ao armazenamento inadequado subsequente do produto obtido. A formação adicional de OsC, durante o armazenamento do ovo em pó atomizado, é principalmente decorrente do uso de embalagens inadequadas, que permitem a presença de oxigênio, além do tempo e da temperatura inapropriados. Considerando o fato de o ovo em pó ser incorporado como matéria-prima na fabricação de alimentos, principalmente aqueles de largo consumo, a oxidação do colesterol poderá ter continuidade na dependência do processo tecnológico e armazenamento do produto final.

Há consenso, quanto ao fato de a formação de OsC em produtos de origem animal poder ser minimizada a partir de procedimentos considerados viáveis. São indicados o emprego de baixas temperaturas durante o processamento, processamento mínimo, embalagem impermeável ao oxigênio contendo atmosfera modificada protetora e armazenamento sob baixa temperatura e livre da ação da luz. Além disso, são indicadas a incorporação de antioxidantes à dieta dos animais,

aumentando o aporte antioxidante natural, assim como, a adição de antioxidantes ao produto final.

Mais do que minimizar a formação de óxidos de colesterol, importante é eliminá-la da cadeia produtiva de alimentos, conferindo a necessária segurança ao consumidor. Evidentemente é oportuno que questões como as apontadas sejam elucidadas através de estudos específicos. No presente trabalho, o ovo líquido integral, o ovo líquido integral pasteurizado e o ovo integral em pó atomizado, preparados em laboratório, foram estudados no contexto considerado.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 OXIDAÇÃO DO COLESTEROL

O colesterol está sujeito à oxidação. Sua estrutura química é formada por núcleos policíclicos (ciclopentano-per-hidrofenantreno) com quatro anéis fundidos entre si e uma cadeia alifática ramificada a partir do carbono 17 (C-17). Um grupamento hidroxila está fixado ao C-3, no anel A, e entre os carbonos 5 e 6, no anel B, ocorre uma dupla ligação (MAERKER, 1987; TAI; CHEN; CHEN, 1999) (Figura 1).

Figura 1 – Molécula de colesterol (TAI; CHEN; CHEN, 1999)

O C-4 (anel A) e C-7 (anel B) estando num mesmo plano, possuem igual oportunidade de ataque oxidativo, mas é no C-7 a posição mais comum onde se dão as reações de oxidação. O ataque oxidativo raramente ocorre no C-4 por causa do efeito de proteção vindo do C-3, através do grupo hidroxila, devido sua capacidade de esterificação com os ácidos graxos e alguma afinidade com o meio aquoso, e do grupo triacil substituído no C-5. Os carbonos terciários da cadeia lateral, C-20 e C-25, também são susceptíveis à oxidação (MAERKER, 1987; SMITH, 1990; 1996).

A oxidação do colesterol pode ser por reações enzimáticas e não-enzimáticas. As enzimáticas ocorrem no organismo e as reações não-enzimáticas em alimentos, pelos processos de autooxidação, peroxidação lipídica ou oxidação fotoquímica (SMITH, 1987; 1990; GUARDIOLA et al., 1995).

2.1.1 Autoxidação

O estudo da oxidação não-enzimática do colesterol foi realizado por modelos experimentais, onde o esterol é encontrado na forma cristalina, em solução ou dispersão aquosa. As duas últimas são as condições mais próximas nas quais o colesterol é encontrado nos alimentos (GUARDIOLA et al., 1995; SMITH, 1987; 1990).

O processo de iniciação no qual o colesterol reage com o oxigênio formando o radical livre não está totalmente esclarecido. O radical livre é sensível à oxidação pela molécula do oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) ou triplete ($^3\text{O}_2$), por superóxidos, peróxidos, radical hidroxila e ozônio (O_3). A autoxidação é a forma de oxidação do colesterol mais importante e melhor conhecida (MAERKER, 1987; SMITH, 1987; 1996).

Na maioria dos casos, a autoxidação do colesterol ocorre no C-7 alílico, na dupla ligação (C-5, do anel B), e na cadeia lateral (C-20 e C-25), estando o colesterol no estado sólido ou cristalino. Por outro lado, a oxidação da cadeia lateral não têm sido observada no estado líquido ou em dispersão aquosa (SMITH, 1987; MAERKER, 1987; NOUROOZ-ZADEH, 1990; ANSARI; SMITH, 1994; TAI; CHEN; CHEN, 1999).

A autoxidação quando ocorre no C-7, pela abstração do hidrogênio, forma o colesterol 7-radical, que reage com o oxigênio triplete ($^3\text{O}_2$), formando o colesterol 7-radical peroxila. Este último é estabilizado pela fixação de um hidrogênio, formando hidroperóxidos nas posições α e β , sendo o 7 β -hidroperóxido mais estável termodinamicamente que 7 α -hidroperóxido. Os hidroperóxidos α e β , sob aquecimento, formam o 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH) (Smith, 1990; 1996). O 7-cetocolesterol (7-ceto) pode ser formado pela subtração do grupo OH dos 7-hidroperóxidos, por desidratação, ou por desidrogenação do 7 α -OH e 7 β -OH (SMITH, 1990; 1996, TAI; CHEN; CHEN, 1999) (Figura 2).

Figura 2 – Formação de óxidos de colesterol (TAI; CHEN; CHEN, 1999)

A epoxidação se dá ao nível da dupla ligação, nos C-5 e C-6, como processo secundário dependente do 7-hidroperoxido ou outros produtos gerados na oxidação, formando os isômeros epóxidos 5,6α- e 5,6β- (SMITH, 1987; MAERKER, 1987). A autooxidação dos epímeros 5,6α- e 5,6β-epóxido do colesterol são formados no estado cristalino, em solução ou dispersão (MAERKER, 1987). Por hidratação dos epóxidos dá-se a formação do colestanoetriol (Triol) (SMITH, 1987) (Figura 2), um dos óxidos de maior toxicidade.

A autooxidação na cadeia lateral do colesterol ocorre com a participação do colesterol 7-radical, produzindo o colesterol 25-radical que, na presença do oxigênio

triplete ($^3\text{O}_2$), concorre para a formação do colesterol 25-hidroperóxido que por aquecimento, transforma-se em 25-hidroxicolesterol (25-OH). Essa reação ocorre igualmente no C-20 (MAERKER, 1987) (Figura 2).

2.1.2 Peroxidação lipídica

A oxidação lipídica em alimentos é um sério problema para as indústrias, devido ao desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, coloração escura e produtos potencialmente tóxicos proveniente de reações indesejáveis (ADDIS, 1996; SAKANAKA; TACHIBANA, 2006; HUR; PARK; JOO, 2007).

A autooxidação do colesterol é similar à oxidação que ocorre nos lípides. Pode ser pelo contato com o oxigênio ou devido a altas temperaturas, promovendo uma série de reações envolvendo radicais livres, formando peróxidos e outros produtos de degradação (MAERKER, 1987; SMITH, 1987).

O colesterol é oxidado por hidroperóxidos ou peróxidos cíclicos, produzidos durante a oxidação dos lípides, formando os mesmos OsC característicos da autooxidação do anel B do colesterol ($7\alpha\text{-OH}$, $7\beta\text{-OH}$, 7-ceto, $5,6\alpha\text{-epóxido}$, $5,6\beta\text{-epóxido}$ e Triol) (Figura 2) (GUARDIOLA et al., 1995).

Segundo SMITH (1987) a oxidação do colesterol em alimentos e em sistemas biológicos pode ser inter ou intramolecular. Na oxidação intermolecular o hidrogênio é extraído do colesterol por radicais oxil e peroxil de ácidos graxos polinsaturados (fosfolípides), iniciando o processo oxidativo. Na oxidação intramolecular, está se dá pelo ataque da porção acil sobre a colesteril, na mesma molécula do éster de colesterila.

A presença de ácidos graxos insaturados em produtos animais indica uma susceptibilidade desses produtos à deterioração oxidativa (HUR; PARK; JOO, 2007).

Para demonstrar a interação entre os triacilgliceróis e o colesterol, LI et al. (1994) estudaram a estabilidade oxidativa dos triacilgliceróis utilizando óleo de sardinha. Demonstraram que a estabilidade oxidativa estava relacionada com o grau de insaturação dos triacilgliceróis. O acúmulo de OsC coincidia com a diminuição

dos ácidos graxos polinsaturados. A redução do grau de insaturação foi efetiva no prolongamento do período de indução da oxidação do colesterol. Após esta fase não foi observado nenhum efeito.

LI, CHERIAN e SIM (1996) compararam a formação dos OsC em óleos de peixe, girassol e palma, todos adicionados com quantidades conhecidas de colesterol. Após 35 dias de estocagem foi observada maior formação de óxidos no óleo de peixe (133,1µg/g de OsC totais), rico em ácidos graxos polinsaturados, comparado com o de palma (4,1µg/g de OsC totais), rico em ácidos graxos saturados. Para o óleo de girassol foram encontradas 25,5µg/g de OsC totais. A diferença na formação dos OsC foi atribuída aos diferentes graus de insaturação dos triacilgliceróis dos óleos analisados.

KIM e NAWAR (1991) avaliaram o efeito dos triacilgliceróis ou ácidos graxos misturados com colesterol puro. Aqueceram (130°C) por períodos variáveis, e observaram que a presença do triacilglicerol, a gordura do leite, o ácido esteárico e o ácido linoleico aceleraram a oxidação do colesterol, sendo que os óxidos produzidos variaram quantitativamente entre os sistemas.

OSADA et al. (1993), estudaram o mesmo efeito na formação de OsC na presença de lípides (100°C/24 horas). Observaram que o colesterol era estável e essencialmente não produzia óxido quando aquecido isoladamente. O colesterol quando adicionado aos lípides tornava-se instável, principalmente se aquecido com os insaturados. Neste caso, o conteúdo de colesterol era reduzido e os óxidos gerados rapidamente.

OHSHIMA, LI e KOIZUMI (1993) prepararam amostras de colesterol com triacilgliceróis comparando com o colesterol puro. As amostras foram estocadas à temperatura ambiente (25°C) por 104 dias. Observaram que com o colesterol puro nenhum óxido foi formado; nas misturas preparadas, a partir do 24º dia de estocagem ocorria a formação de OsC.

KIM e NAWAR (1991) e OSADA et al. (1993), mencionados anteriormente, e OHSHIMA, LI e KOIZUMI (1993), concluíram que a peroxidação lipídica favorece a

oxidação do colesterol, sugerindo que o grau de insaturação dos lípides presentes nos alimentos pode influenciar nos tipos de óxidos formados.

2.1.3 Oxidação fotoquímica

A oxidação fotoquímica ocorre quando o colesterol é exposto à luz, na presença de oxigênio, levando à formação do oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), espécie eletronicamente excitada, gerado a partir do oxigênio molecular triplete ($^3\text{O}_2$), produzindo hidroperóxidos que iniciam o processo oxidativo (SMITH, 1990; TAI; CHEN; CHEN, 1999).

A oxidação fotoquímica com a participação do oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) produz hidroperóxidos nos C-5 e C-6. As reações fotosensitizadoras ocorrem em alimentos envolvendo, por exemplo, pigmentos naturais com estrutura porfirínica (clorofilas, mioglobinas) ou flavinas, absorvendo a energia (SMITH, 1987; 1990). Pode ocorrer também a oxidação fotoquímica no C-7, formando hidroperóxidos que se decompõem dando lugar ao 7α -OH e 7-ceto (GUARDIOLA et al., 1995).

O colesterol presente na pele ou no cabelo exposto à luz e ao ar atmosférico pode ser oxidado fotoquimicamente como nos alimentos, produzindo OsC também a partir do C-5 e C-6 (anel B) (SMITH, 1990) (Figura 2).

VAN de BOVENKAMP, KOSMEIJER-SCHUIL e KATAN (1988) demonstraram, em gema de ovo em pó irradiada com luz UV (254nm), por três semanas, aumento no total de OsC, de 121,8 a $4.151\mu\text{g/g}$, quando o produto foi estocado em condições de abuso, por quatro anos, à temperatura ambiente, e então exposto à luz UV. LUGASI et al. (1995) estudaram o efeito da luz UV na peroxidação de lípides. Concluíram que a luz UV gera radicais livres e peróxidos, e sua exposição por um longo período de tempo (6h), apresentou um decréscimo considerável dos tocoferóis em óleos e margarinas.

2.2 EFEITOS BIOLÓGICOS DE ÓXIDOS DE COLESTEROL

O colesterol é necessário para construir e manter as membranas celulares; regulando a fluidez e a permeabilidade. O colesterol também ajuda na fabricação da biliar auxiliando na digestão das gorduras, e também é importante para o metabolismo das vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K). O colesterol é o principal precursor para a síntese de vitamina D e de vários hormônios esteróides e sexuais (HUR; PARK; JOO, 2007).

Os óxidos de colesterol podem atingir a circulação sanguínea como contaminantes através dos alimentos (LIN; MOREL, 1996), e a consequência toxicológica disso depende da biodisponibilidade individual de cada óxido (LINSEISEN; WOLFRAM, 1998(a),(b)).

Estudos mostram que OsC podem ser absorvidos por animais. Em ratos e coelhos, os óxidos presentes na dieta são absorvidos pelo intestino e encontrados nos quilomícrons e lipoproteínas (BASCOUL et al. 1986; PENG; HU; MORIN, 1991; VINE et al., 1997; OSADA; SASAKI, 1994; OSADA, 2002 (a)).

Em estudos feitos em ratos, BASCOUL et al. (1986) constataram uma alta variação na absorção de OsC, ou seja, de 90% para o Triol e 5,6 α -epóxido colesterol, e 6% para o total dos óxidos. OSADA e SASAKI (1994) avaliaram a absorção linfática dos OsC em ratos, 24 horas após sua administração. Encontraram para o total de óxidos de colesterol uma absorção de 30%, contra 67% verificada para o colesterol. Os óxidos que apresentaram maiores taxas de absorção foram o 7 β -OH, 5,6 β -epóxido e 7 α -OH, 42%, 32% e 30%, respectivamente. Os com menores taxas foram o 5,6 α -epóxido, Triol e 7-ceto, respectivamente 27,5%, 15% e 12%.

VINE et al. (1998) estudaram a distribuição de OsC no plasma e lipoproteínas ricas em triglicerídeos, em coelhos. No grupo com colesterol oxidado adicionado à dieta, a quantidade de OsC nas lipoproteínas ricas em triglicerídeos foi duas vezes maior em relação à dieta controle ou dieta enriquecida com colesterol não-oxidado. O 7-ceto e o 5,6 α -epóxido foram encontrados em ambos os grupos, mas a maior concentração ocorreu no grupo alimentado com colesterol oxidado.

Para o grupo suplementado com colesterol não-oxidado houve o aumento do colesterol plasmático, e para o alimentado com colesterol oxidado ocorreu aumento do colesterol na parede arterial. Os autores sugeriram que OsC sejam pró-aterogênicos por aumentarem a aterogenicidade das lipoproteínas ricas em triglicerídeos.

Os OsC também podem ser absorvidos pelo homem, pelos mesmos mecanismos dos animais, através do intestino, e incorporados ao quilomicrom e demais lipoproteínas (PENG; HUR; MORIN, 1991; OSADA; SASAKI, 1994; VINE et al., 1997).

LINSEISEN e WOLFRAM (1998a) analisaram a absorção de OsC em cinco indivíduos, depois do consumo de queijo parmesão e salame ricos nestes compostos. As concentrações dos OsC foram medidas no plasma e lipoproteínas durante 9 horas. Houve variação individual nas quantidades de OsC livres no plasma, com picos entre 3 horas (7-ceto, 5,6 α -epóxido e Triol) e 5 horas (7 α -OH, 7 β -OH, 5,6 β -epóxido e 25-OH) após ingestão. Os OsC totais mostraram pouca variação depois de 6 horas do consumo, e até um máximo de 8 horas, indicando absorção comparável à do colesterol. Para os OsC individuais, tanto livres como esterificados, houve aumento significativo para o 7 α -OH e 7 β -OH, após 8 horas, e 7-ceto, depois de 6 horas. Os autores constataram que mais de 90% dos OsC medidos estavam na forma esterificada.

Foi evidenciado que os OsC no organismo são susceptíveis a reações de esterificação. A esterificação regula a associação do colesterol e OsC com proteínas do plasma, e influencia sua distribuição nas células e tecidos. Os OsC esterificados podem ser encontrados em todas as lipoproteínas do plasma, enquanto o colesterol e os OsC livres estão mais associados à albumina, estando os últimos facilmente disponíveis em relação à célula (LIN; MOREL, 1996).

Vários autores estudaram as consequências toxicológicas dos OsC, devido aos efeitos adversos à saúde humana. Particularmente, têm sido relatadas algumas evidências dos óxidos de colesterol e sua correlação com os processos citotóxicos, aterogênicos, mutagênicos e carcinogênicos (SMITH; JOHNSON, 1986; SEVANI; SEVANI, 1996).

PETERSON, 1986; PENG; HU; MORIN, 1991; GUARDIOLA et al., 1996; OTHANI et al., 1996; 1997; BROWN; JESSUP, 1999; OSADA, 2002 (a)).

Existem evidências experimentais de que os óxidos comumente encontrados nos alimentos, 7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH, 5,6 β -epóxido, 5,6 α -epóxido, 25-OH e Triol, são citotóxicos e aterogênicos (IMAI et al., 1976; 1980; TAYLOR et al., 1979; PENG; HU; MORIN, 1991). Por apresentarem uma estrutura semelhante a do colesterol, os OsC podem substituí-lo na membrana celular, afetando a fluidez, permeabilidade, estabilidade e função desta última, provocando mudanças na morfologia da célula. Os OsC afetam a estrutura estéreo-química das proteínas e fosfolipídios, alterando as características da membrana (SEVANIAN; PETERSON, 1986; SMITH; JOHNSON, 1989).

A citotoxicidade dos OsC é manifestada diminuindo as funções de diferentes tipos de células, tais como as endoteliais, macrófagos, músculo liso, fibroblastos e linfócitos (SMITH; JOHNSON, 1989).

OTHANI et al. (1996) avaliaram o efeito do 7-ceto e colesterol em hepatócitos de ratos, tratados com 100 μ M de cada substância. Constataram difusão nas membranas dos hepatócitos em relação ao 7-ceto; o mesmo não foi observado quanto ao colesterol.

IMAI et al. (1976) administraram colesterol oxidado em coelhos, por via oral (0 a 250mg/Kg de peso corpóreo). Verificaram o desenvolvimento de lesões degenerativas e necróticas em células musculares lisas. TAYLOR et al. (1984) administraram OsC (7-ceto, 5,6 α -epóxido, 5,6 β -epóxido, 25-OH e Triol) individualmente em coelhos, observando a presença do 25-OH e Triol nas células do músculo liso; esses óxidos foram os responsáveis pelo maior número de células mortas observadas.

SEVANIAN e PETERSON (1986) estabeleceram a toxicidade de OsC com base no aumento da esclerose e lise das células de embrião do *hamster* chinês. Os autores verificaram a citotoxicidade do Triol, 7-ceto, 5,6 α -epóxido e 5,6 β -epóxido, sendo o Triol e o 7-ceto os mais tóxicos.

A aterogenicidade é o efeito biológico mais estudado. Os OsC alteram a permeabilidade vascular do endotélio, aumentando a penetração de diferentes componentes do plasma, como íons, LDL (lipoproteínas de baixa densidade) ou quilomícrons remanescentes (PENG; HU; MORIN, 1991). Inibem a síntese da prostaciclina, essencial à integridade vascular favorecendo a agregação plaquetária e a formação de trombos (GUARDIOLA et al., 1996). Inibem também a hidroximetilglutaril-CoA redutase (HMG-CoA redutase), diminuindo a síntese do colesterol endógeno (SMITH; JOHNSON, 1989). Além disso, acumulam éster de colesterila em macrófagos e células espumosas, desencadeando o processo aterosclerótico (PENG; HU; MORIN, 1991; GUARDIOLA et al., 1996; LEONARDUZZI; SOTTERO; POLI, 2002; RHO et al., 2005).

LYONS et al. (1999) avaliaram o metabolismo hepático do 7-ceto em ratos e suas implicações com dietas contendo OsC. Constataram que, após 9 horas da injeção na veia jugular, o éster de [¹⁴C]7-ceto apresentou um decréscimo de 10% no fígado e 36% estava presente no intestino. Em contrapartida, 38% do [³H]colesterol foi evidenciado no fígado e somente 5% encontrado no intestino. Ficou claro então que o 7-ceto foi rapidamente metabolizado e excretado pelo fígado. Os autores consideraram que a dieta possa não ser a origem dos OsC presentes na placa aterosclerótica, tendo pequena ou nenhuma contribuição na aterogênese.

STAPRANS et al. (2003) estudaram a oxidação do colesterol em dietas administradas em pessoas (n=6) de uma família “hiperlipoproteinemia Tipo III¹”. As amostras de sangue foram colhidas a cada 2 horas, num total de 10 horas, e foi quantificado a formação do α -epóxido no plasma. Os autores concluíram que o α -epóxido adicionado à dieta foi incorporado nas frações quilomícrons/quilomícrons remanescentes e então transferidos para a LDL e HDL (Lipoproteínas de baixa e alta densidade, respectivamente) contribuindo para a oxidação lipoproteica. Dietas com OsC podem acelerar a aterosclerose, devido ao aumento dos níveis desses óxidos que circulam com a LDL e os quilomícrons remanescentes.

¹Forma um pouco incomum de hiperlipidemia familiar caracterizada pela presença de lipoproteínas de composição anormal. As lipoproteínas anormais principais são chamadas beta-VLDL e possuem um conteúdo de apoproteína diferente e uma proporção maior de colesterol relativa aos triglicerídeos, que o VLDL normal (PDAMED, 2007).

RIMMER et al. (2005) estudaram o mecanismo da arteroesclerose em pacientes (n=22) com quadro de aterogenicidade estável, usando como controle pacientes (n=20) com riscos de contrair a doença. Os OsC analisados foram o 7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH, 5,6 α -epóxido, 5,6 β -epóxido e 25-OH além do colesterol. Os resultados obtidos para os OsC totais livres no plasma foram de $233 \pm 49 \times 108 \pm 19$ ng/mL para o grupo controle, $p < 0,05$. Os autores consideraram que esse aumento pode ser devido aos valores encontrados de 7-ceto e do isômero β -epóxido ($25,7 \pm 10,0 \times 7,3 \pm 1,4$ ng/ml, para o grupo controle, $p=0,07$) e 7 β -OH ($65,7 \pm 15,7 \times 19,4 \pm 8,9$ ng/ml, para o grupo controle, $p < 0,01$). Os valores encontrados para os β -isômeros foram maiores comparados aos dos α -isômeros. Esses resultados foram independentes dos níveis encontrados de LDL no plasma. O aumento da citotoxicidade dos OsC β -isômeros *in vitro* representam um importante fator de risco aterogênico.

RHO et al. (2005) analisaram as células arteriais vasculares do músculo liso (CAVML) que, sob condições fisiológicas normais, são resistentes à morte. No entanto, quando ocorreu alteração da via do receptor imediato da CAVML, foram constatadas lesões ateroscleróticas. Neste estudo foi investigado o comportamento do 7-cetocolesterol analisando a produção de ATP (adenosina trifosfato) e o potencial mitocondrial da CAVML. Os pesquisadores demonstraram que as células arteriais vasculares do músculo liso são induzidas à morte em presença de 7-ceto, pela sua contribuição à vulnerabilidade da placa, aumentando o risco de sua ruptura.

SPITELLER (2006) evidenciou em seus estudos que as células são sensíveis ao oxigênio por apresentarem em sua camada mais externa ácidos graxos polinsaturados sob a forma de fosfolípidos, facilitando a oxidação lipídica. A oxidação lipídica facilita a formação de doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, e cardiovasculares além de outras relacionadas com a idade avançada.

Em relação à ação mutagênica e carcinogênica de OsC, as pesquisas não evoluíram nos últimos tempos (LINSEISEN; WOLFRAN, 1998a; GUARDIOLA et al., 1996). Alguns estudos haviam mostrado que misturas de OsC possuíam efeito

mutagênico sobre a *Salmonella typhimurium* (SMITH, 1987), não confirmados posteriormente em células bacterianas ou de mamíferos (SMITH; JOHNSON, 1989).

2.3 CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS DO OVO

Sob o aspecto nutricional o ovo é um dos alimentos considerados importante para a dieta humana, por veicular nutrientes essenciais (proteínas, lípides, vitaminas e minerais). Sob o ponto de vista da propriedade antioxidativa natural, a gema reúne as vitaminas A, D, E e K, mas não apresenta em sua composição a vitamina C, (SOUSA-SOARES; SIEWERDT, 2005).

A ocorrência de colesterol é restrita quase que exclusivamente a produtos de origem animal. O ovo é entre os alimentos o de maior conteúdo em colesterol, localizado na gema, em cuja fração lipídica compõe cerca de 5%. Na Tabela 1 consta a composição do ovo integral, ovo integral em pó, gema de ovo e gema de ovo em pó. Na Tabela 1, consta a composição do ovo integral, ovo integral em pó, gema de ovo e gema de ovo em pó

Tabela 1 – Composição do ovo (g/100g) e produtos derivados*

	Ovo integral	Ovo integral em pó	Gema de ovo	Gema de ovo em pó
Umidade	71,9 - 75,8	3,1- 4,2	52,1	2,95 - 4,66
Proteína	12,0 - 13,9	44,0 - 47,4	16,6	30,5 - 34,3
Carboidrato	0,3 - 1,6	4,78 - 9,0	3,59	0,39 - 3,6
Lípides	8,9 - 11,8	38,0 - 43,8	28,7	55,8 - 61,3

* FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (2002); UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2006, UNITED STATES, 2009, UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2010.

A ocorrência de colesterol é restrita quase que exclusivamente a produtos de origem animal. O ovo é, entre os alimentos, considerado o de maior conteúdo em colesterol, localizado na gema, em cuja fração lipídica compõe cerca de 5%. Conteúdos de colesterol em vários alimentos constam apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Conteúdo de colesterol em alimentos (mg/100g)

Leite	14
Manteiga	215
Queijo	70 – 100
Frango	75
Carne	60 – 80
Pescado	50 – 80
Ovo integral	300 – 370
Ovo integral em pó	929 – 1410
Gema em pó	1843 – 2312
Gema de ovo em pó	1234

UNITED STATES, 2009; BRAGAGNOLO; RODRIGUEZ-AMAYA (2003); PIE; SPAHIS; SEILLAN (1990); SARANTINOS; O'DEA; SINCLAIR. (1993); TENUTA-FILHO et al. (2003)

O ovo tem um papel importante como matéria prima industrial por causa de suas propriedades funcionais tais como: coagulante, aglutinantes, espumante, anti-cristalizante e emulsionantes (AYADI et al., 2008; MINE, 2008).

O ovo é um alimento com características funcionais significativas atribuídas à presença de certos componentes antioxidantes, como os carotenóides. O β -caroteno confere maior rigidez às membranas lipídicas. A suplementação de dietas com xantofila (pigmento amarelo) resultou em aumento da pigmentação da gema e retardamento na oxidação lipídica. A luteína e a zeaxantina também são protetores antioxidantes lipídicos (SURAI; SPARKS, 2001; MINE, 2008).

2.4 ESTABILIDADE OXIDATIVA DO COLESTEROL EM OVO

2.4.1 Óxidos de colesterol em ovo integral, ovo integral em pó, gema de ovo e gema de ovo em pó

O ovo e seus produtos têm sido estudados extensivamente pela sua grande quantidade de colesterol e de OsC encontrados por influência do processamento e/ou da armazenagem (HUBER; PIKE; HUBER, 1995; LAI et al., 1995; SANDER et al., 1989).

Muitos OsC têm sido identificados (TAI; CHEN; CHEN, 1999), sendo oito deles os mais frequentemente encontrados em alimentos, o 7-cetocolesterol (7-ceto), 20-hidroxicolesterol (20-OH), 25-hidroxicolesterol (25-OH), 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH), colesterol-5,6 α -epóxido (5,6 α -epóxido), colesterol-5,6 β -epóxido (5,6 β -epóxido) e colestanoltriol (Triol) (ADDIS, 1996; LERCKER; RODRIGUEZ-ESTRADA, 2000; PIE; SPAHIS; SEILLAN, 1990; TAI; CHEN; CHEN, 1999), cuja formação está representada na Figura 2.

Os alimentos frescos de origem animal apresentam traços ou quantidades de óxidos não-detectáveis (SARANTINOS; O'DEA; SINCLAIR, 1993; NOUROOZ-ZADEH; APPELQVIST, 1987). A estabilidade do colesterol no caso do ovo fresco é atribuída ao fato de os lípides estarem na gema, sendo esta envolvida pela clara, e ambas protegidas pela casca, prevenindo o contato com o oxigênio atmosférico, além dos antioxidantes naturais presentes. Em ovo líquido fresco a maior quantidade de óxido encontrada foi de 2 μ g/g de 7-ceto (TAI; CHEN; CHEN, 1999; GUARDIOLA et al., 1994; ZUNIN et al., 1995). Em gema de ovo fresca foi de 2,79 μ g/g em relação ao 7 α -OH (TENUTA-FILHO et al., 2003; NOUROOZ-ZADEH; APPELQVIST, 1987; VAN de BOVENKAMP; KOSMEIJER-SCHUIL; KATAN, 1988; NOUROOZ-ZADEH, 1990; SARANTINOS; O'DEA; SINCLAIR, 1993).

O ovo é usado diretamente como alimento na forma frita, cozida ou como ingrediente, ou seja, como matéria-prima na produção de outros alimentos (TAI; CHEN; CHEN, 1999). TSAI e HUDSON (1985) reportaram que ambos os epóxidos (5,6 α - e 5,6 β -) em ovo em pó e em gema de ovo em pó geralmente são formados em maiores quantidades durante o processamento comercial, por atomização, ao contrário de outros óxidos (7 α -OH, 7 β -OH, 7-ceto, 25-OH e Triol), opostamente ao observado por NOUROOZ-ZADEH e APPELQVIST (1987), e por MEDINA, 2010, que não encontrou o efeito da atomização na produção de óxidos.

Diversos estudos têm relatado a formação de OsC em produtos de ovo integral em pó e gema de ovo em pó obtidos por atomização (TAI; HUDSON, 1985; PIE; SPAHIS; SEILLAN, 1990; MORGAM; ARMSTROMG, 1992; SARANTINOS; O'DEA; SINCLAIR, 1993; HUBER; PIKE; HUBER, 1995; ZUNIN et al., 1995; LAI et

al., 1995; GUARDIOLA et al., 1997; LERCKER; RODRIGUEZ-ESTRADA, 2000; TENUTA-FILHO et al., 2003;), com resultados variando bastante. Em ovo em pó: 7-ceto (0,33 a 22,43µg/g); 7 α -OH (0,47 a 34,38 µg/g); 7 β -OH (0,56 a 43,47 µg/g); 25-OH (0,065µg/g); 5,6 α -epóxido (0,21 a 47,27µg/g); 5,6 β -epóxido (0,55 a 62,67µg/g) e o triol (0,058µg/g). Em gema de ovo em pó: 7-ceto (3,5 a 110,54µg/g); 7 α -OH (43,15 µg/g); 7 β -OH (12,2 a 47,35 µg/g); 25-OH (112,67µg/g); 5,6 α -epóxido (22,0 a 64,1µg/g); 5,6 β -epóxido (22,0 a 68,5µg/g) em relação ao peso da amostra. Fatores relativos à atomização, às altas temperaturas de entrada e saída do processo e o tipo de atomizador, com aquecimento direto (gás) ou indireto (elétrico), facilitaram a formação dos OsC.

SANDER et al. (1989) quantificaram em ovo em pó o 7 β -OH (22 a 65ppm), 7-ceto (12 a 37ppm), 25-OH (8 a 10ppm), 5,6 α -epóxido (12 a 111ppm), 5,6 β -epóxido (5 a 46ppm) e Triol (2 a 6ppm). Em gema de ovo em pó detectaram 7 β -OH (5ppm), 7-ceto (22ppm), 25-OH (2ppm), 5,6 α -epóxido (79ppm) e 5,6 β -epóxido (28ppm).

PENAZZI et al. (1995) determinaram a quantidade de 7-ceto livre em ovo integral em pó de 20,2 – 61,8 µg/g de lípides. RAZZAZI-FAZELI, KLEINEISEN e LU, (2000) encontraram em ovo em pó os óxidos 7 α -OH (0,47µg/g), 7 β -OH (0,56µg/g), 7-ceto (0,33µg/g), 25-OH (0,065µg/g), Triol (0,058µg/g), 5,6 α -epóxido (0,21µg/g) e 5,6 β -epóxido (0,55µg/g).

ESCARABAJAL e TENUTA-FILHO (2005a), avaliaram a presença de 7-ceto livre em ovo integral em pó em três lotes distintos de cada uma das cinco marcas ensaiadas, com 15 a 120 dias de fabricação. Encontraram em média 84,01 $\pm$ 5,34 µg/g de lípides. MAZALLI et al. (2006) quantificaram óxidos de colesterol em ovo em pó comercial, cujas amostras foram estocadas na ausência de luz e à temperatura ambiente (25 $\pm$ 2°C). Foram encontrados (µg/g) para o 7-ceto, 2,5 $\pm$ 0,38 µg/g para o 7 α -OH, 5,18 $\pm$ 0,50 µg/g para o 7 β -OH, 6,17 $\pm$ 0,88 µg/g para o 5,6 α -epoxi, 9,73 $\pm$ 1,09 µg/g e 17,63 $\pm$ 1,87 µg/g para o 5,6 β -epoxi, de acordo com os autores, os valores obtidos foram mais baixos que os encontrados na literatura, podendo essa diferença

ter sido devida aos diferentes parâmetros utilizados nos processos de atomização, bem como às diferentes metodologias utilizadas para a determinação dos óxidos.

2.4.2 Efeito do processamento e/ou armazenagem do ovo sobre a estabilidade oxidativa do colesterol

A oxidação do colesterol em alimentos pode ocorrer motivada por vários fatores durante o processamento e/ou armazenagem, conforme afirmado antes. O grau de formação dos OsC irá depender da temperatura e tempo de exposição ao calor, condições de armazenagem e embalagem (PANIANGVAIT et al., 1995; TAI; CHEN; CHEN, 2000; MAZZALI; BRAGAGNOLO, 2007; HUR; PARK; JOO, 2007).

A atomização de ovos por processos industriais utiliza altas temperaturas de entrada, geralmente entre 121-232 °C (MINE, 2008). AYADI et al. (2008) estudaram o efeito de condições moderadas de atomização sobre as propriedades da clara e do ovo, trabalhando com temperaturas de entrada moderadas, de 110 a 125°C. Foi mostrado que tais condições representavam uma alternativa conveniente, por permitir obter produtos desidratados com apreciável funcionalidade quanto às propriedades reológicas.

SARANTINOS, O'DEA e SINCLAIR (1993) reportaram que o tempo de cocção aumenta a concentração dos OsC em ovos. Submetido à fritura, nos tempos de 1 e 2 minutos, os totais de OsC formados foram de $8,4 \pm 2,0$ e $12,4 \pm 2,1$ mg/100g, respectivamente. No ovo cozido em água fervente por 3 e 10 minutos foram detectados $12,8 \pm 1,3$ mg/100g e $20,3 \pm 3,1$ mg/100g de óxidos totais, respectivamente.

Vários produtos alimentícios com baixo conteúdo de umidade são produzidos utilizando altas temperaturas para desidratação, facilitando assim a formação de OsC, principalmente quando o nível de colesterol é elevado. A desidratação por liofilização é uma alternativa para a substituição de altas temperaturas em processos que a utilizam, prevenindo assim a formação de OsC. No entanto, por causa do alto custo, essa técnica não é empregada comercialmente com frequência na produção de alimentos desidratados (TAI; CHEN; CHEN, 2000).

Em diversos estudos tem sido relatada a formação de OsC em produtos de ovo integral em pó, obtido por atomização (HUBER; PIKE; HUBER, 1995; SANDER et al., 1989; GUARDIOLA et al., 1997; ZUNIN et al., 1995; SARANTINOS; O'DEA; SINCLAIR, 1993; LAI et al., 1995). Fatores relativos à atomização, à temperatura do processo e tipo de atomizador facilitam a formação do OsC.

TSAI e HUDSON (1985) quantificaram o α e β -epóxido, avaliando o efeito da atomização do ovo, submetido ao aquecimento do ar indireto (elétrico) e direto (gás). Constataram que, com o aquecimento direto, ocorreu maior formação dos dois OsC, 8 a 311ppm, e com o indireto, de não-detectado a 8ppm. A maior formação de óxidos pelo aquecimento direto, pode ter sido devida à produção de mono e dióxidos de nitrogênio (NO, NO₂), durante a combustão do gás, atuando na autooxidação do colesterol.

MORGAM e ARMSTROMG (1992) quantificaram o 7 α -OH, 7 β -OH, 5,6 α -epóxido, 5,6 β -epóxido e 7-ceto, em gema de ovo, analisando o efeito da atomização por aquecimento direto do ar (gás). Na temperatura de 150°C, a concentração dos óxidos totais foi de 75 e 213 μ g/g, na presença de 5 e 300 μ g/g de NO_x, respectivamente.

LAI et al. (1995) prepararam ovo em pó a partir do ovo líquido, por desidratação indireta (aquecimento elétrico) e direta do ar (aquecimento a gás), embalando os produtos em sacos plásticos (*polyetyhilene-laminated nylon*) sob vácuo. Foram analisados o 5,6 α -epóxido, 5,6 β -epóxido, 7 α -OH, 7 β -OH e 7-ceto. A concentração total dos OsC encontrada no produto obtido por aquecimento indireto do ar foi de 8,57 μ g/g e no submetido ao aquecimento direto do ar 14,36 μ g/g. Concluíram pela presença de radicais livres gerados durante o processo de combustão (NO_x) como responsáveis pelo aumento dos óxidos formados, confirmando os resultados de TSAI e HUDSON (1985) e MORGAM e ARMSTROMG (1992).

GUARDIOLA et al. (1997) estudaram a armazenagem do ovo integral em pó produzido por atomização com aquecimento elétrico do ar, embalado em sacos plásticos (cinco lâminas de polipropileno), submetido ou não a vácuo, protegido ou

não da incidência de luz, e à temperatura ambiente. A amostra recém produzida (controle) tinha níveis de 7-ceto e 7 β -OH em maiores quantidades, 10,35 e 12,77 μ g/g, respectivamente, e um somatório dos óxidos de 30,83 μ g/g, incluindo o α -epóxido, Triol e 25-OH. As interações entre o tempo de armazenagem, embalagem e o processamento influenciaram na formação dos OsC.

KITAHARA (2004) pesquisou o efeito do processamento e da armazenagem sobre a formação de óxidos de colesterol em ovos. A matéria-prima foi armazenada em diferentes condições: 30 dias/8°C, quando em casca, 7 dias/8°C, estando pasteurizado, e 180 dias/28°C, tendo sido liofilizado ou atomizado. A oxidação do colesterol foi monitorada por meio do 7 α -OH, 7 β -OH, 7-ceto e 25-OH sendo concluído que tanto o processo de liofilização como a atomização influenciaram na oxidação do colesterol.

ESCARABAJAL e TENUTA-FILHO (2005a) quantificaram o 7-ceto livre e TBARS (substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico) em ovo integral em pó comercial durante 224 dias de armazenagem, mantido em saco plástico de polipropileno, à temperatura ambiente (12-29°C) e na presença de luz. Os valores encontrados para 7-ceto livre foram de 76,88 $\pm$ 5,59 μ g/g de lípides no tempo zero, a 82,76 $\pm$ 2,22 μ g/g de lípides ao final do experimento. As TBARS variaram de 0,37 $\pm$ 0,15 a 2,06 $\pm$ 0,19 mg AM/Kg, respectivamente. Ficou evidente a oxidação do colesterol durante a armazenagem, uma correlação significativa ($r = 0,8093$) pôde ser verificada entre o referido óxido e as TBARS, medidas como aldeído malônico.

CABONI et al. (2005) estudaram o efeito da armazenagem do ovo em pó, durante 12 meses, analisando o 7 α -OH, 7 β -OH, 5,6 α -epóxido, 5,6 β -epóxido, triol e 7-ceto, a cada 3 meses. O somatório dos OsC encontrados foram de 44,5 a 65,4 μ g/g de lípides e de 63,4 a 161,3 μ g/g de lípides com o armazenamento do produto a 4°C e a 25°C, respectivamente. Com o aumento significativo da oxidação do colesterol durante a estocagem, ficou clara a necessidade de efetivo controle da qualidade para o produto.

MEDINA (2005) analisou o efeito da radiação ionizante nas doses 0 a 3 KGy sobre a estabilidade oxidativa do colesterol, em ovo integral e gema de ovos. As

amostras foram analisadas após 01 e 31 dias (mantidas a 4°C) de procedida a irradiação, como também depois de 01 dia de terem sido irradiadas com doses de 3 kGy e processadas termicamente, por cocção (ovo integral) e fritura (gema) . Os valores obtidos pela somatória dos OsC (7 α -OH, 7 β -OH, 7-ceto e 25-OH) foram expressos em $\mu\text{g/g}$ de matéria seca. Os valores encontrados nas amostras controle foram: $71,52 \pm 3,71$, $75,08 \pm 4,60$, $79,59 \pm 10,24$ e $75,15 \pm 5,82$ $\mu\text{g/g}$ nas radiações 0; 1; 2 e 3 Kgy, respectivamente, após 30 dias foram: $85,24 \pm 7,60$, $78,35 \pm 4,98$, $95,02 \pm 13,90$ e $98,67 \pm 11,22$ $\mu\text{g/g}$. A autora concluiu que o somatório dos OsC não apresentaram variação significativa, como resultado da irradiação sofrida. Houve, porém, aumento significativo em todos os tratamentos após o armazenamento.

ESCARABAJAL e TENUTA-FILHO (2005b) quantificaram o colesterol e o 7ceto livre em 11 marcas de macarrão contendo ovos comercial encontrando $11,06 - 155,88$ mg/100g e $30,49 - 157,25$ $\mu\text{g/g}$ de lípides, respectivamente. Em duas amostras submetidas ou não (controle) a aquecimento (água fervente contendo 2% de sal, por 7 a 8 min), o 7-ceto livre encontrado foi $69,06 \pm 6,68 - 148,72 \pm 15,76$ $\mu\text{g/g}$ de lípides (controle) e $83,02 \pm 11,57 - 158,67 \pm 7,25$ $\mu\text{g/g}$ de lípides (cozidas). A quantificação do colesterol revelou que o mesmo estava abaixo do que a legislação vigente exige (BRASIL, 1978).

OBARA, OBIEDZINSKI e KOLCZAK (2006) avaliaram o efeito da atividade de água sobre a oxidação do colesterol, em ovo em pó e gema em pó comerciais, obtidos por atomização e liofilização. As amostras foram adicionadas de água (0, 8 e 12%), embaladas em sacos plásticos e mantidas por 3 meses, à temperatura ambiente e no escuro. Foi constatado maior aumento de óxidos de colesterol em gema de ovo em pó, mesmo com baixa atividade de água. Foi visto ainda um maior aumento dos OsC totais em ovo integral em pó comparado à gema em pó, independentemente do processamento utilizado. Foi concluído que a baixa umidade (máximo de 4,05%), ovo em pó e gema de ovo em pó, tiveram influencia no acúmulo dos OsC durante o armazenamento.

MAZALLI e BRAGAGNOLO (2007) estudaram o efeito da armazenagem de ovo integral em pó [a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, na ausência de luz, durante 6 meses (amostra A) e 12 meses (amostra B)], na formação de OsC (7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH, 5,6 α -epoxi e

5,6 β -epoxi) e as alterações na composição dos ácidos graxos. As quantidades médias de OsC encontradas na amostra A foram: 13 ± 8 $\mu\text{g/g}$ de 7-ceto, 19 ± 10 $\mu\text{g/g}$ de 7 β -OH, 17 ± 10 $\mu\text{g/g}$ de 7 α -OH, 14 ± 4 $\mu\text{g/g}$ de 5,6 α -epoxi e 30 ± 9 $\mu\text{g/g}$ de 5,6 β -epoxi, enquanto na amostra B: 15 ± 12 $\mu\text{g/g}$ de 7-ceto, 26 ± 13 $\mu\text{g/g}$ de 7 β -OH, 21 ± 8 $\mu\text{g/g}$ de 7 α -OH, 20 ± 10 $\mu\text{g/g}$ de 5,6 α -epoxi e 41 ± 22 $\mu\text{g/g}$ de 5,6 β -epoxi. Foi observado aumento dos OsC durante a armazenagem, simultaneamente redução dos ácidos graxos polinsaturados e a presença de ácidos graxos trans em grandes quantidades.

2.5 ANTIOXIDANTES

A prevenção da oxidação do colesterol e de ácidos graxos do ovo é importante para preservar qualidades essenciais desse alimento, as quais podem ser afetadas durante o processamento (e/ou preparação doméstica) e/ou armazenamento. Alguns antioxidantes podem ser adicionados ao ovo ou por suplementação da dieta das aves, por exemplo, com ácidos graxos polinsaturados (ω -3), vitaminas (carotenóides, vitamina E) e minerais (selênio) (SURAI; SPARKS; 2001).

LAI et al. (1995) avaliaram a capacidade antioxidante do extrato de alecrim e do TBHQ (butilhidroquinona terciária) na prevenção da oxidação do colesterol do ovo em pó. O alecrim (500 $\mu\text{g/g}$ de lípidos) dificultou a formação dos OsC durante o processamento e armazenamento do produto, assim como o TBHQ. Foi cogitado ter havido volatilização dos antioxidantes durante o aquecimento usado no processamento e durante o armazenamento, reduzindo assim, a eficiência dos mesmos.

HUBER, PIKE e HUBER (1995) demonstraram a prevenção na formação dos OsC em gema de ovo em pó armazenada em condições aceleradas de oxidação, com a presença de Cu^{+2} a 60°C . Para tal experimento, foi adicionado uma mistura de tocoferóis (230 $\mu\text{g/g}$ de lípidos) e BHT (100 $\mu\text{g/g}$ de lípidos) que reduziram a formação dos OsC do carbono 7 da molécula de colesterol (Figura 1) (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), e o palmitato de ascorbila (230 $\mu\text{g/g}$ de lípidos) que diminuíram a

formação do 7-ceto e 7 β -OH, durante o armazenamento. Todos os antioxidantes estudados, também reduziram a formação dos epóxidos e triol durante a armazenagem.

GUARDIOLA et al. (1997) observaram o efeito da adição de alguns antioxidantes como o palmitato de ascorbila, di- α -tocoferol e galato de propila adicionados em ovo em pó, considerando as temperaturas de processamento e armazenagem. O galato de propila (100 e 200 μ g/g) foi o mais eficaz na prevenção da oxidação dos ácidos graxos e do colesterol. A embalagem laminada, usada sob vácuo, foi eficiente na prevenção da oxidação do colesterol durante o armazenamento. No entanto, foi observada ação sinérgica pró-oxidante entre o palmitato de ascorbila e o di- α -tocoferol (100 e 200 μ g/g).

Outros autores estudaram o efeito da suplementação da dieta de aves, adicionando antioxidantes tais como: acetato de α -tocoferol (ACT), mistura de tocoferóis enriquecidos com óleos de peixe, óleo de linhaça, óleo de dendê ou óleo de girassol, e contataram a inibição da formação de OsC durante a atomização e armazenagem de ovo em pó e gema de ovo em pó (LI; CHERIAN; SIM, 1996; LAI et al., 1996).

GALOBART et al., 2001, avaliaram o efeito da suplementação em galinhas com extrato de alecrim (500 ou 1000mg/Kg), α -tocoferol (200mg/Kg) e enriquecidos com o ácido graxo polinsaturados (n-3 ou n-6) e avaliaram a estabilidade lipídica em ovos. Os resultados mostraram que o antioxidante e o enriquecimento com os ácidos graxos polinsaturados, foram efetivos como na preservação lipídica e na oxidação do colesterol, o mesmo não ocorreu com o extrato de alecrim.

NADIA, HASSAN, QOTA e FAYEK, 2008, estudaram o efeito de dietas de aves adicionadas de antioxidantes naturais, tomilho, alecrim, orégano e cúrcuma (0,5-1%), utilizando a vitamina E como controle ou não (controle negativo). Os ovos foram armazenados por 28 dias a 16°C e somente as gemas foram analisadas quanto a estabilidade oxidativa. Os autores concluíram que a adição de 1% de tomilho e alecrim e 0,5% de cúrcuma apresentaram um decréscimo no valor do colesterol total em 6,20, 6,05 e 5,97% respectivamente, em comparação com o controle, e para os valores de dialdeído malônico (TBARS) foram encontrados

12,14, 13,19 e 13,95% respectivamente, demonstrando um efeito positivo para a estabilidade oxidativa durante o armazenamento.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliação do ovo processado em condições de laboratório em relação à estabilidade oxidativa do colesterol.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Caracterização e avaliação do ovo líquido integral em relação ao armazenamento da matéria-prima.
- ✓ Avaliação do ovo líquido integral, do ovo líquido integral pasteurizado, do ovo integral em pó atomizado e do ovo integral em pó atomizado armazenado, em relação à estabilidade oxidativa do colesterol.
- ✓ Avaliação do efeito da adição de antioxidantes naturais durante o processamento do ovo integral em pó atomizado, em relação à estabilidade oxidativa do colesterol.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 REAGENTES

O isopropanol, grau HPLC, foi obtido da Sigma-Aldrich (27.049-0) e o n-hexano, grau HPLC, da Vetec (2042). Os padrões 7-cetocolesterol (*3 β -hidroxicolest-5-en-7-ona*) (C2394), 25-hidroxicolesterol (*colest-5-en-3 β ,25-diol*) (H1015) e colesterol (*5-cholesten-3 β -ol*) (C8667) foram adquiridos da Sigma e o 7 α -hidroxicolesterol (*colest-5-en-3 β -7 α -diol*) (C6420), 7 β -hidroxicolesterol (*colest-5-en-3 β -7 β -diol*) (C6430), da Steraloids Inc. O Florisil (MgO:SiO₂, 15:85) (1.12518.0100) correspondeu ao da Merck, o ácido gálico (G7384), o ácido tiobarbitúrico (L58116980), o DPPH* (*2,2-difenil-1-picrilhidrazil*) (D9132) e o butilhidroxitolueno (Butylated hydroxytoluene – BHT) (W218405), ao da Sigma. O reativo *Folin Ciocalteu* foi adquirido da Haloquímica e o sulfato de cobre anidro da Vetec, (7758-98-7). Os antioxidantes naturais: GUARDIAN® Rosemary Extract (4% fenólicos diterpenos + veículo) e GUARDIAN™ TOCO 70 (15% (D- α -tocoferol); 59% (D - β - δ -tocoferóis)), (Danisco). Os demais reagentes utilizados tinham no mínimo grau PA.

4.2 AMOSTRAS

O ovo comercial selecionado para os experimentos foi o do Grupo I – Branco, tipo grande, o mais utilizado para a preparação do produto atomizado. As amostras corresponderam a três marcas, codificadas em A, B e C. Foram adquiridas em supermercados locais, mantidas em temperatura ambiente, e com datas após a postura de 2 a 3 dias, com prazo de validade de 30 dias. A armazenagem foi feita na própria embalagem comercial, a 4°C, em laboratório. O prazo da armazenagem correspondeu ao de validade de 30 dias indicado pelo fabricante. Para cada marca foram avaliados três lotes de 12 ovos cada, onde 6 ovos eram analisados no dia da coleta e os demais armazenados como indicado anteriormente.

4.2.1 Ovo líquido integral

Para o preparo do ovo líquido integral, 6 ovos (isentos das cascas correspondentes) foram manualmente homogeneizados antes e depois de peneirados em tela de náilon (1mm²). A homogeneização final do material obtido foi realizada com auxílio de um processador de alimentos (Walita Philips RI7633/80, 600W) adaptado para prover um ambiente de vácuo suficiente apropriado. O ar formado foi em seguida eliminado, submetendo o produto a uma agitação lenta, sob vácuo.

Na obtenção do ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó atomizado, a amostra comercial correspondeu a uma das marcas indicadas, selecionada aleatoriamente.

4.2.2 Ovo líquido integral pasteurizado

De acordo com UNITED STATES (2002), o ovo líquido integral foi preparado conforme o procedimento anterior. O ovo líquido integral, derivado de vinte ovos, foi pasteurizado (aquecimento a 60°C, por 3 minutos), resfriado a 0°C e preservado por 24 horas, a 4°C, antes das análises.

4.2.3 Ovo integral em pó atomizado

O ovo líquido integral pasteurizado, obtido como anteriormente indicado, foi armazenado em geladeira (4°C), por 2 a 3 dias, diluído com água destilada (1:3, em volume) e submetido à atomização, usando o *Mini Spray Dryer B-290 (BUCHI)* (Figura 3 e 4).

As características técnicas do equipamento *Mini Spray Dryer B-290* corresponderam a: temperatura máxima de secagem 220°C; diâmetro do bico atomizador, 0,7mm; gás utilizado, nitrogênio; capacidade máxima de evaporação de 1 L/h de líquido. O equipamento opera com bico atomizador com fluxo paralelo,

possibilitando tanto ao produto a ser atomizado como ao ar de secagem fluírem na mesma direção (Figura 3).

As temperaturas de entrada e saída são fatores importantes na atomização, onde a última não pode ser controlada devido a uma limitação do equipamento utilizado, por depender dos parâmetros escolhidos na operação (temperatura de entrada, ajuste do aspirador, desempenho da bomba de alimentação e do isolador do cilindro) (BUCHI; LANNES, 2008).

Segundo a Figura 3, a alimentação do produto é feita pelo bico atomizador para dois fluídos [(a) nitrogênio e (b) produto], e a introdução do ar de secagem se processa no topo da câmara em sistema de fluxo co-corrente. A secagem se processa enquanto o ar quente e o produto na forma de pequenas gotículas, percorrem o cilindro até à sua base cônica. O ar úmido e o produto seco vão em seguida ao ciclone, onde são separados; sendo o ar úmido retirado, e o produto seco na forma de pó é coletado na base do ciclone. O ar úmido passa por um filtro antes de ser lançado ao ambiente e sendo as poucas partículas finas geradas retidas no citado filtro (BUCHI; LANNES, 2008).

Figura 3 – Esquema do atomizador e do fluxo do ar de secagem

Figura 4 – Ilustração do atomizador

As condições empregadas na atomização do ovo líquido pasteurizado foram: temperatura de entrada de 170°C, temperatura de saída de 70°C, vazão de alimentação de 15mL/min, fluxo do atomizador de 439 L/h, tempo de operação do atomizador de 180 minutos e concentração de sólidos de 0,07g/mL. Uma manta de algodão foi usada como isoladora térmica do cilindro, com o objetivo de obter a temperatura de saída desejada.

4.2.4 Estabilidade oxidativa do colesterol em ovo integral em pó durante a armazenagem

Foram empregados três lotes distintos (1, 2 e 3) de ovo da marca C. A partir de cada lote foi obtido o ovo integral em pó por atomização, segundo a descrição feita anteriormente. O produto foi homogeneizado e subdividido em porções de 30g cada, embaladas em sacos plásticos de polipropileno permeáveis ao oxigênio, lacradas com auxílio de fita adesiva, tendo havido o cuidado prévio da retirada parcial de ar (expulsão por pressionamento manual). As amostras ficaram armazenadas por até 90 dias, na ausência de luz, à temperatura ambiente de 25°C.

4.2.5 Estabilidade oxidativa do colesterol em ovo integral em pó com adição de antioxidantes naturais durante a armazenagem

Os resultados desta etapa do estudo foram obtidos a partir de três lotes distintos (1, 2 e 3) de ovo da marca C. O ovo líquido integral derivado de vinte ovos foi submetido a pasteurização como descrito no item 4.2.2, e divididos em 6 grupos de 150mL cada. Cada grupo foi adicionado sulfato de cobre anidro na concentração de 1,5mg de Cu^{++} /g de ovo integral em pó atomizado como indutor da oxidação do colesterol com base em HUBER, PIKE e HUBER (1995), o cobre foi adicionado sob agitação por 15 minutos, juntamente com os antioxidantes

O antioxidante GUARDIAN® Rosemary Extract (RE) foi usado na quantidade de 1500ppm recomendada pelo fabricante, relativa a produtos cárneos. O antioxidante GUARDIAN™ TOCO 70 (TOCO 70) foi empregado a 0,03% em relação à concentração lipídica do produto, de acordo com a legislação brasileira referente ao uso de tocoferol como aditivo em alimentos (BRASIL, 1988).

Os antioxidantes adicionados no ovo integral em pó atomizado, foram por homogeneizações intercaladas de peneiramentos em tela de náilon (1mm^2) por três vezes consecutivas.

Na Figura 5 consta o planejamento adotado para a avaliação do efeito da adição dos antioxidantes ao ovo integral em pó atomizado armazenado sobre a estabilidade oxidativa do colesterol.

Figura 5 – Avaliação do efeito da adição dos antioxidantes naturais comerciais ao ovo integral em pó atomizado sobre a estabilidade oxidativa do colesterol

Por fim, cada lote de ovo integral em pó atomizado foi repartido em 4 partes iguais (3g), para atender as análises programadas (0, 7, 14 e 21 dias). O produto foi embalado em sacos plásticos de polipropileno permeáveis ao oxigênio, lacrados com auxílio de fita adesiva, tendo havido o cuidado prévio da retirada parcial de ar (expulsão por pressionamento manual) e colocado num recipiente fechado de vidro fechado. O vidro então foi levado a uma estufa preparada em laboratório a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. As amostras ficaram armazenadas por até 21 dias, na ausência de luz. As análises das amostras no tempo zero foram realizadas após 10 a 12 horas do preparo.

A estufa preparada em laboratório era composta de duas caixas de isopor. A primeira delas, maior, continha um termômetro, um aquecedor de água para aquários (50W, marca Elite), um pote plástico contendo água destilada e a segunda caixa de isopor, menor que a primeira, portanto. A segunda caixa continha o vidro fechado, com as amostras, e um termômetro medindo as temperaturas mínimas e máximas.

4.3 QUANTIFICAÇÃO DE LÍPIDES TOTAIS E UMIDADE

Os lípides totais foram determinados de acordo com FOLCH, LEES e STANLEY (1957), utilizando clorofórmio/metanol (2:1, v/v), com adição de NaCl

0,88%, no caso do ovo líquido integral. Para o ovo integral em pó foi usada a adaptação do referido método feita por CSALLANY et al. (1989). O extrato lipídico obtido foi então evaporado a 40°C, em rotaevaporador, sob vácuo, e o resíduo resultante aquecido, em estufa a 105°C, por 40 minutos, e pesado.

A umidade foi analisada pelo método AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2005), com base na perda de voláteis a 105°C.

4.4 QUANTIFICAÇÃO DE COLESTEROL

A extração lipídica seguiu o método de FOLCH, LEES e STANLEY, (1957). O extrato lipídico obtido foi evaporado em rotaevaporador a 40°C, sob vácuo, e o material residual submetido à saponificação a frio (25 a 30°C), por 18 a 20 horas, com 20mL de KOH 1M, em metanol, conforme CHEN e CHEN (1994). A fração insaponificável foi extraída com 10mL de hexano, por três vezes consecutivas, e o solvente evaporado em rotaevaporador a 40°C, sob vácuo. No resíduo gerado foi quantificado o colesterol (CSALLANY et al., 1989). O resíduo foi ressuspenso em 2mL da fase móvel composta de hexano/isopropanol (97:3, v/v), submetido à filtração em membrana durapore (Millex-Millipore), com 0,45µm de diâmetro, e automaticamente injetado (20µL) no cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) da marca Shimadzu, modelo LC-10ADVP. Foi usada coluna µ-Porasil de sílica, de 30 x 0,39cm, poro de 10µm (WATERS Associates), com fluxo em fase normal de 1mL/min. O monitoramento se deu a 206nm, utilizando detector de arranjo de fotodiodos.

4.5 QUANTIFICAÇÃO DE ÓXIDOS DE COLESTEROL LIVRES

A extração lipídica seguiu o procedimento usado para o colesterol (FOLCH; LESS; STANLEY, 1957) sem saponificação posterior. Os óxidos de colesterol foram separados em fase sólida, conforme o método A proposto por PENAZZI et al. (1995). O extrato lipídico (50 a 60mg) foi diluído com 0,5mL da solução n-heptano/isopropanol (98:2, v/v), adicionado em coluna empacotada com Florisil

(500mg) e eluído com acetona, sendo esta posteriormente evaporada em rotaevaporador, a 40°C, sob vácuo.

Conforme CSALLANY et al. (1989), o resíduo da evaporação anterior foi ressuspenso em 2mL da fase móvel hexano/isopropanol na proporção 97:3, v/v, no caso do 25-hidroxicolesterol (25-OH), e 93:7, v/v para o 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH), filtrado em membrana durapore (Millex-Millipore), com 0,45 μ m de diâmetro, e automaticamente injetado (20 μ L) no CLAE (Shimadzu, LC-10ADVP). Foi usada coluna μ -Porasil de sílica, com 10 μ m de poro, de 30 x 0,39cm (WATERS Associates), em fase normal, com o fluxo de 1mL/min. O monitoramento se deu a 206nm para o 25-OH, 7 α -OH e 7 β -OH e a 233nm para 7-ceto, utilizando detector de arranjo de fotodiodos.

A metodologia proposta para a quantificação dos OsC livres, não-esterificados, foi devido ao fato de constar em literatura a possibilidade de a saponificação usada vir a influenciar os resultados, por formação ou destruição de OsC (CSALLANY et al., 1989).

4.6 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA USADA NA QUANTIFICAÇÃO DO COLESTEROL E ÓXIDOS DE COLESTEROL LIVRES

A validação da metodologia usada baseou-se na recuperação dos analitos, nos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), e na linearidade das curvas de calibração correspondentes, anteriormente estabelecidos em nosso laboratório a sua validação consta relatada pelos autores (KITAHARA; MOURA; TENUTA-FILHO, 2002; MORALES-AIZPURÚA; TENUTA-FILHO, 2005), e em rotina no laboratório. Para os testes de recuperação realizados nesta oportunidade, o colesterol (27,6 μ g) foi adicionado em ovo líquido integral (1g) e quantificado pelo método indicado. Semelhantemente, os óxidos de colesterol 7-cetocolesterol (7-ceto) (48 μ g), 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH) (106 μ g), 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH) (293 μ g) e 25-hidroxicolesterol (25-OH) (107 μ g), foram adicionados à fração lipídica (50 – 60mg) extraída do ovo líquido integral e quantificados pelo método proposto.

A recuperação do colesterol e dos OsC (7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH) realizada nesta oportunidade foi plenamente adequada (93 – 101%) confirmando a validação da metodologia empregada (Tabela 3).

Tabela 3 – Parâmetros de validação da metodologia para colesterol e óxidos de colesterol

	Concentração (μ g)	LD (g)	LQ (g)	R ²	Recuperação*
Colesterol	5-25	$1,09 \times 10^{-8}$	$3,62 \times 10^{-8}$	0,999	101,07 $\pm$ 0,04 (3,91)
7-ceto	0,2-0,8	$2,02 \times 10^{-9}$	$6,73 \times 10^{-9}$	0,999	97,94 $\pm$ 2,39 (2,44)
7 α -OH	0,4-1,6	$3,11 \times 10^{-8}$	$1,03 \times 10^{-7}$	0,993	95,28 $\pm$ 3,90 (4,09)
7 β -OH	0,4-1,6	$6,99 \times 10^{-8}$	$2,30 \times 10^{-7}$	0,998	94,71 $\pm$ 1,07 (1,13)
25-OH	0,1-0,5	$6,67 \times 10^{-9}$	$2,22 \times 10^{-8}$	0,993	93,03 $\pm$ 3,05 (3,28)

* Média $\pm$ Desvio padrão, n=5, (coeficiente de variação, em %)

4.7 QUANTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS QUE REAGEM COM O ÁCIDO TIOBARBITÚRICO – TBARS

As TBARS foram quantificadas segundo VYNCKE (1970). O ovo líquido integral (10g), o ovo líquido integral pasteurizado (10g) e o ovo integral em pó atomizado (2,5g) foram extraídos com ácido tricloroacético, a 7,5%, centrifugados (2.800xg/10 minutos) por duas vezes consecutivas e filtrados em papel de filtro. Uma alíquota de 5mL dos extratos obtidos foi submetida à reação com 5 mL de ácido tiobarbitúrico, a 0,02 M, em banho-de-água a 80°C, por 40 minutos. A leitura se deu a 538nm em espectrofotômetro (Micronal, modelo B572).

4.8 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante foi determinada utilizando o método de sequestro do radical livre DPPH* (2,2-difenil-picrilhidrazila), baseado na sua captura por antioxidantes, e produzindo um decréscimo da absorbância (BLOIS, 1958; BRAND-WILLIAMS, CUVELIER, e BERSET, 1995). O ovo líquido integral, ovo líquido

integral pasteurizado e o ovo integral em pó atomizado, previamente reconstituído, (12,5g de ovo em pó para 37,5g de água destilada, segundo o preparo sugerido na prática comercial), foram extraídos em metanol (1:10, v/v), por 1 hora, sob agitação (SMET; RAES; SMET, 2006)

A medida da atividade antioxidante pelo método de DPPH* do extrato metanólico em ovo integral foi sugerida por ARABSHAHI-DELOUEE e UROOJ (2007): exatamente 1 mL do extrato metanólico foi misturado a 3 mL da solução de DPPH*, em metanol (6.10^{-5} Mol/L), sendo mantido por 30 minutos, à temperatura ambiente, no escuro, e realizando a leitura em espectrofotômetro (Micronal, modelo B572) a 517nm. A equação que serviu para o cálculo de sequestro do radical livre está abaixo:

$$\% \text{ atividade antioxidante DPPH} = [(\text{absorbância controle} - \text{absorbância da amostra}) / \text{absorbância controle}] * 100$$

4.9 QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS

O método utilizado foi o baseado em FANTOZZI, MONTEDORO (1978) e utilizado por LIMA (2008). O extrato foi obtido com metanol/água (80:20, v/v). Para o ovo líquido integral e ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó atomizado previamente reconstituído, foi realizado conforme consta indicado em 4.8. O extrato metanólico (0,5 mL) foi adicionado de 8 mL de água destilada, 0,5 mL do reativo *Folin Ciocalteu*, homogeneização, e, após 3 minutos, acrescentado de 1 mL de solução saturada de Na_2CO_3 . Depois de 45 minutos em repouso, à temperatura ambiente, a mistura foi centrifugada (2.800xg/10 minutos) e efetuada a leitura em espectrofotômetro (Micronal, modelo B572), a 720nm, antes de completar 1 hora do início da reação. Na curva de calibração, os fenólicos totais foram expressados em mg de ácido gálico/g de amostra (Gráfico 1). A recuperação do ácido gálico após sua adição em ovo líquido integral, foi de $90,09 \pm 0,18\%$.

Gráfico 1 – Curva de calibração de fenólicos totais expressados em ácido gálico.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

4.10.1 Avaliação do ovo líquido integral quanto à capacidade antioxidativa, à presença de compostos fenólicos e à estabilidade oxidativa do colesterol, em relação ao armazenamento (30 dias).

As variáveis determinadas nesta etapa foram obtidas a partir de três marcas A, B e C, analisadas em triplicata. Foram realizados o teste F para testar se as duas variáveis (0 e 30 dias) apresentavam a mesma variabilidade, adotando nível de significância (α) igual a 0,05. Desta forma, o efeito do armazenamento foi analisado por meio da análise de variância (ANOVA), seguido do teste T de variância combinada para diferenças entre duas médias aritméticas sendo adotado o valor de α igual a 0,05, (LEVINE; BERENSON; STEPHAN, 2000).

4.10.2 Avaliação do processamento, armazenamento, e da adição de antioxidantes naturais comerciais em relação à estabilidade oxidativa do colesterol.

Avaliação do ovo líquido integral, do ovo líquido integral pasteurizado e do ovo integral em pó atomizado, processados em laboratório, e do ovo integral em pó atomizado armazenado, em relação à estabilidade oxidativa do colesterol e a avaliação do efeito de antioxidantes naturais comerciais na proteção induzida do colesterol contido no ovo integral em pó atomizado, mantido armazenado, foram avaliados a partir de três lotes (1, 2 e 3) analisados. Através de uma análise de variância prévia (ANOVA) com nível de significância (α) igual a 0,05, seguidos do teste comparações múltiplas, o procedimento Tukey-Kramer, (LEVINE; BERENSON; STEPHAN, 2000), adotando-se um valor α de 0,05.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 UMIDADE, LÍPIDES TOTAIS, CAPACIDADE ANTIOXIDATIVA, FENÓLICOS TOTAIS, COLESTEROL E ÓXIDOS DE COLESTEROL DO OVO LÍQUIDO INTEGRAL OBTIDO DE MATÉRIA-PRIMA COM DOIS A TRÊS DIAS DE POSTURA E DEPOIS DE ARMAZENADA A 4°C, POR 30 DIAS

5.1.1 Umidade e lípides totais

Os teores de umidade encontrados no ovo líquido integral derivado de matéria-prima com dois a três dias após a postura, identificado como controle (0), de $74,56 \pm 2,25$ a $75,91 \pm 0,48$ g/100g, e com 30 dias de armazenagem, a 4°C, de $75,18 \pm 0,27$ a $75,50 \pm 0,72$ g/100g, não diferiram entre si (Tabela 4). Ao mesmo tempo, apresentaram concordância com a literatura, 71,90 a 76,77 g/100g (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2002; KITAHARA, 2004; MEDINA, 2005; UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2006; UNITED STATES, 2009;/UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2010).

Tabela 4 – Umidade e lípidos totais do ovo líquido integral derivado de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura (controle 0) e com 30 dias de armazenagem a 4°C

Umidade (g/100g)	Marca					
	A		B		C	
	Dia		Dia		Dia	
Lote	0	30	0	30	0	30
1	75,75 ± 0,57 (0,75)	74,95 ± 0,69 (0,92)	72,44 ± 1,10 (1,52)	74,98 ± 0,05 (0,07)	75,44 ± 0,50 (0,67)	75,18 ± 0,10 (0,10)
2	76,45 ± 0,63 (0,63)	75,60 ± 0,83 (0,83)	76,92 ± 1,58 (2,06)	75,48 ± 3,21 (4,46)	76,04 ± 0,52 (0,68)	76,32 ± 1,66 (1,66)
3	75,52 ± 1,07 (1,42)	75,11 ± 0,94 (1,26)	74,31 ± 1,52 (2,04)	75,07 ± 1,15 (1,53)	74,73 ± 0,48 (0,64)	74,99 ± 0,57 (0,77)
Média	75,91 ^a	75,22 ^a	74,56 ^a	75,18 ^a	75,40 ^a	75,50 ^a
DP	0,48	0,34	2,25	0,27	0,66	0,72
CV	0,64	0,45	3,02	0,35	0,87	0,95
Lípides (g/100g)						
Lote	0	30	0	30	0	30
1	10,38 ± 0,23 (2,25)	8,38 ± 0,42 (4,98)	10,17 ± 0,07 (0,73)	8,12 ± 0,29 (3,63)	9,68 ± 0,31 (3,24)	7,28 ± 0,21 (2,82)
2	9,81 ± 0,30 (3,02)	10,10 ± 0,50 (4,99)	8,49 ± 0,55 (6,45)	8,64 ± 0,14 (1,58)	8,73 ± 0,05 (0,60)	9,04 ± 0,37 (4,08)
3	9,67 ± 0,31 (3,25)	8,70 ± 0,26 (2,95)	9,25 ± 0,18 (1,93)	9,62 ± 0,55 (5,68)	8,81 ± 0,26 (2,92)	8,86 ± 0,28 (3,12)
Média	9,95 ^a	9,06 ^a	9,30 ^a	8,79 ^a	9,07 ^a	8,39 ^a
DP	0,38	0,91	0,84	0,76	0,53	0,97
CV	3,78	10,10	9,04	8,66	5,81	11,54

Média ± Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

Os lípidos totais, como no caso da umidade, também não diferiram entre as amostras (Tabela 4). Apresentaram conformidade com a literatura, cujo valores relatados foram de 9,3 a 11,66 g/100g (SARANTINOS; O'DEA; SINCLAIR, 1993; KITAHARA, 2004; MEDINA, 2005, UNITED STATES, 2009/UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO 2010), estando próximos do limite de 10g/100g estabelecido na legislação brasileira (BRASIL, 1991).

5.1.2 Capacidade antioxidativa

A capacidade antioxidativa em ovo líquido integral foi medida pelo método de DPPH*, conforme indicada na Tabela 5.

Tabela 5 – Capacidade antioxidativa do ovo líquido integral derivado de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura (controle 0) e com 30 dias de armazenagem, a 4°C, medido pelo DPPH* (2,2-difenil-picrilhidrazila), (%), em base seca

Lote	Marca					
	A		B		C	
	Dia		Dia		Dia	
	0	30	0	30	0	30
1	8,63 ± 0,06 (0,63)	9,09 ± 0,25 (2,73)	4,31 ± 0,06 (1,42)	4,67 ± 0,34 (7,37)	5,74 ± 0,11 (2,00)	4,61 ± 0,10 (2,28)
2	6,70 ± 0,27 (4,05)	7,95 ± 0,05 (0,65)	5,08 ± 0,16 (3,17)	7,47 ± 0,29 (3,90)	6,32 ± 0,17 (2,60)	4,03 ± 0,26 (6,54)
3	6,81 ± 0,15 (2,26)	5,45 ± 0,47 (8,55)	4,62 ± 0,10 (2,17)	5,51 ± 0,36 (6,49)	5,77 ± 0,21 (3,58)	5,43 ± 0,18 (3,39)
Média	7,38 ^a	7,50 ^a	4,67 ^a	5,88 ^a	5,94 ^a	4,69 ^a
DP	1,08	1,86	0,39	1,44	0,33	0,70
CV	14,69	24,84	8,30	24,42	5,49	15,00

Média ± Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

Os resultados da Tabela 5, indicam que a capacidade antioxidante das amostras variou entre 4,67% a 7,50%. Ficou demonstrado não ter havido diferença entre as marcas da matéria-prima analisadas e também que o armazenamento não influenciou os resultados.

LIU et al. (2009) foram os únicos autores encontrado na literatura consultada a relatarem a atividade antioxidante do ovo (armazenado a 4°C, por 14 dias), medido pelo DPPH*, com valores de 37,8 - 41,2%, maiores, portanto, que os da Tabela 5.

Distintamente do que ocorreu no presente trabalho, LIU et al. (2009) submeteram o ovo à extração com clorofórmio, analisando depois o extrato obtido. A extração com o clorofórmio foi reproduzida no presente trabalho, mas provocou uma turbidez que impediu a leitura espectrofotométrica subsequente. SMET, RAES e SMET (2006) tiveram a mesma dificuldade, relativa a extração de uma ração para suínos.

5.1.3 Fenólicos totais

Os resultados obtidos para fenólicos totais em ovo líquido integral, constam na Tabela 6.

Tabela 6 – Fenólicos totais em ovo líquido integral derivado de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura (controle 0) e com 30 dias de armazenagem, a 4°C, expressados em mg de ácido gálico/g de amostra, em base seca

Lote	Marca					
	A		B		C	
	Dia		Dia		Dia	
	0	30	0	30	0	30
1	0,43 ± 0,00 (0,79)	0,30 ± 0,02 (5,13)	0,31 ± 0,00 (1,82)	0,30 ± 0,03 (9,67)	0,39 ± 0,00 (1,11)	0,30 ± 0,01 (2,37)
2	0,28 ± 0,63 (1,20)	0,28 ± 0,00 (0,75)	0,31 ± 0,00 (0,67)	0,29 ± 0,00 (0,54)	0,33 ± 0,01 (1,84)	0,28 ± 0,01 (2,20)
3	0,27 ± 0,00 (0,28)	0,34 ± 0,01 (2,18)	0,30 ± 0,00 (0,44)	0,28 ± 0,02 (7,81)	0,29 ± 0,00 (0,46)	0,24 ± 0,01 (3,38)
Média	0,33 ^a	0,31 ^a	0,31 ^a	0,29 ^a	0,34 ^a	0,27 ^a
DP	0,09	0,03	0,01	0,01	0,05	0,03
CV	27,44	9,96	1,88	3,45	14,95	11,18

Média ± Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

Os resultados da Tabela 6 demonstraram a existência de compostos fenólicos no ovo líquido integral, variando de 0,27 ± 0,03 a 0,34 ± 0,05 mg de ácido gálico/g de amostra seca, não foram afetados pelo armazenamento (Tabela 6).

Os resultados verificados ser confrontados especificamente com dados de literatura. No entanto, se comparados com os de alimentos vegetais, ricos em fenólicos totais, como a acerola (*Malpighia glabra*), com 580 mg/100g, manga (*Mangifera indica*), com 544 mg/100g, pequi (*Caryocar brasiliense*), com 209 mg/100g, açaí (*Euterpe oleracea*), com 136 mg/100g, morango (*Gingo biloba*), com 132 mg/100g, graviola (*Anoma muricato*), com 84,3 mg/100g e goiaba (*Psidium guayava*), com 83 mg/100g, o ovo líquido integral só foi maior em relação ao abacaxi (*Anona muricato*), com 21,7 mg/100g e o maracujá (*Passiflora edulis*), com 20,2 mg/100g (LIMA et al., 2007).

Compostos fenólicos estão amplamente distribuídos no reino vegetal, sendo importantes pela reconhecida ação antioxidante. São definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. HUGHES (1973) observou a presença de manchas azuis alterando a cor amarela característica da gema de ovo, como resultado da adição de expressivas concentrações de taninos na dieta de aves. O estudo feito sugere a possibilidade de a gema incorporar fenólicos, a partir da dieta, e pode ser útil na

proteção antioxidativa, como do colesterol e de ácidos graxos. A adição de antioxidantes na dieta de animais, visando à prevenção/redução da oxidação do colesterol no alimento derivado, processado ou não, tem sido proposta na literatura, conforme HUR et al. (2007). No entanto, a ação esperada tem o pressuposto da biodisponibilidade do composto antioxidativo adicionado.

5.1.4 Colesterol

Os conteúdos de colesterol do ovo líquido integral foram de $338,02 \pm 1,76$ a $354,65 \pm 9,32$ mg/100g (Tabela 7) e concordantes com resultados da literatura (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2006; UNITED STATES, 2009; MEDINA, 2005; KITAHARA, 2004; BRAGAGNOLO; RODRIGUES-AMAYA, 2003; RAZZAZI-FAZZELI; KLEINEISEN; LUF, 2000; SARANTINOS; O'DEA; SINCLAIR, 1993).

Tabela 7 – Colesterol (mg/100g) em ovo líquido integral derivado de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura (controle 0) e com 30 dias de armazenagem, a 4°C

Lote	Marca					
	A		B		C	
	Dia		Dia		Dia	
	0	30	0	30	0	30
1	$344,25 \pm 12,74$ (3,70)	$341,71 \pm 14,63$ (4,28)	$359,48 \pm 12,12$ (3,37)	$361,90 \pm 9,03$ (2,50)	$337,60 \pm 16,60$ (4,92)	$339,33 \pm 18,44$ (5,43)
2	$357,46 \pm 7,95$ (2,23)	$340,05 \pm 17,91$ (5,27)	$352,31 \pm 9,25$ (2,63)	$344,29 \pm 20,28$ (5,89)	$335,18 \pm 15,62$ (4,66)	$338,72 \pm 7,35$ (2,17)
3	$362,24 \pm 12,41$ (3,43)	$364,50 \pm 17,05$ (4,68)	$350,44 \pm 15,49$ (4,42)	$353,27 \pm 24,27$ (6,67)	$361,54 \pm 22,57$ (6,24)	$336,02 \pm 21,28$ (6,33)
Média	354,65 ^a	348,75 ^a	354,08 ^a	353,15 ^a	344,77 ^a	338,02 ^a
DP	9,32	13,66	4,77	8,81	14,57	1,76
CV	2,63	3,92	1,35	2,49	4,23	0,52

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa ($p>0,05$)

Segundo a Tabela 7, o colesterol não foi afetado pelo armazenamento da matéria-prima.

5.1.5 Óxidos de colesterol

Constam na Tabela 8, os resultados relativos à ocorrência de óxidos de colesterol (OsC) em ovo líquido integral, sendo confirmada a presença de 7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH livres no produto obtido de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura. Os referidos resultados não diferiram daqueles verificados em relação ao produto derivado da matéria-prima armazenada por 30 dias, a 4°C. O fato de o colesterol ter mantido a estabilidade oxidativa durante a armazenagem refrigerada da matéria-prima por 30 dias, é significativo por coincidir com o prazo de validade (para o consumo) considerado na prática comercial e também para propósitos industriais.

O somatório do 7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH (livres e esterificados) em ovo líquido integral fresco relatado na literatura variou de ND (não detectável) a 2,28 $\mu\text{g/g}$ de amostra na forma esterificada (OSARA, 2002b), sendo idêntico ao mencionado na Tabela 9 (OsC livres).

Tabela 8 – 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH) e 25-hidroxicoolesterol (25-OH) livres (em $\mu\text{g/g}$ de lípidos e ou de amostra em base seca) em ovo líquido integral, derivado de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura (controle 0) e com 30 dias de armazenagem, a 4°C

Marca	Lote	7-ceto		7 α -OH		7 β -OH		25-OH	
		Dia		Dia		Dia		Dia	
		0	30	0	30	0	30	0	30
$\mu\text{g/g}$ de lípidos									
A	1	33,42 $\pm$ 0,68 (2,02)	32,69 $\pm$ 1,31 (4,02)	33,88 $\pm$ 1,05 (3,09)	30,92 $\pm$ 2,12 (2,49)	33,20 $\pm$ 1,02 (3,08)	30,92 $\pm$ 2,12 (6,87)	11,92 $\pm$ 0,93 (7,77)	12,90 $\pm$ 1,23 (9,51)
	2	33,38 $\pm$ 1,36 (4,08)	32,52 $\pm$ 0,83 (2,55)	41,50 $\pm$ 1,79 (4,32)	37,53 $\pm$ 0,93 (8,64)	30,97 $\pm$ 1,51 (4,88)	27,74 $\pm$ 2,63 (9,48)	11,95 $\pm$ 0,40 (3,37)	11,34 $\pm$ 0,40 (3,53)
	3	30,25 $\pm$ 1,62 (5,36)	29,07 $\pm$ 1,81 (6,21)	43,45 $\pm$ 0,90 (2,06)	42,18 $\pm$ 0,96 (2,26)	33,16 $\pm$ 2,73 (8,23)	31,78 $\pm$ 2,90 (9,12)	11,28 $\pm$ 0,26 (2,30)	13,26 $\pm$ 0,70 (5,28)
B	1	40,09 $\pm$ 1,65 (4,13)	36,57 $\pm$ 2,79 (7,62)	42,83 $\pm$ 1,64 (3,83)	43,70 $\pm$ 3,71 (8,48)	37,44 $\pm$ 1,37 (3,65)	30,84 $\pm$ 1,85 (6,01)	12,36 $\pm$ 1,02 (8,24)	11,57 $\pm$ 0,46 (3,96)
	2	28,26 $\pm$ 0,83 (2,94)	26,43 $\pm$ 0,94 (3,55)	42,62 $\pm$ 0,52 (1,22)	40,21 $\pm$ 2,29 (5,71)	35,83 $\pm$ 1,92 (5,36)	36,01 $\pm$ 2,84 (7,89)	13,22 $\pm$ 1,15 (8,72)	12,93 $\pm$ 0,94 (7,25)
	3	35,64 $\pm$ 2,72 (7,64)	33,32 $\pm$ 1,77 (5,31)	38,16 $\pm$ 1,18 (3,08)	33,79 $\pm$ 2,56 (7,58)	31,54 $\pm$ 1,66 (5,26)	31,60 $\pm$ 2,21 (6,99)	9,08 $\pm$ 0,79 (8,72)	12,79 $\pm$ 0,49 (3,86)
C	1	36,51 $\pm$ 1,30 (3,56)	37,41 $\pm$ 1,74 (4,64)	47,04 $\pm$ 0,74 (2,01)	31,31 $\pm$ 2,29 (7,33)	36,94 $\pm$ 1,96 (4,26)	30,81 $\pm$ 2,31 (7,51)	10,66 $\pm$ 0,65 (6,06)	12,01 $\pm$ 0,58 (4,79)
	2	35,50 $\pm$ 1,46 (4,12)	27,45 $\pm$ 1,08 (3,94)	52,15 $\pm$ 3,63 (6,95)	45,37 $\pm$ 2,12 (4,66)	43,47 $\pm$ 3,41 (7,84)	39,62 $\pm$ 1,67 (4,21)	12,59 $\pm$ 0,47 (3,73)	11,98 $\pm$ 0,65 (5,46)
	3	26,50 $\pm$ 2,04 (7,69)	27,45 $\pm$ 2,45 (8,94)	42,18 $\pm$ 4,04 (9,58)	42,51 $\pm$ 3,06 (7,19)	28,29 $\pm$ 2,58 (9,13)	31,29 $\pm$ 2,14 (6,83)	14,01 $\pm$ 0,55 (8,34)	12,67 $\pm$ 0,82 (6,44)
Média		33,28^a	31,43^a	42,65^a	38,61^a	34,54^a	32,29^a	11,90^a	12,38^a
DP		4,30	4,04	5,11	5,47	4,47	3,47	1,45	0,67
CV		12,91	12,86	11,98	14,15	12,95	10,74	12,17	5,44
$\mu\text{g/g}$ de amostra (base seca)									
A	1	2,70 $\pm$ 0,07 (2,63)	2,52 $\pm$ 0,02 (2,66)	2,71 $\pm$ 0,11 (4,05)	3,94 $\pm$ 0,02 (3,64)	2,65 $\pm$ 0,10 (3,80)	2,38 $\pm$ 0,03 (3,93)	1,07 $\pm$ 0,09 (8,30)	1,08 $\pm$ 0,03 (10,84)
	2	2,65 $\pm$ 0,05 (1,91)	2,59 $\pm$ 0,31 (12,12)	3,36 $\pm$ 0,30 (8,88)	2,96 $\pm$ 0,02 (0,76)	2,44 $\pm$ 0,10 (4,06)	2,20 $\pm$ 0,15 (6,75)	1,12 $\pm$ 0,28 (10,13)	0,90 $\pm$ 0,04 (4,97)
	3	2,18 $\pm$ 0,12 (5,72)	2,31 $\pm$ 0,16 (7,13)	3,20 $\pm$ 0,12 (3,82)	3,36 $\pm$ 0,11 (3,27)	2,45 $\pm$ 0,26 (10,51)	2,51 $\pm$ 0,12 (4,67)	0,83 $\pm$ 0,05 (5,93)	1,05 $\pm$ 0,07 (6,74)
B	1	2,79 $\pm$ 0,10 (3,44)	2,91 $\pm$ 0,17 (5,92)	2,98 $\pm$ 0,14 (4,63)	3,46 $\pm$ 0,26 (7,53)	2,60 $\pm$ 0,08 (2,93)	2,46 $\pm$ 0,19 (7,64)	0,95 $\pm$ 0,08 (7,97)	1,01 $\pm$ 0,01 (0,96)
	2	2,33 $\pm$ 0,07 (3,08)	2,06 $\pm$ 0,02 (0,77)	3,55 $\pm$ 0,04 (1,02)	2,98 $\pm$ 0,15 (5,06)	2,97 $\pm$ 0,21 (7,19)	2,86 $\pm$ 0,16 (5,44)	0,99 $\pm$ 0,07 (7,02)	1,02 $\pm$ 0,07 (7,33)
	3	2,64 $\pm$ 0,16 (6,01)	2,31 $\pm$ 0,20 (8,24)	3,20 $\pm$ 0,02 (0,83)	3,36 $\pm$ 0,04 (1,46)	2,45 $\pm$ 0,07 (2,84)	2,51 $\pm$ 0,10 (4,28)	0,83 $\pm$ 0,03 (4,88)	1,05 $\pm$ 0,05 (4,83)
C	1	2,84 $\pm$ 0,06 (2,01)	2,87 $\pm$ 0,13 (4,41)	3,65 $\pm$ 0,16 (4,33)	2,39 $\pm$ 0,16 (6,89)	2,93 $\pm$ 0,04 (1,31)	2,33 $\pm$ 0,18 (7,58)	0,93 $\pm$ 0,05 (5,78)	1,02 $\pm$ 0,04 (3,72)
	2	2,80 $\pm$ 0,08 (2,72)	2,21 $\pm$ 0,08 (3,58)	3,02 $\pm$ 0,27 (8,85)	3,03 $\pm$ 0,18 (5,96)	3,13 $\pm$ 0,29 (9,15)	3,13 $\pm$ 0,14 (4,39)	0,99 $\pm$ 0,03 (2,83)	0,97 $\pm$ 0,03 (3,34)
	3	2,02 $\pm$ 0,04 (1,73)	2,05 $\pm$ 0,04 (1,88)	3,29 $\pm$ 0,15 (4,43)	3,17 $\pm$ 0,31 (9,72)	2,12 $\pm$ 0,14 (6,42)	2,36 $\pm$ 0,02 (0,97)	1,09 $\pm$ 0,07 (6,63)	0,96 $\pm$ 0,04 (4,28)
Média		2,55^a	2,43^a	3,16^a	3,09^a	2,62^a	2,52^a	0,96^a	1,00^a
DP		0,28	0,30	0,32	0,44	0,31	0,28	0,14	0,05
CV		11,02	12,28	10,26	14,37	11,88	10,92	14,09	4,99

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

SARANTINOS, O'DEA e SINCLAIR (1993) não detectaram OsC em ovos armazenados em casca, por 6 semanas, a 4°C. Os autores concluíram que poderia ter havido a resistência à formação de OsC promovida pela proteção da casca e pela clara do ovo, que envolvem respectivamente a gema. OSADA (2002b), reportou que à resistência a oxidação do colesterol do ovo pode ser devido à presença de

antioxidantes naturais presentes na gema, tais como os tocoferóis e os carotenoides, que seriam determinantes na oxidação lipídica.

Os OsC indicados na Tabela 8 foram incluídos na Tabela 9 como somatórios dos óxidos derivados do carbono 7 da molécula do colesterol (7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH) e dos óxidos analisados (7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH), além do 25-OH isoladamente. Segundo a Tabela 9, a quantidade referente aos óxidos do carbono 7 (anel B da molécula) foi 8 vezes maior que a correspondente ao 25-OH (cadeia lateral da molécula), confirmando as informações da literatura como sendo a posição mais facilmente oxidável na molécula.

KITAHARA (2004) avaliou a armazenagem de ovos frescos, por 30 dias, sob refrigeração a 8°C. A concentração média total dos OsC (7-ceto+7 α -OH+7 β -OH+25-OH, livres + esterificados) foi respectivamente de 22,80 $\pm$ 2,9 μ g/g com 0 dias e 24,04 $\pm$ 3,1 μ g/g com 30 dias, indicando que o armazenamento não influenciou a formação dos óxidos de colesterol como observado no presente trabalho.

Tabela 9 – Somatório dos óxidos de colesterol derivados do carbono 7 da molécula do colesterol $\Sigma C7$ (7-ceto (7-cetocolesterol), 7α -OH (7 α -hidroxicolesterol) e 7β -OH (7 β -hidroxicolesterol)), 25-OH (25-hidroxicolesterol) e somatório dos OsC, ΣOsC (7-ceto, 7α -OH, 7β -OH e 25-OH) em $\mu\text{g/g}$ de lípidos e $\mu\text{g/g}$ de amostra (base seca), em ovo líquido integral, derivado de matéria-prima com 2 – 3 dias de postura (controle 0) e com 30 dias de armazenagem, a 4°C

$\mu\text{g/g}$ de lípidos						
A	104,40 ^a ± 4,17 (3,99)	98,46 ^a ± 3,57 (3,63)	11,72 ^a ± 0,38 (3,23)	12,50 ^a ± 1,02 (8,16)	116,12 ^a ± 12,03 (10,36)	110,96 ^a ± 10,57 (10,19)
B	110,80 ^a ± 3,70 (3,99)	104,16 ^a ± 3,92 (3,77)	11,55 ^a ± 2,18 (18,91)	12,43 ^a ± 0,75 (6,02)	122,35 ^a ± 13,05 (10,66)	116,59 ^a ± 11,60 (9,95)
C	116,19 ^a ± 7,46 (6,42)	104,41 ^a ± 4,55 (4,35)	12,42 ^a ± 1,68 (13,54)	12,22 ^a ± 0,39 (3,19)	128,61 ^a ± 14,50 (11,27)	116,63 ^a ± 11,89 (10,19)
$\mu\text{g/g}$ de amostra (base seca)						
A	8,11 ± 0,33 (4,13)	8,25 ± 0,58 (7,06)	1,01 ± 0,16 (15,40)	1,01 ± 0,10 (9,55)	9,12 ± 0,89 (9,76)	9,26 ± 0,99 (10,71)
B	8,29 ± 0,24 (3,21)	8,03 ± 0,28 (3,49)	0,87 ± 0,18 (20,78)	1,01 ± 0,02 (1,52)	9,16 ± 0,97 (10,60)	9,04 ± 0,86 (9,56)
C	8,60 ± 0,40 (4,68)	7,85 ± 0,24 (3,06)	1,00 ± 0,08 (8,06)	0,98 ± 0,03 (3,27)	9,60 ± 0,99 (10,31)	8,83 ± 0,84 (9,53)

Média ± Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

5.2 AVALIAÇÃO DO OVO LÍQUIDO INTEGRAL, DO OVO LÍQUIDO INTEGRAL PASTEURIZADO E DO OVO INTEGRAL EM PÓ ATOMIZADO, PROCESSADOS EM LABORATÓRIO, E DO OVO INTEGRAL EM PÓ ATOMIZADO ARMAZENADO (0, 30, 60 E 90 DIAS), EM RELAÇÃO À ESTABILIDADE OXIDATIVA DO COLESTEROL.

Os resultados obtidos anteriormente, relativos ao ovo líquido integral (item 5.1), permitiram que uma das marcas analisadas (A, B ou C) pudesse ser selecionada e usada dando continuidade à parte experimental planejada (item 5.2 e 5.3).

5.2.1 Umidade e lípidos totais

Os teores médios de umidade verificados em ovo líquido integral e ovo líquido integral pasteurizado foram respectivamente de $76,45 \pm 0,66$ e $74,52 \pm 1,22$

g/100g (Tabela 10), os quais são concordantes com os da Tabela 4, e com os da literatura (71,0 – 75,8 g/100g), indicados na Tabela 1. Em ovo integral em pó atomizado o nível médio de umidade observado foi de $2,14 \pm 0,16$ g/100g, estando abaixo dos relatados na literatura (3,1 – 4,2 g/100g, Tabela 1).

Tabela 10 – Umidade e lípidos totais do ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA)

Umidade (g/100g)			
Lote	OLI	OLIP	OIPA
1	$77,14 \pm 1,99$ (2,58)	$74,84 \pm 2,01$ (2,68)	$2,23 \pm 0,18$ (1,52)
2	$75,82 \pm 0,94$ (1,24)	$75,55 \pm 0,82$ (1,08)	$1,96 \pm 0,10$ (2,06)
3	$76,38 \pm 2,89$ (3,78)	$73,18 \pm 1,47$ (2,00)	$2,23 \pm 0,05$ (2,04)
Média	76,45 ^a	74,52 ^a	2,14
DP	0,66	1,22	0,16
CV	0,87	1,63	7,28
Lípides totais (g/100g)			
Lote	OLI	OLIP	OIPA
1	$8,98 \pm 0,50$ (5,60)	$7,31 \pm 0,38$ (5,21)	$44,58 \pm 3,19$ (7,16)
2	$8,63 \pm 0,55$ (6,36)	$7,96 \pm 0,09$ (1,07)	$43,51 \pm 3,03$ (6,97)
3	$9,05 \pm 0,89$ (9,79)	$7,98 \pm 0,20$ (2,55)	$44,20 \pm 1,27$ (2,87)
Média	8,89 ^a	7,75 ^a	44,10
DP	0,23	0,38	0,54
CV	2,53	4,92	1,23
Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)			
Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)			

Os níveis médios de lípidos totais quantificados em ovo líquido integral e ovo líquido integral pasteurizado, respectivamente de $8,89 \pm 0,23$ e $7,75 \pm 0,38$ g/100g (Tabela 10) estão de acordo com os da Tabela 4 e com os da literatura (8,90 – 11,80 g/100g, Tabela 1) e próximos do limite (10g/100g) estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 1991). O teor médio de lípidos totais em ovo integral em pó atomizado foi de $44,10 \pm 0,54$ g/100g, de certa forma semelhante aos encontrados na literatura (38,0 – 43,8 g/100g, Tabela 1) e atendendo à especificação do produto comercial (mínimo de 38g/100g), informada pelos fornecedores.

As diferenças verificadas na Tabela 10 entre os produtos em pó (OIPA) e líquidos (OLI e OLIP), por óbvio decorreram da desidratação pela atomização.

5.2.2 Capacidade antioxidativa

Os resultados da capacidade antioxidativa em ovo líquido integral, ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó atomizado, medida pelo método de DPPH*, constam na Tabela 11.

Foi observado que, com o processamento térmico de pasteurização aplicado à matriz, ocorreu um aumento discreto não significativo estatisticamente da capacidade antioxidativa, de $8,80 \pm 0,29$ para $10,24 \pm 0,34\%$. No caso da pasteurização seguida da atomização houve um aumento significativo estatisticamente, para $16,52 \pm 1,20 \%$.

Os resultados da Tabela 5 atribuídos ao ovo líquido integral preparado como matéria-prima com 2 a 3 dias de postura foram de $4,67 \pm 0,39$ a $7,38 \pm 1,08\%$, menores que os da Tabela 11, não havendo elementos percebidos que pudessem justificar essa variabilidade.

Não foram encontrados na literatura consultada relatos sobre a capacidade antioxidativa, medida pelo DPPH*, em ovo e produtos derivados, que avaliassem o efeito do processamento térmico, conforme verificado na Tabela 11. Uma diminuição da capacidade antioxidativa poderia ser esperada, como resultado da proteção de substratos oxidáveis durante o processamento térmico. Nenhum elemento pôde ser percebido que justificasse o aumento da capacidade antioxidativa no ovo integral atomizado, fato que deve motivar investigações futuras.

Tabela 11 – Capacidade antioxidativa em ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA) (reconstituído), medido pelo DPPH* (2,2-difenil-picrilhidrazila) (%)

Lote	OLI	OLIP	OIPA
1	9,09 ± 0,19 (2,08)	10,35 ± 0,39 (3,74)	16,75 ± 0,27 (1,58)
2	8,51 ± 0,11 (1,29)	9,86 ± 0,17 (1,75)	17,58 ± 0,28 (1,58)
3	8,80 ± 0,22 (2,44)	10,52 ± 0,31 (2,90)	15,22 ± 0,32 (2,08)
Média	8,80 ^a	10,24 ^a	16,52 ^b
DP	0,29	0,34	1,20
CV	3,30	3,35	7,25

Média ± Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

5.2.3 Fenólicos totais

Os valores médios de fenólicos totais (mg de ácido gálico/g de amostra) em ovo líquido integral, $0,32 \pm 0,02$ (coerente com a Tabela 6), e em ovo líquido integral pasteurizado, $0,36 \pm 0,03$, não diferiram entre si. No caso do ovo integral em pó atomizado, houve um ligeiro aumento, $0,44 \pm 0,03$.

O pequeno aumento observado nos fenólicos totais do ovo integral após o processamento de atomização, realizado em laboratório, contrasta com o que foi verificado por MEDINA (2010), que relatou uma redução de 60% destes compostos em relação ao tratamento térmico imposto ao ovo integral em pó comercial. Seria esperada e lógica a redução de compostos fenólicos, consumidos na proteção de substratos oxidáveis. Não foi encontrada justificativa para explicar os resultados do OIPA, na Tabela 6.

Tabela 12 – Fenólicos totais do ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA) (reconstituído) expressados em mg de ácido gálico/g de amostra

Lote	OLI	OLIP	OIPA
1	0,33 ± 0,01 (2,52)	0,33 ± 0,01 (2,04)	0,48 ± 0,03 (7,10)
2	0,30 ± 0,00 (0,52)	0,38 ± 0,00 (0,41)	0,42 ± 0,03 (7,07)
3	0,33 ± 0,01 (2,04)	0,38 ± 0,00 (0,72)	0,43 ± 0,01 (1,68)
Média	0,32 ^a	0,36 ^a	0,44 ^b
DP	0,02	0,03	0,03
CV	5,41	7,95	7,25

Média ± Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

5.2.4 Óxidos de colesterol

Os resultados referentes aos OsC analisados em ovo líquido integral, ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral em pó atomizado, expressados em µg/g de lípidos e em µg/g de amostra (base seca), foram inseridos nas Tabelas 13 e 14.

Os resultados indicam que, praticamente não houve aumento da oxidação do colesterol, por efeito dos tratamentos térmicos empregados envolvendo a pasteurização e a pasteurização seguida de atomização. Apenas um ligeiro aumento do óxido 25-hidroxicolesterol (25-OH) foi verificado após a pasteurização. É provável que a estabilidade oxidativa do colesterol tenha ocorrido em razão de os processamentos empregados terem sido em escala e em condições de laboratório, sabidamente distintas das industriais usuais.

Tabela 13 – 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH) e 25-hidroxicolesterol (25-OH) livres ($\mu\text{g/g}$ de lípides) em ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA)

$\mu\text{g/g}$ de lípides						
Lote	7-ceto			7 α -OH		
	OLI	OLIP	OIPA	OLI	OLIP	OIPA
1	33,41 $\pm$ 1,97 (5,91)	28,85 $\pm$ 0,91 (3,16)	33,30 $\pm$ 1,15 (3,45)	42,84 $\pm$ 2,59 (6,04)	40,06 $\pm$ 1,96 (4,09)	36,62 $\pm$ 2,23 (6,83)
2	39,02 $\pm$ 1,94 (4,98)	36,58 $\pm$ 1,62 (4,43)	34,96 $\pm$ 1,94 (5,55)	37,62 $\pm$ 1,06 (2,81)	35,46 $\pm$ 1,38 (3,88)	40,70 $\pm$ 3,05 (7,50)
3	33,14 $\pm$ 2,27 (6,84)	31,66 $\pm$ 1,46 (4,62)	29,76 $\pm$ 2,06 (6,91)	45,86 $\pm$ 3,86 (8,41)	45,54 $\pm$ 2,66 (5,84)	34,49 $\pm$ 1,78 (5,17)
Média	35,19 ^a	32,36 ^a	32,67 ^a	42,11 ^a	40,35 ^a	37,27 ^a
DP	3,32	3,91	2,66	4,17	5,05	3,16
CV	9,43	12,09	8,13	9,9	12,51	8,47

	7 β -OH			25-OH		
	OLI	OLIP	OIPA	OLI	OLIP	OIPA
1	34,06 $\pm$ 2,71 (7,96)	31,15 $\pm$ 1,53 (4,90)	33,75 $\pm$ 2,28 (6,75)	11,28 $\pm$ 0,71 (6,26)	15,03 $\pm$ 1,08 (7,17)	12,95 $\pm$ 0,62 (4,76)
2	31,31 $\pm$ 1,43 (4,56)	29,84 $\pm$ 0,83 (2,78)	34,99 $\pm$ 2,21 (6,32)	12,07 $\pm$ 0,58 (4,81)	13,60 $\pm$ 0,95 (6,98)	14,10 $\pm$ 1,33 (9,43)
3	34,37 $\pm$ 2,46 (7,17)	34,88 $\pm$ 1,50 (4,29)	35,05 $\pm$ 2,63 (1,24)	10,56 $\pm$ 0,86 (8,17)	14,49 $\pm$ 0,92 (6,33)	12,27 $\pm$ 1,12 (9,10)
Média	33,25 ^a	31,96 ^a	34,60 ^a	11,30 ^a	14,37 ^b	13,11 ^{a,b}
DP	1,68	2,62	0,73	0,76	0,72	0,93
CV	5,07	8,18	2,12	6,68	5,02	7,06

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa ($p>0,05$)

Tabela 14 – 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH) e 25-hidroxicoolesterol (25-OH) livres ($\mu\text{g/g}$ de amostra, base seca) em ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA)

$\mu\text{g/g}$ de amostra						
Lote	7-ceto			7 α -OH		
	OLI	OLIP	OIPA	OLI	OLIP	OIPA
1	2,40 $\pm$ 0,09 (3,67)	1,89 $\pm$ 0,06 (3,15)	2,36 $\pm$ 0,08 (3,30)	3,08 $\pm$ 0,18 (5,81)	2,62 $\pm$ 0,12 (4,77)	2,31 $\pm$ 0,01 (0,54)
2	2,77 $\pm$ 0,19 (6,93)	2,36 $\pm$ 0,02 (0,96)	2,37 $\pm$ 0,15 (6,29)	2,66 $\pm$ 0,19 (7,07)	2,37 $\pm$ 0,06 (2,70)	2,85 $\pm$ 0,15 (5,37)
3	2,27 $\pm$ 0,17 (7,59)	1,91 $\pm$ 0,15 (7,52)	2,29 $\pm$ 0,28 (12,16)	3,26 $\pm$ 0,29 (8,84)	2,93 $\pm$ 0,13 (4,50)	2,37 $\pm$ 0,20 (8,33)
Média	2,48 ^a	2,05 ^a	2,34 ^a	3,00 ^a	2,64 ^a	2,51 ^a
DP	0,26	0,27	0,04	0,31	0,28	0,30
CV	10,46	12,94	1,86	10,26	10,63	11,79

	7 β -OH			25-OH		
	OLI	OLIP	OIPA	OLI	OLIP	OIPA
1	2,45 $\pm$ 0,22 (9,15)	2,62 $\pm$ 0,12 (4,77)	2,39 $\pm$ 0,11 (0,54)	0,81 $\pm$ 0,05 (6,52)	0,98 $\pm$ 0,07 (7,02)	0,96 $\pm$ 0,05 (4,82)
2	2,16 $\pm$ 0,12 (5,59)	2,06 $\pm$ 0,08 (3,83)	2,29 $\pm$ 0,10 (4,33)	0,85 $\pm$ 0,08 (9,83)	0,92 $\pm$ 0,09 (3,53)	0,95 $\pm$ 0,05 (5,32)
3	2,41 $\pm$ 0,25 (10,41)	2,19 $\pm$ 0,26 (11,79)	2,43 $\pm$ 0,25 (10,41)	0,76 $\pm$ 0,06 (8,29)	0,96 $\pm$ 0,03 (3,43)	0,89 $\pm$ 0,05 (5,41)
Média	2,34 ^a	2,29 ^a	2,37 ^a	0,81 ^a	0,95 ^b	0,93 ^{a,b}
DP	0,16	0,29	0,07	0,05	0,03	0,04
CV	6,72	12,8	3,04	5,59	3,2	4,06

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa ($p>0,05$)

Os resultados obtidos foram expressos e também calculados como somatórios dos OsC do carbono 7 da molécula do colesterol ΣC7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH) e dos OsC, ΣOsC (7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH), em $\mu\text{g/g}$ de lípides e $\mu\text{g/g}$ de amostra em base seca, e representados na Tabela 15, além da inclusão do 25-OH. Os valores indicados não apresentaram variações expressivas, considerando os processos de pasteurização e atomização.

Tabela 15 – Somatório dos OsC do carbono 7 da molécula do colesterol, $\Sigma C7$ (7-cetocolesterol (7-ceto), 7α -hidroxicoolesterol (7α -OH), 7β -hidroxicoolesterol (7β -OH)) e 25-hidroxicoolesterol (25-OH) e o somatório dos OsC, ΣOsC (7-ceto, 7α -OH, 7β -OH e 25-OH), em $\mu\text{g/g}$ de lípides e $\mu\text{g/g}$ de amostra (base seca) em de ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA)

$\mu\text{g/g}$ de lípides			
	$\Sigma C7$	25-OH	ΣOsC
OLI	$110,55^a \pm 4,66$ (4,21)	$11,30^a \pm 0,76$ (5,02)	$121,81^a \pm 13,33$ (10,94)
OLIP	$104,67^a \pm 4,73$ (4,52)	$14,37^a \pm 0,72$ (5,02)	$119,04^a \pm 10,96$ (9,21)
OIPA	$104,54^a \pm 2,31$ (2,21)	$13,11^a \pm 0,93$ (7,06)	$117,65^a \pm 11,03$ (9,38)
$\mu\text{g/g}$ de amostra			
	$\Sigma C7$	25-OH	ΣOsC
OLI	$7,82 \pm 0,35$ (4,45)	$0,81 \pm 0,05$ (5,59)	$8,63 \pm 0,94$ (10,92)
OLIP	$6,98 \pm 0,30$ (4,25)	$0,95 \pm 0,03$ (3,20)	$7,93 \pm 0,73$ (9,20)
OIPA	$7,22 \pm 0,09$ (1,26)	$0,93 \pm 0,04$ (4,06)	$8,15 \pm 0,74$ (9,11)

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa ($p > 0,05$)

5.2.5 Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico – TBARS

O ovo líquido integral, ovo líquido integral pasteurizado e ovo integral atomizado foram avaliados em relação à oxidação dos ácidos graxos, por meio das TBARS (mg/Kg). Houve variação de $0,0180 \pm 0,0030$ a $0,5760 \pm 0,0051$ (Tabela 16), quando a matriz foi submetida a algum processo de aquecimento (pasteurização e atomização), expressando tendência de aumento e indicando eventual oxidação de ácidos graxos. A importância da avaliação feita reside no fato de a oxidação dos ácidos graxos poder ser encarada como uma condição predisponente à oxidação do colesterol, pela similaridade dos eventos oxidativos entre ambos.

Tabela 16 – Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (mg aldeído malônico /Kg) em ovo líquido integral (OLI), ovo líquido integral pasteurizado (OLIP) e ovo integral em pó atomizado (OIPA)

Lote	OLI	OLIP	OIPA
1	0,0180 ± 0,0003 (1,7100)	0,0960 ± 0,0018 (1,8600)	0,5770 ± 0,0215 (0,7300)
2	0,0210 ± 0,0020 (9,4700)	0,0940 ± 0,0042 (4,4600)	0,5800 ± 0,0331 (6,4500)
3	0,0150 ± 0,0006 (4,0300)	0,0720 ± 0,0014 (1,8800)	0,5700 ± 0,0008 (1,9300)
Média	0,0180 ^a	0,0870 ^b	0,5760 ^c
DP	0,0030	0,0133	0,0051
CV	16,6667	15,2481	0,8914

Média ± Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

5.2.6 Avaliação do ovo integral em pó atomizado em relação à estabilidade oxidativa do colesterol durante o armazenamento

5.2.6.1 Umidade e lípidos totais

Os resultados das análises das amostras e lípidos totais das amostras de ovo integral em pó mantidas armazenadas em até 90 dias, incluídos na Tabela 17, Indicaram a partir do 30º dia um ligeiro aumento em relação à umidade e nenhuma modificação quantitativa na fração lipídica, ao longo do tempo. Os valores encontrados estão de acordo com a legislação, (BRASIL, 1991).

MEDINA (2010) verificou aumento da umidade durante o armazenamento de ovo em pó comercial por 90 dias, de $4,90 \pm 0,08$ a $5,47 \pm 0,07\text{g}/100\text{g}$, atribuindo a hidratação observada à natureza levemente higroscópica do produto.

Tabela 17 – Umidade e lípidos totais em ovo integral em pó atomizado, armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias à temperatura ambiente (25°C), no escuro (g/100g)

Umidade (g/100g)				
Lote	Dia			
	0	30	60	90
1	2,23 ± 0,18 (1,52)	2,73 ± 0,11 (3,87)	2,97 ± 0,17 (5,82)	2,76 ± 0,17 (6,28)
2	1,96 ± 0,10 (2,06)	2,60 ± 0,09 (3,43)	2,78 ± 0,05 (1,85)	2,97 ± 0,15 (5,11)
3	2,23 ± 0,05 (2,04)	2,69 ± 0,05 (1,99)	3,06 ± 0,26 (8,56)	2,68 ± 0,14 (5,38)
Média	2,14 ^a	2,67 ^b	2,94 ^c	2,80 ^{b,c}
DP	0,16	0,07	0,14	0,15
CV	7,28	2,49	4,87	5,34
Lípides (g/100g)				
1	44,58 ± 3,19 (7,16)	44,62 ± 1,25 (2,80)	43,69 ± 0,46 (1,06)	44,36 ± 0,69 (1,55)
2	43,51 ± 3,03 (6,97)	44,73 ± 1,03 (2,31)	44,28 ± 1,58 (3,56)	41,48 ± 0,75 (1,81)
3	44,20 ± 1,27 (2,87)	44,80 ± 1,62 (3,61)	44,31 ± 0,95 (2,15)	43,45 ± 1,24 (2,86)
Média	44,10 ^a	44,72 ^a	44,09 ^a	43,10 ^a
DP	0,54	0,09	0,35	1,47
CV	1,23	0,20	0,79	3,42

Média ± Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

As embalagens utilizadas no presente trabalho eram permeáveis ao vapor d'água, o que poderia justificar a tendência de aumento da umidade durante o armazenamento. Para impedir que ocorram manifestações químicas e/ou microbiológicas durante o armazenamento, é importante que o ovo em pó tenha baixa umidade.

5.2.6.2 Capacidade antioxidativa

Os resultados da avaliação da capacidade antioxidativa do ovo integral em pó atomizado armazenado, constantes na Tabela 18, não indicaram alteração durante o período experimental.

Tabela 18 – Capacidade antioxidativa em ovo integral em pó atomizado armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias, à temperatura ambiente (25°C), no escuro, medida pelo DPPH* (2,2-difenil-picrilhidrazila) (%) (base seca)

Lote	Dia			
	0	30	60	90
1	16,75 ± 0,27 (1,58)	16,80 ± 0,41 (2,44)	15,84 ± 0,66 (4,19)	13,37 ± 0,45 (3,33)
2	17,58 ± 0,28 (1,58)	13,89 ± 0,77 (5,51)	13,40 ± 0,24 (1,76)	14,09 ± 0,46 (3,23)
3	15,22 ± 0,32 (2,08)	16,54 ± 0,68 (4,14)	13,38 ± 0,20 (1,49)	13,51 ± 0,36 (2,63)
Média	16,52 ^a	15,75 ^a	14,21 ^a	13,99 ^a
DP	1,20	1,61	1,41	0,38
CV	7,25	10,24	9,95	2,80

Média ± Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

5.2.6.3 Fenólicos totais

Conforme a Tabela 19 houve tendência de diminuição dos fenólicos totais no ovo integral em pó atomizado, ao longo da armazenagem de até 90 dias. Essa tendência seria um resultado esperado, diante da possibilidade de os fenólicos estarem protegendo componentes oxidáveis do ovo, cujo assunto, contudo, não foi contemplado na literatura consultada.

Tabela 19 – Fenólicos totais em ovo integral em pó atomizado, armazenado (0, 30, 60 e 90 dias) à temperatura ambiente (25°C), no escuro, expressados em mg de ácido gálico/g de amostra

Lote	Dia			
	0	30	60	90
1	0,48 ± 0,03 (7,10)	0,44 ± 0,01 (1,54)	0,36 ± 0,01 (2,62)	0,35 ± 0,01 (1,62)
2	0,42 ± 0,03 (7,07)	0,38 ± 0,00 (0,41)	0,33 ± 0,01 (3,27)	0,35 ± 0,01 (1,62)
3	0,43 ± 0,01 (1,68)	0,36 ± 0,00 (1,13)	0,36 ± 0,00 (1,14)	0,33 ± 0,00 (0,81)
Média	0,44 ^a	0,39 ^{a,b}	0,35 ^b	0,34 ^b
DP	0,03	0,04	0,02	0,01
CV	7,25	10,58	5,20	2,21

Média ± Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

5.2.6.4 Óxidos de colesterol

Os resultados da avaliação feita estão indicados na Tabela 20, em $\mu\text{g/g}$ de lípidos). Os referidos resultados aparecem calculados e expressados em $\mu\text{g/g}$ de amostra, em base seca, na Tabela 21, estão apresentados como somatórios dos óxidos correspondentes, na Tabela 22, e reunidos nos Gráficos 2 e 3 (Apêndice).

Tabela 20 – 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH) e 25-hidroxicolesterol (25-OH) livres em $\mu\text{g/g}$ de lípidos, em ovo integral em pó atomizado armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias, à temperatura ambiente (25°C), no escuro

Lote	7-ceto				7 α -OH			
	Dia				Dia			
	0	30	60	90	0	30	60	90
1	33,30 $\pm$ 3,45 (2,02)	38,50 $\pm$ 3,74 (9,71)	37,90 $\pm$ 2,23 (5,89)	42,81 $\pm$ 0,76 (1,78)	36,62 $\pm$ 2,23 (6,83)	49,02 $\pm$ 4,17 (8,50)	49,54 $\pm$ 1,06 (2,13)	52,51 $\pm$ 2,01 (3,84)
2	34,96 $\pm$ 5,55 (4,08)	35,30 $\pm$ 0,72 (2,05)	38,49 $\pm$ 1,71 (4,43)	45,61 $\pm$ 1,43 (3,13)	40,70 $\pm$ 3,05 (7,50)	44,56 $\pm$ 2,15 (4,82)	49,41 $\pm$ 1,53 (3,09)	51,91 $\pm$ 2,14 (4,12)
3	29,76 $\pm$ 6,91 (5,36)	36,50 $\pm$ 1,94 (5,32)	38,67 $\pm$ 2,21 (5,71)	42,80 $\pm$ 0,35 (0,81)	34,49 $\pm$ 1,78 (5,17)	48,02 $\pm$ 1,69 (3,52)	48,05 $\pm$ 0,63 (1,32)	51,00 $\pm$ 0,99 (1,94)
Média	32,67 ^a	36,77 ^{a,b}	38,35 ^b	43,74 ^c	37,27 ^a	47,20 ^b	49,00 ^{b,c}	51,81 ^c
DP	2,66	1,62	0,40	1,62	3,16	2,34	0,83	0,76
CV	8,13	4,4	1,05	3,7	8,47	4,96	1,68	1,47

	7 β -OH				25-OH			
	0	30	60	90	0	30	60	90
1	33,75 $\pm$ 2,28 (6,75)	40,27 $\pm$ 2,78 (6,92)	34,78 $\pm$ 0,76 (2,16)	38,27 $\pm$ 1,11 (2,90)	12,95 $\pm$ 0,62 (4,76)	17,55 $\pm$ 1,04 (5,90)	25,46 $\pm$ 2,16 (8,48)	16,15 $\pm$ 1,37 (8,47)
2	34,99 $\pm$ 2,21 (6,32)	37,13 $\pm$ 0,95 (2,55)	34,78 $\pm$ 1,01 (2,90)	36,49 $\pm$ 1,41 (3,85)	14,10 $\pm$ 1,33 (9,43)	15,06 $\pm$ 0,74 (4,89)	24,04 $\pm$ 0,79 (3,27)	17,75 $\pm$ 0,87 (4,90)
3	35,05 $\pm$ 2,63 (1,24)	36,81 $\pm$ 3,30 (8,97)	33,24 $\pm$ 1,02 (3,08)	36,42 $\pm$ 1,45 (3,97)	12,27 $\pm$ 1,12 (9,10)	15,24 $\pm$ 0,47 (3,10)	23,07 $\pm$ 1,13 (4,88)	17,08 $\pm$ 0,24 (1,40)
Média	34,60 ^a	38,07 ^b	34,27 ^a	37,06 ^b	13,11 ^a	15,95 ^b	24,19 ^c	16,99 ^b
DP	0,73	1,91	0,89	1,05	0,93	1,39	1,20	0,80
CV	2,12	5,02	2,59	2,83	7,06	8,71	4,97	4,73

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa ($p>0,05$)

Tabela 21 – 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH) e 25-hidroxicoolesterol (25-OH) em $\mu\text{g/g}$ de amostra (base seca) em ovo integral em pó atomizado armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias, à temperatura ambiente (25°C), no escuro

Lote	7-ceto				7 α -OH			
	Dia				Dia			
	0	30	60	90	0	30	60	90
1	2,36 $\pm$ 0,08 (3,30)	2,65 $\pm$ 0,33 (12,34)	2,56 $\pm$ 0,33 (12,72)	2,85 $\pm$ 0,25 (8,62)	2,31 $\pm$ 0,01 (0,54)	3,27 $\pm$ 0,52 (15,95)	3,44 $\pm$ 0,14 (4,07)	3,61 $\pm$ 0,07 (1,91)
2	2,37 $\pm$ 0,15 (6,29)	2,30 $\pm$ 0,14 (5,96)	2,52 $\pm$ 0,12 (4,75)	3,13 $\pm$ 0,24 (7,82)	2,85 $\pm$ 0,15 (5,37)	2,81 $\pm$ 0,12 (4,12)	3,22 $\pm$ 0,03 (0,96)	3,55 $\pm$ 0,54 (15,29)
3	2,29 $\pm$ 0,28 (12,16)	2,33 $\pm$ 0,09 (3,78)	2,79 $\pm$ 0,02 (0,83)	2,45 $\pm$ 0,44 (18,15)	2,37 $\pm$ 0,20 (8,33)	3,20 $\pm$ 0,12 (3,64)	3,42 $\pm$ 0,24 (6,97)	3,00 $\pm$ 0,62 (20,69)
Média	2,34 ^a	2,43 ^{ab}	2,62 ^b	2,81 ^c	2,51 ^a	3,09 ^b	3,36 ^{bc}	3,39 ^c
DP	0,04	0,19	0,15	0,34	0,30	0,25	0,12	0,34
CV	1,86	7,99	5,55	12,16	11,79	8,01	3,62	9,93

Lote	7 β -OH				25-OH			
	Dia				Dia			
	0	30	60	90	0	30	60	90
1	2,39 $\pm$ 0,11 (0,54)	2,63 $\pm$ 0,28 (10,66)	2,35 $\pm$ 0,12 (4,92)	2,62 $\pm$ 0,22 (8,51)	0,96 $\pm$ 0,05 (4,82)	1,14 $\pm$ 0,12 (10,80)	1,76 $\pm$ 0,15 (8,73)	1,06 $\pm$ 0,05 (4,67)
2	2,29 $\pm$ 0,10 (4,33)	2,45 $\pm$ 0,13 (5,17)	2,27 $\pm$ 0,20 (4,63)	2,48 $\pm$ 0,21 (8,33)	0,95 $\pm$ 0,05 (5,32)	0,99 $\pm$ 0,05 (4,82)	1,58 $\pm$ 0,02 (1,44)	1,22 $\pm$ 0,15 (12,41)
3	2,43 $\pm$ 0,25 (10,41)	2,42 $\pm$ 0,38 (15,93)	2,41 $\pm$ 0,18 (7,60)	2,56 $\pm$ 0,06 (2,38)	0,89 $\pm$ 0,05 (5,41)	1,07 $\pm$ 0,10 (9,16)	1,60 $\pm$ 0,14 (8,74)	1,14 $\pm$ 0,14 (11,96)
Média	2,37 ^a	2,50 ^b	2,34 ^a	2,55 ^b	0,93 ^a	1,07 ^b	1,65 ^c	1,14 ^b
DP	0,07	0,11	0,07	0,07	0,04	0,08	0,10	0,08
CV	3,04	4,54	3	2,75	4,06	7,04	5,99	7,02

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa ($p>0,05$)

Durante o período experimental foi observado que o 7-ceto e o 7 α -OH foram os OsC formados mais consistentemente e poderiam indicar crescente oxidação do colesterol, o que não pôde ser verificado em relação ao 7 β -OH. A evolução do 25-OH se deu até o 60º dia.

No 90º dia de experimento foi observado um incremento de 24,02% na oxidação do colesterol, em relação ao dia zero, levando em conta o somatório dos OsC da molécula do carbono 7 (ΣC7), expressado em $\mu\text{g/g}$ de lípides. Incremento de 24,79%, muito parecido ao mencionado, foi verificado quando considerado o somatório de todos os óxidos quantificados (ΣOsC), conforme a Tabela 22.

Tabela 22 – Somatório dos OsC do carbono 7 da molécula do colesterol, $\Sigma C7$ (7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e 25-hidroxicoolesterol (25-OH) e o somatório dos OsC, ΣOsC (7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH e 25-OH) em $\mu\text{g/g}$ de lípidos e $\mu\text{g/g}$ de amostra (base seca) em ovo integral em pó atomizado armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias, à temperatura ambiente (25°C), no escuro

$\mu\text{g/g}$ de lípidos			
Dia	$\Sigma C7$	25-OH	ΣOsC
0	104,54 ^a ± 2,31 (2,21)	13,11 ^a ± 0,93 (7,06)	117,65 ^a ± 11,03 (9,38)
30	122,04 ^b ± 5,68 (4,66)	15,95 ^b ± 1,39 (8,71)	137,99 ^b ± 13,21 (9,57)
60	121,82 ^b ± 7,58 (6,22)	24,19 ^c ± 1,20 (4,97)	146,01 ^b ± 10,28 (7,04)
90	129,82 ^c ± 8,78 (6,76)	16,99 ^b ± 0,80 (4,73)	146,81 ^b ± 14,97 (10,20)
$\mu\text{g/g}$ de amostra			
0	6,92 ± 0,09 (1,23)	0,93 ± 0,04 (4,06)	7,85 ± 0,69 (8,81)
30	8,02 ± 0,36 (4,52)	1,07 ± 0,08 (7,04)	9,09 ± 0,85 (9,40)
60	8,32 ± 0,53 (6,33)	1,65 ± 0,10 (5,99)	9,97 ± 0,71 (7,10)
90	8,75 ± 0,43 (4,91)	1,14 ± 0,08 (7,02)	9,89 ± 0,96 (9,66)

Média ± Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa ($p > 0,05$)

Quando comparado o 25-OH com o $\Sigma C7$ (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), os resultados obtidos mostram que o 25-OH representou em torno de 10% do valor total dos óxidos formados, indicando que no carbono 7 é a posição mais comum onde se dão as reações de oxidação.

A presença dos OsC, mesmo que seus valores encontrados estejam abaixo dos relatados na literatura (ESCARABAJAL; TENUTA-FILHO, 2005a; CABONI et al., 2005; MAZZALI; BAGAGNOLO, 2007), denuncia a instabilidade oxidativa do ovo integral em pó, que pode ter ocorrido durante o processamento do produto e/ou na armazenagem subsequente a que foi submetido.

LAI et al. (1995) verificaram o efeito do tempo de armazenagem do ovo em pó em relação ao colesterol, trabalhando com o produto obtido por sistema de aquecimento indireto do ar (elétrico), embalado em bolsa plástica (*polyethylene-*

laminated nylon) sob vácuo, e avaliando os óxidos epóxidos, α e β , e os derivados do C7 (7α -OH, 7β -OH e 7-ceto). O total de óxidos quantificados no início do experimento era de $8,57\mu\text{g/g}$; aos 6 meses, aumentou para $42,54\mu\text{g/g}$, cerca de 396%. Quanto à participação dos óxidos, os do C7, que no início do experimento correspondiam a 65,5%, foi reduzida para 42,1%; a dos óxidos epóxidos aumentou, de 34,5% para 57,9%.

Em condições de aquecimento direto, com gás, que é uma das formas empregadas no processo de atomização do ovo (integral ou gema), tem sido apontada formação significativa de óxidos de colesterol. Essa oxidação do colesterol é em decorrência da produção de óxidos de nitrogênio (NO, NO₂) gerados na combustão do gás, que podem atuar como iniciadores da autooxidação (LAI et al., 1995; TSAI; HUDSON, 1985; MORGAN; ARMSTRONG, 1992).

É importante considerar que o processamento, assim como os equipamentos, usados na fabricação de ovo em pó ou gema em pó sejam avaliados em relação à oxidação do colesterol. O objetivo é o de tornar nula, ou reduzir a um mínimo inevitável, a formação de óxidos de colesterol.

As temperaturas de 170°C, de entrada, e 70°C, de saída, empregadas no processo de atomização, no presente trabalho, foram consideradas moderadas comparadas com as normalmente utilizadas na produção comercial do ovo em pó, em torno de 225/140°C (HUBER et al., 1995, MINE, 2008).

É possível, portanto, que o uso conjunto do gás inerte (nitrogênio), para promover a aspersão da matéria-prima, do aquecimento indireto (elétrico) e das temperaturas de 170/70°C, tenham contribuído na obtenção do ovo integral pasteurizado atomizado em laboratório com mais estabilidade oxidativa do colesterol (Tabela 22) e com reflexo durante o armazenamento do produto.

5.2.6.5 Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico – TBARS

A evolução das TBARS durante o experimento expressou tendência de aumento indicando possível oxidação dos ácidos graxos (Tabela 23).

Tabela 23 – Substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (mg aldeído malônico/Kg) em ovo integral em pó armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias, à temperatura ambiente (25°C), no escuro, em base seca

Lote	Dia			
	0	30	60	90
1	0,5770 ± 0,0215 (0,7300)	0,9500 ± 0,0241 (2,5300)	0,9200 ± 0,0378 (4,0990)	0,9680 ± 0,0115 (1,1900)
2	0,5800 ± 0,0331 (6,4500)	0,8300 ± 0,0469 (5,6600)	0,9500 ± 0,0235 (2,4800)	0,9720 ± 0,0117 (1,2100)
3	0,5700 ± 0,0008 (1,9300)	0,8600 ± 0,0150 (1,7600)	0,9419 ± 0,0127 (1,3469)	0,9776 ± 0,0114 (1,1688)
Média	0,5757 ^a	0,8800 ^b	0,9373 ^b	0,9725 ^b
DP	0,0051	0,0624	0,0155	0,0048
CV	0,8914	7,0966	1,6558	0,4958

Média ± Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

As TBARS, quantificadas entre 0,5757 ± 0,051 a 0,9725 ± 0,0048 mg de AM/Kg de amostra seca (Tabela 23), indicam a possibilidade de ter havido oxidação de ácidos graxos, a partir do 30º dia. Produtos intermediários dessa oxidação poderiam, por sua vez, ter contribuído para a oxidação do colesterol, por peroxidação. De acordo com a Tabela 17, a presença de lípides em ovo integral em pó é bastante significativa, cuja quantidade total atingiu 43,10 a 44,72 g/100g. A insaturação dos ácidos graxos desta fração lipídica é também significativa. Segundo a literatura, cerca de 60% de ácidos graxos insaturados [palmitoleico (C16:1), 2,6%; oleico (C18:1), 35,6%; linoleico (C18:2), 12,9% e linolênico (C18:3), 10,3%] formam a fração lipídica do ovo (SIM; NAKAI, 1994; MINE, 2008).

5.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ADIÇÃO DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS COMERCIAIS DURANTE O PROCESSAMENTO DO OVO INTEGRAL EM PÓ ATOMIZADO MANTIDO ARMAZENADO, EM RELAÇÃO À ESTABILIDADE OXIDATIVA DO COLESTEROL

Tendo sido verificada oxidação do colesterol em ovo integral em pó atomizado armazenado por 90 dias, foi examinada a oportunidade de inibição do evento observado pelo emprego de antioxidantes naturais comerciais. Os antioxidantes envolvidos foram o GUARDIAN® Rosemary Extract (RE) e o GUARDIAN™ TOCO 70 (TOCO 70), extratos de alecrim e de tocoferóis,

respectivamente. O estudo envolveu ainda a adição de sulfato de cobre ao ovo líquido integral pasteurizado e ao ovo integral em pó atomizado, como indutor da oxidação. A oxidação induzida foi monitorada pelos óxidos 7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH e pelo somatório de ambos.

5.3.1 Avaliação da estabilidade oxidativa do colesterol do ovo integral em pó atomizado adicionado ou não de sulfato de cobre, durante o armazenamento

No ovo integral em pó atomizado (OIPA) mantido armazenado por até 21 dias foi observada oxidação do colesterol, considerando o somatório dos óxidos (7-ceto+7 α -OH+7 β -OH). Um acréscimo de até 8,28% foi observado no 14º dia de armazenamento em relação ao dia zero (Tabela 24; Gráfico 4, do Apêndice). A adição de sulfato de cobre ao OIPA (antes da atomização) catalisou fortemente a oxidação do colesterol no produto. A oxidação observada foi de 937,10% (ou 10,37 vezes mais), verificada no 21º dia de experimento (Tabela 25; Gráfico 5, do Apêndice).

O somatório dos óxidos constatado no ovo integral em pó atomizado, no dia zero de armazenamento, foi de 72,08 μ g/g de lípides (Tabela 24). Com a adição de sulfato de cobre ao produto, esse somatório foi elevado para 191,69 μ g/g de lípides (Tabela 25). A contribuição do cobre no processo oxidativo foi, portanto, de 65,94%.

Tabela 24 – Estabilidade oxidativa do colesterol, avaliado através dos óxidos 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e o Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), em ovo integral em pó atomizado armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias, à temperatura de 25°C, no escuro

$\mu\text{g/g}$ de lípides				
Lote	7-ceto			
	Dia			
	0	7	14	21
1	22,29 $\pm$ 1,11 (4,98)	25,28 $\pm$ 1,50 (5,92)	25,76 $\pm$ 1,25 (4,85)	24,68 $\pm$ 0,81 (3,30)
2	23,41 $\pm$ 0,54 (2,33)	24,42 $\pm$ 1,18 (4,82)	26,03 $\pm$ 0,40 (1,52)	25,56 $\pm$ 1,54 (6,03)
3	22,73 $\pm$ 2,22 (9,76)	23,56 $\pm$ 1,47 (6,24)	26,43 $\pm$ 1,42 (5,37)	24,46 $\pm$ 1,56 (6,39)
Média	22,81 ^a	24,42 ^{a,b}	26,07 ^b	24,90 ^b
DP	0,56	0,86	0,34	0,58
CV	2,47	3,52	1,29	2,34

7 α -OH				
1	24,24 $\pm$ 2,32 (9,57)	26,92 $\pm$ 0,73 (2,72)	26,19 $\pm$ 1,23 (4,71)	25,56 $\pm$ 0,33 (1,28)
2	23,71 $\pm$ 0,93 (3,94)	26,85 $\pm$ 0,48 (1,80)	25,61 $\pm$ 0,96 (3,75)	26,03 $\pm$ 1,86 (7,16)
3	24,52 $\pm$ 1,40 (5,71)	25,91 $\pm$ 0,68 (2,61)	26,18 $\pm$ 1,62 (6,17)	25,04 $\pm$ 1,54 (6,17)
Média	24,16 ^a	26,56 ^b	25,99 ^b	25,54 ^b
DP	0,41	0,56	0,33	0,50
CV	1,70	2,12	1,28	1,94

7 β -OH				
1	24,78 $\pm$ 1,55 (6,25)	26,48 $\pm$ 2,01 (7,59)	26,07 $\pm$ 1,19 (4,57)	25,58 $\pm$ 0,29 (1,13)
2	25,18 $\pm$ 1,72 (6,81)	27,23 $\pm$ 0,82 (3,01)	25,45 $\pm$ 1,12 (4,42)	25,94 $\pm$ 2,13 (8,22)
3	25,37 $\pm$ 0,67 (2,66)	25,40 $\pm$ 0,91 (3,57)	26,44 $\pm$ 1,15 (4,36)	24,92 $\pm$ 0,52 (2,10)
Média	25,11 ^a	26,37 ^a	25,98 ^a	25,48 ^a
DP	0,30	0,92	0,50	0,52
CV	1,20	3,49	1,92	2,03

Σ C7				
1	71,31 $\pm$ 1,33 (1,86)	78,68 $\pm$ 0,89 (1,13)	78,02 $\pm$ 0,90 (1,15)	75,82 $\pm$ 0,91 (1,18)
2	72,30 $\pm$ 1,14 (1,58)	78,50 $\pm$ 1,10 (1,40)	77,09 $\pm$ 1,01 (1,31)	77,53 $\pm$ 1,01 1,30
3	72,62 $\pm$ 1,23 (1,69)	74,87 $\pm$ 0,92 (1,23)	79,05 $\pm$ 0,76 (0,96)	74,42 $\pm$ 0,70 (0,94)
Média	72,08 ^a	77,35 ^b	78,05 ^b	75,92 ^b
DP	1,16	1,18	0,05	0,35
CV	1,60	1,53	0,06	0,47

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

Tabela 25 – Estabilidade oxidativa do colesterol, avaliado através dos óxidos 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e o Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), em ovo integral em pó atomizado adicionado de sulfato de cobre, armazenado por 0, 7, 14 e 21 dias, à temperatura de 25°C, no escuro

$\mu\text{g/g}$ de lípides				
Lote	7-ceto			
	Dia			
	0	7	14	21
1	96,14 $\pm$ 3,85 (1,41)	195,95 $\pm$ 15,48 (7,90)	1182,14 $\pm$ 25,38 (2,15)	1453,78 $\pm$ 79,93 (5,50)
2	93,53 $\pm$ 1,32 (2,33)	189,97 $\pm$ 11,14 (5,86)	1114,53 $\pm$ 22,70 (2,04)	1481,28 $\pm$ 34,37 (2,32)
3	93,62 $\pm$ 5,17 (5,52)	194,62 $\pm$ 16,90 (8,68)	1206,11 $\pm$ 43,25 (3,59)	1483,68 $\pm$ 136,58 (9,21)
Média	94,43 ^a	193,51 ^b	1167,59 ^c	1472,91 ^d
DP	1,48	3,14	47,49	16,61
CV	1,57	1,62	4,07	1,13

7 α -OH				
1	54,45 $\pm$ 4,60 (8,45)	103,06 $\pm$ 5,22 (5,06)	247,93 $\pm$ 10,71 (8,29)	258,25 $\pm$ 18,74 (7,26)
2	52,19 $\pm$ 4,20 (7,77)	100,62 $\pm$ 7,37 (7,33)	233,02 $\pm$ 12,76 (2,04)	263,85 $\pm$ 19,14 (7,25)
3	50,92 $\pm$ 6,27 (5,71)	102,79 $\pm$ 8,05 (7,83)	252,76 $\pm$ 20,55 (8,13)	263,59 $\pm$ 22,08 (8,38)
Média	52,52 ^a	102,16 ^b	244,57 ^c	261,90 ^d
DP	1,79	1,34	10,29	3,16
CV	3,40	1,31	4,21	1,21

7 β -OH				
1	46,01 $\pm$ 3,16 (6,87)	107,93 $\pm$ 8,65 (8,02)	237,81 $\pm$ 8,29 (3,48)	249,79 $\pm$ 19,70 (7,89)
2	42,64 $\pm$ 1,84 (4,32)	104,61 $\pm$ 3,76 (3,60)	224,33 $\pm$ 9,08 (4,05)	254,69 $\pm$ 16,95 (6,66)
3	45,58 $\pm$ 4,28 (9,39)	107,34 $\pm$ 6,83 (6,37)	241,95 $\pm$ 10,64 (4,40)	255,15 $\pm$ 24,80 (9,72)
Média	44,74 ^a	106,63 ^b	234,70 ^c	253,21 ^d
DP	1,83	1,77	9,21	2,97
CV	4,10	1,66	3,93	1,17

Σ C7				
1	196,60 $\pm$ 26,84 (13,65)	406,94 $\pm$ 52,28 (12,85)	1667,78 $\pm$ 542,31 (32,52)	1961,82 $\pm$ 692,69 (35,31)
2	188,36 $\pm$ 27,05 (14,36)	395,20 $\pm$ 50,47 (12,77)	1571,88 $\pm$ 511,47 (32,54)	1999,82 $\pm$ 705,54 (35,28)
3	190,12 $\pm$ 26,33 (13,85)	404,75 $\pm$ 51,75 (12,79)	1700,82 $\pm$ 553,56 (32,55)	2002,42 $\pm$ 706,87 (35,30)
Média	191,69 ^a	402,30 ^b	1646,86 ^c	1988,02 ^d
DP	26,73	51,50	535,78	701,70
CV	13,94	12,80	32,53	35,30

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

5.3.2 Avaliação do antioxidante naturais adicionados ao ovo integral em pó atomizado antes e depois do processo de atomização, durante o armazenamento

Conforme as Tabelas 26 e 27 e Gráficos 6 e 7 (Apêndice), com base nos somatórios dos óxidos analisados, a adição do antioxidante RE ao ovo integral em pó atomizado, antes do processo de atomização, resultou em maior proteção oxidativa do colesterol, comparado ao TOCO 70, durante o período experimental. A proteção apenas parcial e insuficiente exercida pelo RE, se examinada pela diferença dos óxidos totais formados no 7º, 14º e 21º dia em relação ao dia zero, revela um incremento ao longo do armazenamento de 82,92, 120,31 e 144,73 µg/g de lípidos, respectivamente (Tabela 26), contrastando com o TOCO 70, cujo aumento foi de 117,34, 1.333,96 e 1.522,64 µg/g de lípidos, respectivamente (Tabela 27).

De acordo com as Tabelas 28 e 29 e Gráficos 8 e 9 (Apêndice), igualmente com base nos somatórios dos óxidos analisados, a adição do antioxidante RE ao ovo integral em pó atomizado depois de obtido o produto, resultou em maior proteção oxidativa do colesterol, comparado ao TOCO 70, verificada apenas no 7º dia de armazenamento. A diferença dos óxidos totais formados no 7º dia em relação ao dia zero, revelou um incremento de 101,01µg/g de lípidos (Tabela 28), contrastando com o TOCO 70, cujo aumento foi de 372,64 µg/g de lípidos (Tabela 29). A diferença dos óxidos totais formados no 14º e 21º dia em relação ao dia zero, no caso do RE, revelou um incremento de 1.727,73 e 2.778,09 µg/g de lípidos, respectivamente (Tabela 28), contrastando com o TOCO 70, cujo aumento foi menor, de 1.210,44 e 1.347,38 µg/g de lípidos (Tabela 29). Para o fato de o TOCO 70 ter apresentado resultados diferentes em relação ao RE, a partir do 14ºdia de armazenamento, segundo as Tabelas 28 e 29, não foi encontrada justificativa cabível.

De um modo geral, a análise das Tabelas 26 a 29 permite considerar mais apropriada a incorporação dos antioxidantes no ovo líquido integral logo que pasteurizado, isto é, antes da atomização necessária à obtenção do produto em pó. Essa constatação é favorável ao fato de que a adição de antioxidante num produto

em pó é mais difícil e, por isso, sujeita a indesejáveis imperfeições, quando se considera a produção em escala industrial.

Tabela 26 – Estabilidade oxidativa do colesterol, avaliado através dos óxidos 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH)) e o Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), em ovo integral em pó atomizado adicionado de sulfato de cobre, e antioxidante RE, antes do processo da atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias, à temperatura de 25°C, no escuro

$\mu\text{g/g}$ de lípidos				
Lote	7-ceto			
	Dia			
	0	7	14	21
1	38,72 $\pm$ 2,75 (7,11)	64,84 $\pm$ 2,18 (3,36)	81,67 $\pm$ 7,20 (8,82)	88,61 $\pm$ 2,82 (3,19)
2	38,43 $\pm$ 3,23 (8,40)	60,84 $\pm$ 4,07 (6,70)	79,48 $\pm$ 2,71 (3,41)	85,59 $\pm$ 2,25 (2,63)
3	37,73 $\pm$ 2,60 (6,89)	65,91 $\pm$ 4,81 (7,29)	81,22 $\pm$ 8,07 (9,93)	89,96 $\pm$ 4,76 (5,59)
Média	38,29 ^a	63,86 ^b	80,79 ^c	88,05 ^d
DP	0,51	2,67	1,16	2,24
CV	1,33	4,18	1,43	2,54
7 α -OH				
1	30,52 $\pm$ 2,71 (8,90)	66,67 $\pm$ 4,89 (7,33)	65,81 $\pm$ 1,90 (2,89)	70,93 $\pm$ 2,02 (2,85)
2	33,36 $\pm$ 3,24 (9,72)	66,95 $\pm$ 1,62 (2,42)	64,72 $\pm$ 2,71 (9,75)	71,29 $\pm$ 5,97 (8,37)
3	30,93 $\pm$ 2,43 (7,85)	70,69 $\pm$ 4,78 (6,76)	65,46 $\pm$ 1,62 (4,13)	72,01 $\pm$ 5,52 (7,66)
Média	31,60 ^a	68,10 ^b	65,33 ^{b,c}	71,41 ^c
DP	1,54	2,24	0,56	0,55
CV	4,86	3,30	0,85	0,77
7 β -OH				
1	25,23 $\pm$ 1,76 (6,96)	47,09 $\pm$ 3,20 (6,80)	71,00 $\pm$ 5,48 (7,71)	81,30 $\pm$ 5,15 (6,34)
2	27,85 $\pm$ 1,45 (5,22)	46,80 $\pm$ 1,69 (3,31)	69,70 $\pm$ 2,07 (2,97)	80,73 $\pm$ 2,77 (3,43)
3	25,63 $\pm$ 1,97 (7,68)	47,39 $\pm$ 1,87 (3,95)	70,25 $\pm$ 6,35 (9,04)	82,18 $\pm$ 2,89 (3,52)
Média	26,24 ^a	47,09 ^b	70,32 ^c	81,40 ^d
DP	1,41	0,30	0,65	0,73
CV	5,38	0,63	0,93	0,90
Σ C7				
1	94,47 $\pm$ 6,80 (7,19)	178,60 $\pm$ 10,82 (6,06)	218,48 $\pm$ 8,09 (3,70)	240,84 $\pm$ 8,88 (3,69)
2	99,64 $\pm$ 5,29 (5,31)	174,59 $\pm$ 10,33 (5,92)	213,90 $\pm$ 7,51 (3,51)	237,61 $\pm$ 7,27 (3,03)
3	94,29 $\pm$ 6,07 (6,43)	183,99 $\pm$ 12,31 (6,69)	216,93 $\pm$ 8,08 (3,72)	244,15 $\pm$ 9,00 (3,69)
Média	96,13 ^a	179,05 ^b	216,44 ^c	240,86 ^d
DP	6,04	11,11	7,89	8,38
CV	6,28	6,21	3,65	3,48

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa ($p > 0,05$)

Tabela 27 – Estabilidade oxidativa do colesterol, avaliado através dos óxidos 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e o Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), em ovo integral em pó atomizado adicionado de sulfato de cobre e antioxidante TOCO 70, antes do processo da atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias, à temperatura de 25°C, no escuro

$\mu\text{g/g}$ de lípidos				
Lote	7-ceto			
	Dia			
	0	7	14	21
1	23,62 $\pm$ 1,65 (6,99)	71,57 $\pm$ 1,27 (1,77)	718,39 $\pm$ 58,01 (8,08)	797,43 $\pm$ 37,77 (4,74)
2	23,74 $\pm$ 1,34 (5,64)	68,79 $\pm$ 2,93 (4,26)	621,02 $\pm$ 22,52 (3,63)	755,27 $\pm$ 58,43 (7,74)
3	23,76 $\pm$ 0,72 (3,02)	69,19 $\pm$ 1,80 (2,61)	659,17 $\pm$ 32,46 (4,92)	777,42 $\pm$ 35,48 (4,56)
Média	23,71 ^a	69,85 ^b	666,19 ^c	776,71 ^d
DP	0,08	1,5	49,06	21,09
CV	0,32	2,15	7,36	2,72
7 α -OH				
1	34,07 $\pm$ 3,37 (9,88)	74,03 $\pm$ 5,57 (7,53)	372,70 $\pm$ 17,65 (4,74)	403,23 $\pm$ 35,56 (8,32)
2	34,05 $\pm$ 2,55 (8,28)	72,65 $\pm$ 1,38 (1,90)	348,14 $\pm$ 28,52 (8,19)	381,47 $\pm$ 26,24 (6,88)
3	34,99 $\pm$ 1,40 (7,28)	73,04 $\pm$ 3,85 (5,27)	358,45 $\pm$ 33,73 (9,41)	387,32 $\pm$ 30,34 (7,83)
Média	34,37 ^a	73,24 ^b	359,76 ^c	390,67 ^d
DP	0,54	0,71	12,33	11,26
CV	1,56	0,97	3,43	2,88
7 β -OH				
1	32,46 $\pm$ 0,98 (3,02)	65,98 $\pm$ 2,37 (3,59)	411,66 $\pm$ 11,19 (2,72)	457,95 $\pm$ 24,26 (5,30)
2	32,00 $\pm$ 1,90 (6,81)	64,42 $\pm$ 4,24 (6,58)	390,12 $\pm$ 18,10 (4,64)	433,37 $\pm$ 23,89 (5,51)
3	33,74 $\pm$ 1,96 (5,81)	64,79 $\pm$ 4,56 (7,05)	394,68 $\pm$ 17,50 (4,44)	446,88 $\pm$ 32,23 (7,21)
Média	32,73 ^a	65,06 ^b	398,82 ^c	446,07 ^d
DP	0,90	0,82	11,35	12,31
CV	2,75	1,25	2,85	2,76
Σ C7				
1	90,15 $\pm$ 5,63 (6,24)	211,58 $\pm$ 4,13 (1,95)	1502,75 $\pm$ 189,34 (12,60)	1658,61 $\pm$ 213,56 (12,88)
2	89,79 $\pm$ 5,46 (6,08)	205,86 $\pm$ 4,12 (2,00)	1359,28 $\pm$ 146,94 (10,81)	1570,11 $\pm$ 202,50 (12,90)
3	92,49 $\pm$ 6,15 (6,65)	207,02 $\pm$ 4,13 (1,99)	1412,30 $\pm$ 164,16 (11,62)	1611,62 $\pm$ 210,15 (13,04)
Média	90,81 ^a	208,15 ^b	1424,77 ^c	1613,45 ^d
DP	5,74	4,11	166,79	208,73
CV	6,32	1,97	11,71	12,94

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

Relacionados com as informações contidas na literatura consultada, os resultados referentes à utilização de antioxidantes naturais obtidos no presente trabalho não puderam ser especificamente comparados.

HUBER, PIKE e HUBER (1995) trabalharam com gema de ovo em pó armazenada por até 28 dias em condições aceleradas de oxidação (indução catalisada pelo sulfato de cobre, na temperatura de 60°C). Adicionando tocoferóis e BHA (butilhidroxi anisol) ao produto, reduziram a formação de 7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH, assim como de 7-ceto e 7 β -OH, pelo uso de palmitato de ascorbila. Os antioxidantes estudados também reduziram a formação dos epóxidos, α e β , e do Triol durante os experimentos.

BRINKERHOFF et al. (2002) deram continuidade ao estudo de HUBER, PIKE e HUBER (1995), sem usar as condições aceleradas de oxidação indicadas, e armazenando a gema de ovo em pó por 36 meses, no escuro, sem que o êxito desejado fosse atingido. Os autores consideraram que houve insuficiência na adição dos antioxidantes, na expectativa de redução da oxidação do colesterol, em um período muito longo de armazenamento.

MEDINA (2010) adicionou TOCO 70 ao ovo integral em pó atomizado obtido comercialmente, mantendo o produto armazenado (90 dias) em bolsas herméticas de polietileno de baixa densidade (ZipLoc®), permeáveis ao oxigênio, e em temperatura ambiente, sem que o resultado final fosse o esperado.

Tabela 28 – Estabilidade oxidativa do colesterol, avaliado através dos óxidos 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e o Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH) em ovo integral em pó atomizado adicionado de sulfato de cobre e do antioxidante RE, após o processo da atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias, à temperatura de 25°C, no escuro

$\mu\text{g/g}$ de lípidos				
Lote	7-ceto			
	Dia			
	0	7	14	21
1	63,56 $\pm$ 3,63 (5,72)	100,72 $\pm$ 3,25 (4,53)	1205,30 $\pm$ 87,02 (1,38)	1336,51 $\pm$ 69,03 (9,61)
2	61,85 $\pm$ 4,25 (6,86)	103,88 $\pm$ 4,70 (4,82)	1136,49 $\pm$ 15,74 (1,52)	1376,29 $\pm$ 132,24 (6,03)
3	62,03 $\pm$ 3,39 (5,46)	108,87 $\pm$ 7,64 (7,02)	1174,80 $\pm$ 109,42 (9,31)	1321,24 $\pm$ 105,41 (7,98)
Média	62,48 ^a	104,49 ^b	1172,20 ^c	1344,68 ^d
DP	0,94	4,11	34,48	28,42
CV	1,50	3,93	2,94	2,11
7 α -OH				
1	85,37 $\pm$ 3,18 (3,72)	111,72 $\pm$ 2,78 (2,49)	393,97 $\pm$ 16,26 (4,13)	469,26 $\pm$ 23,39 (4,98)
2	83,21 $\pm$ 3,84 (4,61)	114,06 $\pm$ 5,67 (4,97)	372,21 $\pm$ 13,01 (3,49)	479,01 $\pm$ 47,45 (9,91)
3	84,41 $\pm$ 6,46 (7,65)	119,69 $\pm$ 2,29 (1,92)	380,09 $\pm$ 35,23 (9,27)	464,04 $\pm$ 33,72 (7,27)
Média	84,33 ^a	115,16 ^b	382,09 ^c	470,77 ^d
DP	1,08	4,10	11,02	7,60
CV	1,28	3,56	2,88	1,61
7 β -OH				
1	73,57 $\pm$ 4,48 (6,08)	97,74 $\pm$ 5,19 (5,31)	405,08 $\pm$ 24,74 (6,11)	481,64 $\pm$ 21,41 (4,44)
2	72,14 $\pm$ 4,16 (5,77)	99,50 $\pm$ 2,40 (2,41)	384,02 $\pm$ 33,31 (8,68)	489,66 $\pm$ 33,05 (6,75)
3	72,71 $\pm$ 4,69 (6,45)	105,69 $\pm$ 2,29 (1,92)	390,09 $\pm$ 35,23 (9,27)	475,47 $\pm$ 22,27 (4,68)
Média	72,81 ^a	100,98 ^b	393,06 ^c	482,26 ^d
DP	0,72	4,18	10,84	7,12
CV	0,99	4,14	2,76	1,48
Σ C7				
1	222,50 $\pm$ 10,92 (4,91)	310,18 $\pm$ 7,36 (2,37)	2004,35 $\pm$ 465,25 (23,21)	2287,41 $\pm$ 497,17 (21,74)
2	217,20 $\pm$ 10,68 (4,92)	317,44 $\pm$ 7,47 (2,35)	1892,72 $\pm$ 437,89 (23,14)	2344,96 $\pm$ 515,00 (21,96)
3	219,15 $\pm$ 11,99 (5,11)	334,25 $\pm$ 7,34 (2,22)	1944,98 $\pm$ 455,97 (23,44)	2260,75 $\pm$ 491,64 (21,75)
Média	219,62 ^a	320,63 ^b	1947,35 ^c	2997,71 ^d
DP	10,63	7,39	453,04	501,27
CV	4,98	2,30	23,26	21,82

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

Tabela 29 – Estabilidade oxidativa do colesterol, avaliado através dos óxidos 7-cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicoolesterol (7 α -OH) e 7 β -hidroxicoolesterol (7 β -OH)) e o Σ C7 (7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH), em ovo integral em pó atomizado adicionado de sulfato de cobre e do antioxidante TOCO 70, após o processo da atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias, à temperatura de 25°C, no escuro

$\mu\text{g/g}$ de lípides				
Lote	7-ceto			
	Dia			
	0	7	14	21
1	71,31 $\pm$ 5,21 (7,31)	139,36 $\pm$ 11,72 (8,41)	687,75 $\pm$ 41,12 (5,98)	705,45 $\pm$ 31,07 (4,40)
2	67,70 $\pm$ 2,90 (4,29)	143,12 $\pm$ 6,74 (4,71)	635,77 $\pm$ 47,86 (7,53)	709,33 $\pm$ 23,21 (6,03)
3	73,36 $\pm$ 2,31 (3,15)	144,15 $\pm$ 4,71 (3,26)	688,22 $\pm$ 48,11 (6,99)	710,95 $\pm$ 26,95 (3,79)
Média	70,79 ^a	142,21 ^b	670,58 ^c	708,56 ^c
DP	2,87	2,52	30,15	2,83
CV	4,05	1,77	4,50	0,40
7 α -OH				
1	95,19 $\pm$ 5,22 (5,48)	217,85 $\pm$ 9,28 (4,26)	382,78 $\pm$ 32,42 (8,47)	434,48 $\pm$ 4,07 (0,94)
2	90,86 $\pm$ 2,25 (2,48)	225,22 $\pm$ 8,32 (3,69)	355,37 $\pm$ 31,72 (8,93)	433,97 $\pm$ 3,64 (0,84)
3	97,11 $\pm$ 2,86 (2,95)	226,65 $\pm$ 4,27 (1,88)	382,55 $\pm$ 25,32 (6,62)	436,95 $\pm$ 29,33 (6,71)
Média	94,39 ^a	223,24 ^b	373,57 ^c	435,13 ^d
DP	3,20	4,72	15,76	1,59
CV	3,39	2,12	4,22	0,37
7 β -OH				
1	49,49 $\pm$ 3,00 (6,06)	217,45 $\pm$ 10,87 (5,00)	386,36 $\pm$ 24,80 (6,42)	419,11 $\pm$ 21,76 (5,19)
2	47,48 $\pm$ 2,07 (4,36)	223,36 $\pm$ 2,58 (1,15)	369,86 $\pm$ 27,28 (7,38)	418,99 $\pm$ 21,21 (5,06)
3	51,40 $\pm$ 2,88 (5,60)	224,68 $\pm$ 7,41 (3,30)	386,58 $\pm$ 21,78 (5,64)	416,84 $\pm$ 38,31 (9,19)
Média	49,46 ^a	221,83 ^b	380,93 ^c	418,31 ^d
DP	1,96	3,85	9,59	1,28
CV	3,96	1,74	2,52	0,31
Σ C7				
1	215,99 $\pm$ 22,86 (10,58)	574,66 $\pm$ 45,20 (7,87)	1456,89 $\pm$ 175,05 (12,02)	1559,06 $\pm$ 161,06 (10,33)
2	206,04 $\pm$ 21,71 (10,54)	591,70 $\pm$ 46,87 (7,92)	1361,00 $\pm$ 157,87 (11,60)	1562,29 $\pm$ 163,48 (10,46)
3	221,87 $\pm$ 22,86 (10,30)	595,48 $\pm$ 47,07 (7,91)	1457,35 $\pm$ 175,33 (12,03)	1564,74 $\pm$ 164,31 (10,50)
Média	214,64 ^a	587,28 ^b	1425,08 ^c	1562,02 ^d
DP	22,47	46,38	169,39	162,95
CV	10,47	7,90	11,89	10,43

Média $\pm$ Desvio-padrão, (n=3), (CV=coeficiente de variação, em %)

Letras sobrescritas iguais nas linhas indicam diferença não significativa (p>0,05)

Os antioxidantes BHA (butil-hidroanizol), BHT (butil-hidroxitolueno) e PG (galato de propila) adicionados em ovo líquido, preveniram a formação dos OsC

durante o processamento de atomização (MORGAM; AMSTRONG, 1987; GUARDIOLA et al., 1997).

LAI et al. (1995) avaliaram o efeito do extrato de alecrim e TBHQ (Terc Butil Hidroquinona) na formação de óxidos de colesterol em ovo integral em pó, durante o processo de atomização. Os antioxidantes utilizados retardaram a oxidação do colesterol, sendo que o extrato de alecrim reduziu a formação de 7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH, α - e β - epóxidos, em 36%. No estudo feito não foi descartada a possibilidade de volatilização e perda parcial consequente dos antioxidantes, durante o processo.

DU e AHN (2000) observaram que a adição de vitamina E ou BHT na gema de ovo, antes do processo de atomização, evitava a formação de OsC no produto em pó armazenado (3 meses) à temperatura ambiente, na ausência de luz.

VALENZUELA, SANHUEZA e NIETO (2003) observaram que todos os homólogos de tocoferol são capazes de inibir a formação de óxidos de colesterol, mas em diferentes graus. O α - e δ -tocoferol foram efetivos na inibição da formação de OsC, enquanto o β -tocoferol não promoveu efeito algum.

CABONI et al. (2005), concluíram que o antioxidante tocoferol reduziu o efeito do processamento e armazenamento por 1, 3, 6 e 12 meses (4 °C e 20°C, no escuro) do ovo em pó em relação oxidação do colesterol.

Os resultados alcançados no presente trabalho, somados aos que constam relatados na literatura consultada, não eliminam a possibilidade de emprego dos antioxidantes estudados, visando reduzir e principalmente eliminar a oxidação do colesterol em ovo e produtos derivados.

Empregar o RE e o TOCO 70 em concentrações maiores compatíveis, combinados entre si e/ou com outros antioxidantes naturais, seria pertinente e perfeitamente possível. Inclusive pela combinação com antioxidantes artificiais, permitindo redução desejável no uso desses últimos. O emprego apontado deve estar obviamente associado ao processamento e ao armazenamento que sejam apropriados. Segundo HUR, PARK e JOO (2007), a formação de óxidos de colesterol em produtos animais pode ser minimizada pela aplicação de baixas temperaturas de processamento (processamento mínimo preferencial), pelo uso de

embalagem impermeável ao oxigênio contendo atmosfera inerte protetora, pelo armazenamento à baixa temperatura na ausência de luz, pela inclusão de antioxidantes dietários na dieta animal (aumento do aporte antioxidante natural) e pela adição de antioxidantes ao alimento.

6 CONCLUSÕES

- ✓ O ovo líquido integral produzido a partir de matéria-prima armazenada por 30 dias, a 4°C, não foi afetado quanto à estabilidade oxidativa do colesterol.
- ✓ A pasteurização e a atomização, realizadas em condições de laboratório, não levaram ao comprometimento oxidativo do colesterol.
- ✓ Foi constatada oxidação significativa do colesterol no ovo integral em pó atomizado, obtido em condições de laboratório, quando armazenado por 90 dias, a 25°C, na ausência de luz.
- ✓ Os antioxidantes naturais comerciais GUARDIAN® Rosemary Extract (RE) e o GUARDIAN™ TOCO 70 (TOCO 70) não foram efetivos na prevenção da oxidação induzida do colesterol, quando adicionados (antes ou depois da atomização) ao ovo integral em pó atomizado obtido em condições de laboratório, armazenado por 21 dias, a 25°C, na ausência de luz.

REFERÊNCIAS

ADDIS, P.B.; PARK, P.W.; GUARDIOLA, F.; CODONY, R. Analysis and health effects of cholesterol oxides. In: MCDONALD, R.E.; MIN, D.B.J., eds. **Food lipids and health**. New York: Marcel Decker, 1996. p.99-240. (IFT basic symposium series, 11).

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4.ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz; Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1020p. (Série A. Normas e manuais técnicos).

ANSARI, G.A.S.; SMITH, L.L. Assay of cholesterol autoxidation. **Methods in Enzymology**, v.233, p.332-338, 1994.

ARABSHAHI-DELOUEE, S.; UROOJ, A. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. **Food Chemistry**, v.102, n.4, p.1233-1240, 2007.

AYADI, M.A.; KHEMAKHEM, M.; BELGITH, H.; ATTIA, H. Effect of moderate spray drying conditions on functionality of dried egg white and whole egg. **Journal of Food Science**, v.73, n.6, p.281-287, 2008.

BASCOUL, J.; DOMERGUE, N.; MOUROT, J.; DEBRY, G.; CRASTES DE PAULET, A. Intestinal absorption and fecal excretion of 5,6 α -epóxy-5 α -cholesta-3 β -ol by the male wistar rat. **Lipids**, v.21, n.12, p.744-747, 1986.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, n.1, p. 25-30, 1995.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUES-AMAYA, D.B. Comparison of the cholesterol of Brazilian chicken and quail eggs. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.16, p.147-153, 2003.

BRASIL. **Resolução no 4, de 24 de novembro de 1988**. Aprova revisão das Tabelas I, III, IV e V referente a Aditivos Intencionais, bem como os Anexos I, II, III e

VII, todas do Decreto n.º 55.871, de 26 de março de 1965. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 19 de dezembro de 1988 .

BRASIL. **Resolução n.5, de 05 de julho de 1991**. Coordenador-Geral da Coordenação-Geral de Inspeção de Produtos de Origem Animal - CIPOA, no uso de suas atribuições e com base no disposto no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA, baixada pelo Decreto no 30.691 de 29.03.52, que regulamentou a Lei no 1.283 de 18.12.50, e atendimento ao que preceitua o Decreto no 99.427 de 31.07.90, resolve baixar padrões de identidade e qualidade para os seguintes produtos: ovo integral, gema, ovo em natureza, clara , e misturas de produtos de ovos. **Boletim de Serviço [do] Superior Tribunal de Justiça**, Brasília, DF, n. 24, p. 12, 15 jul. 1991.

BLOIS, M.S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. **Nature**, v.181, p.1199-1200, 1958.

BRINKERHOFF, B. E.; HUBER, K.C.; HUBER, C.S; PIKE, O.A. Effect of antioxidants on cholesterol oxidation in a spray-dried egg yolk during extended ambient storage. **Food Chemistry and Toxicology**, v.67, n.8, p.2857-2859, 2002.

BROWN, O.; JESSUP, W. Oxysterols and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v.142, p.1-28, 1999.

BUCHI – **Operation manual mini spray dryer B-290**. [s.n.t.] [manual de equipamento].

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. **Food Chemistry**, v.92, n.2, p.293-303, 2005.

CHEN, B.H.; CHEN, Y.C. Evaluation of the analysis of cholesterol oxides by liquid chromatography. **Journal of Chromatography, A**, v.661, p.127-136, 1994.

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**, v.24, n.7, p.645-651, 1989.

DU, M.; AHN, D.U. Effects of antioxidants and packaging on lipid and cholesterol oxidation and color changes of irradiated egg yolk powder, **Journal of Food Science**, v. 65, p. 625-629, 2000.

ESCARABAJAL, C.; TENUTA-FILHO, A. Estabilidade oxidativa do colesterol em ovo integral em pó. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.4, p.483-490, 2005a.

ESCARABAJAL, C.; TENUTA-FILHO, A. Colesterol e 7-cetocolesterol livre em macarrão contendo ovos. **Nutrire**, v.29, p.51-60, 2005b.

FANTOZZI, P.; MONTEDORO, G. Dosage des composés phénoliques dans les drups d'olives récoltés à différents stades de maturation. **Industries Alimentaires et Agricoles**, v.95, n.12, p.1335-1339, 1978.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Organization de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Out 2002. Disponível em: <http://www.rlc.fao.org/>. Acesso em: 13 jan 2010

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v.726, p.497-509, 1957.

GUALOBART, J.; BARROETA, A.C.; BAUCCELLS, M.D.; CODONY, R.; TERNES, W. Effect of dietary supplementation with rosemary extract and α -tocopheryl acetate on lipid oxidation in egg enriched with ω 3-fatty acids. **Poultry Science**, v.80, p.460-467, 2001

GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; ADDIS, P.B.; RAFECAS, M.; BOATELLA, J. Biological effects of oxysterols: current status. **Food and Chemical Toxicology**, v.34, n.2, p.193-211, 1996.

GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; MISKIN, D.; RAFECAS, M.; BOATELLA, J. Oxysterol formation in egg powder and relationship with other quality parameters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, p.1903-1907, 1995.

GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; RAFECAS, M.; BOATELLA, J. Formación de derivados oxidados del colesterol en alimentos. **Grasas y Aceites**, v.45, n.3, p.164-192, 1994.

GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; RAFECAS, M.; GRAU, A.; JORDÁN, A.; BOATELLA, J. Oxysterol formation in spray-dried egg processed and stored under various conditions: prevention and relationship with other quality parameters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.2229-2243, 1997.

HUBER, K.C.; PIKE, O.A.; HUBER, C.S. Antioxidant inhibition of cholesterol oxidation in a spray-dried food system during accelerated storage. **Journal of Food Science**, v.60, n.5, p.909-916, 1995.

HUGHES, R.J. Abnormal yolk color and mottling caused by dietary tannic acid and "tannins". **Poultry Science**, v.52, p.1784-1786, 1973.

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.

IMAI, H.; WERTHESSEN, N.T.; SUBRAMANYAM, V.; LEQUESNE, P.W.; SOLOWAY, A.H.; KANISAWA, M. Angiotoxicity of oxygenated sterols and possible precursors. **Science**, v.207, p.651-653, 1980.

IMAI, H.; WERTHESSEN, N.T.; TAYLOR, C.B.; LEE, K.T. Angiotoxicity and atherosclerosis due to contaminants of U.S.P. grade cholesterol. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v.100, p.565-572, 1976.

KIM, S.K.; NAWAR, W.W. Oxidative interaction of cholesterol with triacylglycerols. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.68, p.931-933, 1991.

KITAHARA, S.E. **Efeito do processamento e da estocagem sobre a formação de óxidos de colesterol em ovos**. São Paulo, 2004. 80p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

KITAHARA, S.E.; MOURA, A.F.P.; TENUTA-FILHO, A. Validação de método de quantificação do colesterol e 7-cetocolesterol em ovo e hambúrguer. In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, Porto Alegre, 2002. **Anais**. Porto Alegre, 2002. p.3162-3166.

LAI, S.; 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. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, p.127-1131, 1995.

LAI, S.; GRAY, J.I.; PARTRIDGE, J.A.; FLEGAL, C.J. Stability of cholesterol and paprika carotenoids in egg powders as influenced by dietary and processing treatments. **Journal Science of Food and Agriculture** , v.72, p.171-178, 1996.

LANNES, S.C.S. **Cupuaçu**: uma abordagem para sua utilização como substituto do cacau. São Paulo, 2008. 144p. Tese de Livre-Docência – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

LEONARDUZZI, G.; SOTTERO, B.; POLI, G. Oxidized products of cholesterol: dietary and metabolic origin, and proatherosclerotic effects (review). **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.13, n.12, p.700-710, 2002.

LERCKER, G.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M.T. Cholesterol oxidation: presence of 7-ketocholesterol in different food products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.13, p.625-631, 2000.

LEVINE, D.M.; BERENSON, M.L.; STEPHAN, D. **Estatística: teoria e aplicações – Usando microsoft® excel em português**. Rio de Janeiro, LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2000. 811p.

LI, N.; OHSHIMA, T.; SHOZEN, K.-I.; USCHIO, H.; KOIZUMI, C. Effects of degree of unsaturation of coexisting triacylglycerols on cholesterol oxidation. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.71, n.6, p.623-627, 1994.

LI, S.X.; CHERIAN, G.; SIM, J.S. Cholesterol oxidation in egg yolk powder during storage and heating as affected by dietary oils and tocopherols. **Journal of Food Science**, v.61, n.4, p.721-725, 1996.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequ**

(**Caryocarrasiliense, Camb.**). São Paulo, 2008. 180p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

LIN, C.-Y.; MOREL, D.W. Esterification of oxysterols in human serum: effects on distribution and cellular uptake. **Journal of Lipid Research**, v.37, p.168-178, 1996.

LINSEISEN, J.; WOLFRAM, G. Absorption of cholesterol oxidation products from ordinary foodstuff in humans. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v.42, p.221-230, 1998a.

LINSEISEN, J.; WOLFRAM, G. Origin, metabolism, and adverse health effects of cholesterol oxidation products. **Fett/Lipid**, v.100, n.6, p.211-218, 1998b.

LIU, X.D.; JANG, A.; LEE, B.D.; LEE, S.K.; LEE, M.; JO, C. Effect of dietary inclusion of medicinal herb extract mix in a poultry ration on the physico-chemical quality and oxidative stability of eggs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.22, n.3, p.421-427, 2009.

LUGASI, A.; HÓVÁRI, J.; DWORSCHÁK, E.; NESZLÉNYI, K.; LEBOVICS, V.; ZSINKA, J.N. Effect of UV irradiation on lipid peroxidation in edible fats. **Acta Alimentaria**, v.24, n.3, p.269-276, 1995.

LYONS, M.A.; SAMMAN, S.; GATTO, L.; BROW, J.A. Rapid hepatic metabolism of 7-ketocholesterol *in vivo*: implications for dietary oxysterols. **Journal of Lipid Research**, v.40, p.1846-1857, 1999.

MAERKER, G. Cholesterol autoxidation-current status'. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.64, n.3, p.388-392, 1987.

MAZALLI, M.R.; SAWAYA, A.C.H.F.; EBERLIN, M.N.; BRAGAGNOLO, N. HPLC method for quantification and characterization of cholesterol and its oxidation products in eggs. **Lipids**, v.41, n.6, p.615-622, 2006.

MAZALLI, M.R.; BRAGGAGNOLO, N. Effect of storage on cholesterol oxide formation and fatty acid alterations in egg powder. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.2743-2748, 2007.

MEDINA, M.K.J. **Efeito da radiação ionizante e do armazenamento sobre a estabilidade oxidativa do colesterol em ovos crus e processados**. São Paulo, 2005. 94p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

MEDINA, M.K.J. **Óxidos de colesterol em ovo em pó comercial: ocorrência e efeito do processamento e da adição de tocoferóis no produto armazenado**. São Paulo, 2010. 117p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

MINE, Y., **Egg bioscience and biotechnology**. Hoboken, Chichester: John Wiley, 2008. 362p.

MORALES-AIZPURÚA, I.C.; TENUTA-FILHO, A. Oxidation of cholesterol in mayonnaise during storage. **Food Chemistry**, v.89, p.611-615, 2005.

MORGAN, J.N., ARMSTRONG, D.J. Formation of cholesterol-5,6-epoxides during spray-drying of egg yolk. **Journal of Food Science**, v. 52, p. 1224–1227, 1987.

MORGAN, J.N.; ARMSTRONG, D.J. Quantification of cholesterol oxidation products in egg yolk powders spray-dried with direct heating. **Journal of Food Science**, v.57, n.1, p.43-45, 1992.

MOURA, A.F.P. **Efeito do processamento térmico sobre a ocorrência do 7-cetocolesterol em camarão-rosa (*Penaus brasiliensis* + *Penaus paulensis*)**. São Paulo, 1999. 87p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

NADIA, R.; HASSAN, R.A.; QOTA, E.M.; FAYEK, H.M. Effect of natural antioxidant on oxidative stability of eggs and productive and reproductive performance of laying hens. **International Journal of Poultry Science**, v.7, n.2, p.134-150, 2008 .

NOUROOZ-ZADEH, J. Determination of the autoxidation products from free or total cholesterol: a new multistep enrichment methodology including the enzymatic release of esterified cholesterol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.38, p.1667-1673, 1990.

NOUROOZ-ZADEH, J.; APPELQVIST, L.A. Cholesterol oxides in swedish foods and food ingredients: fresh eggs and dehydrated egg products. **Journal of Food Science**, v.52, n.1, p.57-67, 1987.

OBARA, A.; OBIEDZINSKI, M.; KOLCZAK, T. The effect of water activity on cholesterol oxidation in spray- and freeze-dried egg powders. **Food Chemistry**, v.95, p.173-179, 2006.

O'BRIEN, N.M.; O'CALLAGHAN, Y.C.; LYONS, N.M.; WOODS, J.A. Biological effects of dietary cholesterol oxidation products. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v.39, n.2, p.265-273, 2000.

OHSHIMA, T.; LI, N.; KOIZUMI, C. Oxidative decomposition of cholesterol in fish products. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.70, n.6, p.595-600, 1993.

OTHANI, K.; MIYABARA, K.; OKAMOTO, E.; KAMEI, M.; MATSUI-YUASA, I. Citotoxicity of 7-cetocholesterol toward cultured rat hepatocytes and the effect of vitamin E. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.60, n.12, p.989-1993, 1996.

OTHANI, K.; TERADA, E.; KAMEI, M.; MATSUI-YUASA, I. Cytotoxicity of cholestane 3 β ,5 α ,6 β -triol on cultured intestinal crypt cells (IEC-6). **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.61, n.4, p.573-576, 1997.

OSADA, K. Cholesterol oxidation products: other biological effects. In: GUARDIOLA, F.; DUTTA, P.C.; CODONY, R.; SAVAGE, G.P. **Cholesterol and phytosterol oxidation products analysis, occurrence, and biological effects**. Champaign: AOCS, 2002. cap.14, p.279-318 (a).

OSADA, K. Cholesterol oxidation products: other biological effects. In: GALOBART, J.; GARDIOLA. **Formation and content of cholesterol oxidation products in egg and egg Products**, Champaign: AOCS, 2002. cap.7, p.129-151 (b).

OSADA, K.; KODAMA, T.; CUI, L.; YAMADA, K.; SUGANO, M. Levels and formation of oxidized cholesterol in processed marine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, p.1893-1998, 1993.

OSADA, K.; SASAKI, M. Lymphatic absorption of oxidized cholesterol in rats. **Lipids**, v.29, n.8, p.555-559, 1994.

PANIANGVAIT, P.; KING, A.J.; JONES, A.D.; GERMAN, B.G. Cholesterol oxides in foods of animal origin. **Journal of Food Science**, v.60, n.6, p.1159-1174, 1995.

PARK, P.W.; GUARDIOLA, F.; PARK, S.H.; ADDIS, P.B. Kinetic evaluation of 3 β -hydroxycholest-5-en-7-one (7-ketocholesterol) stability during saponification. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.73, n.5, p.623-629, 1996.

PDAMED. **Dicionário digital de termos médicos**. 2007. Disponível: http://www.pdamed.com.br/diciomed/pdamed_0001_09308.php. Acesso em: 22 mar. 2010.

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. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.72, n.2, p.1523-1527, 1995.

PENG, S.; HU, B.; MORIN, R.J. Angiotoxicity and atherogenicity of cholesterol oxides. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v.5, p.144-152, 1991.

PIE, J.E.; SPAHIS, K.; SEILLAN, C. Evaluation of oxidative degradation of cholesterol in food and food ingredients: identification and quantification of cholesterol oxides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.38, p.973-979, 1990.

RAZZAZI-FAZZELI, E.; KLEINEISEN, S.; LUF, W. Determination of cholesterol oxides in processed food using high-performance liquid chromatograph-mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization. **Journal of Chromatography, A**, v.896, p.321-334, 2000.

RHO, M.C.; KIM, Y.K.; CHANG, J.S.; LEE, H.S.; BAEK, J.A.; CHUNG, M.Y.; LEE, H.C.; RHIM, B.Y.; RWIDY, M.A.; KIM, K. 7-ketocholesterol predisposes human aorta smooth muscle cells to fast-mediated death. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v.39, p.823-832, 2005.

RIMMER, A.; MAKDESSI, S.A.; SWEIDAN, H.; WISCHHUSEN, J.; RABENSTEIN, B.; SHATAT, K.; MAYER, P.; SPYRIDOPOULOS, I. Relevance and mechanism of oxysterol stereospecificity in coronary artery disease. **Free Radical Biology & Medicine**, v.38, p.535-544, 2005.

SAKANAKA, S.; TACHIBANA, Y. Active oxygen scavenging activity of egg-yolk protein hydrolysates and their effects on lipid oxidation in beef and tuna homogenates. **Food Chemistry**, v.95, p.243-249, 2006.

SANDER, B.D.; ADDIS, P.B.; PARK, S.W.; SMITH, D.E. Quantification of cholesterol oxidation products in a variety of foods. **Journal of Food Protection**, v.52, n.2, p.109-114, 1989.

SARANTINOS, J.; O'DEA, K.; SINCLAIR, A.J. Cholesterol oxides in Australian foods: identification and quantification. **Food Australia**, v.45, n.10, p.485-490, 1993.

SEVANIAN, A.; PETERSON, A.R. The cytotoxic and mutagenic properties of cholesterol oxidation products. **Food and Chemical Toxicology**, v.24, n.10/11, p.1103-1110, 1986.

SIM, J.S.; NAKAI, S. **Egg uses and processing technologies**: new developments. Wallingford: CAB International, 1994. 436p.

SMET, K.; RAES, K.; SMET, S. Novel approaches in measuring the antioxidative potential of animal feeds: the FRAP and DPPH methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86, p.2412-2416, 2006.

SMITH, L.L. Cholesterol autoxidation 1981-1986. **Chemistry and Physics of Lipids**, v.44, n.2/4, p.87-125, 1987.

SMITH, L.L. Mechanisms of formation of oxysterols: a general survey. In: CRASTES DE PAULET, A.; DOUTÉ-BLAZY, L.; PAOLETTI, R., eds. **Free radicals, lipoproteins, and membrane lipids**. New York: Plenum Press, 1990. p.115-132. (NATO ASI series. Série A, Life Sciences, v.189). (Proceedings of a NATO Advanced Research Workshop on action of free radicals and active forms of oxygen on lipoproteins and membrane lipids: cellular interactions and atherogenesis, 1988, Bandol, France).

SMITH, L.L. Cholesterol autoxidation. Plenum, p.49-123, 1981. *apud* SMITH, L.L. Review of progress in sterol oxidation: 1987–1995. **Lipids**, v.31, n.5, p.453–487, 1996.

SMITH, L.L.; JOHNSON, B.H. Biological activities of oxysterols. **Free Radical Biology & Medicine**, v.7, p.285-332, 1989.

SOUSA-SOARES, L.A.; SIEWERDT, F., orgs. **Aves e ovos**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2005. 138p. Disponível em: <http://ansc.umd.edu/siewerdt/AveseOvosTexto.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2010.

SPITELLER, G. Peroxyl radicals: Inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases: their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products. **Free Radical Biology & Medicine**, v.41, p.362-387, 2006.

STAPRANS, I.; PAN, X.-M.; RAPP, J.H.; FEINGOLD, K.R. Oxidized cholesterol in the diet is a source of oxidized lipoproteins in human serum. **Journal of Lipid Research**, v.44, n.4, p.705-715, 2003.

SURAI, P.F.; SPARKS, N.H.C. Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food. **Food Science and Technology**, v.12, p.7–16, 2001.

TAI, C.Y.; CHEN, Y.C.; CHEN, B.H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: an overview (Part I). **Journal of Food and Drug Analysis**, v.7, n.4, p.243-257, 1999.

TAI, C.Y.; CHEN, Y.C.; CHEN, B.H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: an overview (Part II). **Journal of Food and Drug Analysis**, v.8, n.1, p.1-15, 2000.

TAYLOR, C.B.; PENG, S.K.; WERTHESSEN, N.T.; THAM, P.; LEE, K.T. Spontaneously occurring angiotoxic derivatives of cholesterol. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.32, p.40-57, 1979.

TENUTA-FILHO, A.; MORALES-AIZPÚRUA, I.C.; MOURA, A.F.P.; KITAHARA, S.E. Óxidos de colesterol em alimentos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.39, n.3, p.319-325, 2003.

TSAI, L.S.; HUDSON, C.A. Cholesterol oxides in commercial dry egg products: quantitation. **Journal of Food Science**, v.50, p.229-231, 1985.

UNITED STATES. Department of Agriculture. Food Safety and Inspection Service, USDA - § 590.575. Disponível em: <http://a257.g.akamaitech.net/7/257/2422/14mar20010800/edocket.access.gpo.gov/cfr/2002/janqtr/pdf/9cfr590.570.pdf>. Acesso em: 09 out. 2008.

UNITED STATES. Department of Agriculture. National Nutrient Database for Standard Reference. **Nutrient Data Laboratory, Release 22**. 2009. Disponível em: www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/. Acesso em: 2 fev. 2010.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/Tabela/>. Acesso em: 21 jan. 2010.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. **TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 2.ed. 2006. Disponível: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>. Acesso em: 2 fev. 2010.

VALENZUELA, A.; SANHUEZA, J.; NIETO, S. Cholesterol oxidation: health hazard and the role of antioxidants in prevention. **Biological Research**, v. 36, p. 291-302, 2003.

VAN DE BOVENKAMP, P.; KOSMEIJER-SCHUIL, T.G.; KATAN, M.B. Quantification of oxysterols in dutch foods: egg products and mixed diets. **Lipids**, v.23, n.11, p.1079-1085, 1988.

VINE, D.F.; CROFT, K.D.; BEILIN, L.J.; MANO, J.C.L.A. Absorption of dietary cholesterol oxidation products and incorporation into rat lymph chylomicrons. **Lipids**, v.32, n.8, p.887-893, 1997.

VINE, D.F.; MANO, J.C.L.A.; BEILIN, L.J.; MORI, T.A.; CROFT, K.D. Dietary oxysterols are incorporated in plasma triglycerid-rich lipoproteins, increase their susceptibility to oxidation and increase aortic cholesterol concentration of rabbits. **Journal of Lipid Research**, v.39, p.1995-2004, 1998.

VYNCKE, B.W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen, Anstrichmittel**, v.72, n.12, p.1084-1087, 1970.

ZUNIN, P.; EVANGELISTI, F.; CABONI, M.F.; PENAZZI, G.; LERCKER, G.; TISCORNIA, E. Cholesterol oxidation in Baked foods containing fresh and powdered eggs. **Journal of Food Science**, v.60, n.5, p.913-916, 1995.

APÊNDICE

Gráfico 2 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7α-OH (7α-hidroxicolesterol), 7β-OH (7β-hidroxicolesterol) e 25-OH (25-hidroxicolesterol), ΣC7 (7-ceto, 7α-OH e 7β-OH), ΣOsC (7-ceto, 7α-OH, 7β-OH e 25-OH) (em µg/g de lípidos) em ovo integral em pó atomizado, armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias a temperatura ambiente (25°C) no escuro

Gráfico 3 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7α-OH (7α-hidroxicolesterol), 7β-OH (7β-hidroxicolesterol) e 25-OH (25-hidroxicolesterol), ΣC7 (7-ceto, 7α-OH e 7β-OH), ΣOsC (7-ceto, 7α-OH, 7β-OH e 25-OH) (em µg/g de amostra, base seca) em ovo integral em pó atomizado, armazenado a 0, 30, 60 e 90 dias a temperatura ambiente (25°C) no escuro (base seca)

Gráfico 4 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7α-OH (7α-hidroxicolesterol), 7β-OH (7β-hidroxicolesterol) e ΣC7 (7-ceto, 7α-OH e 7β-OH), (em µg/g de lípidos) em ovo integral em pó atomizado, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias a 25°C no escuro

Gráfico 5 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7α-OH (7α-hidroxicolesterol), 7β-OH (7β-hidroxicolesterol) e ΣC7 (7-ceto, 7α-OH e 7β-OH), (em µg/g de lípidos) em ovo integral em pó atomizado com adição de sulfato de cobre, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias a 25°C no escuro

Gráfico 6 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7α-OH (7α-hidroxicolesterol), 7β-OH (7β-hidroxicolesterol) e ΣC7 (7-ceto, 7α-OH e 7β-OH), (em µg/g de lípidos) em ovo integral em pó atomizado com adição de sulfato de cobre e antioxidante RE, antes da atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias a 25°C no escuro

Gráfico 7 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7α-OH (7α-hidroxicolesterol), 7β-OH (7β-hidroxicolesterol) e ΣC7 (7-ceto, 7α-OH e 7β-OH), (em µg/g de lípidos) em ovo integral em pó atomizado com adição de sulfato de cobre e antioxidante TOCO 70, antes da atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias a 25°C no escuro

Gráfico 8 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7α-OH (7α-hidroxicolesterol), 7β-OH (7β-hidroxicolesterol) e ΣC7 (7-ceto, 7α-OH e 7β-OH), (em μg/g de lípidos) em ovo integral em pó atomizado com adição de sulfato de cobre e antioxidante RE, após atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias a 25°C no escuro

Gráfico 9 – 7-ceto (7-cetocolesterol), 7α-OH (7α-hidroxicolesterol), 7β-OH (7β-hidroxicolesterol) e ΣC7 (7-ceto, 7α-OH e 7β-OH), (em μg/g de lípidos) em ovo integral em pó atomizado com adição de sulfato de cobre e antioxidante TOCO 70, após a atomização, armazenado a 0, 7, 14 e 21 dias a 25°C no escuro