

AVALIAÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA E COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE SUPLEMENTOS DE ÔMEGA-3 EM SIMULAÇÃO GASTROINTESTINAL IN VITRO

Rafaela Vitória Utteich¹, Ilizandra Aparecida Fernandes¹, Marcieli Peruzzolo¹, Janine Martinazzo¹
Clarice Steffens¹

RESUMO

Objetivo: Nos últimos anos, a simulação gastrointestinal in vitro tem se destacado como um método essencial para compreender a interação dos alimentos no trato gastrointestinal. Este estudo pioneiro investigou a composição físico-química e a oxidação lipídica de suplementos de óleo de ômega-3, identificados como óleo 1 e óleo 2, adquiridos localmente. **Materiais e Métodos:** A pesquisa, fundamentada em critérios de embalagem, certificação IFOS, concentrações de EPA e DHA, e presença de vitamina E, enfocou a simulação in vitro do trato gastrointestinal para uma avaliação detalhada do comportamento desses suplementos. Foram realizadas análises físico-químicas, incluindo índices de peróxido, acidez, iodo, éster, refração e saponificação. Para avaliar a digestibilidade in vitro, o estudo simulou o processo digestivo em etapas representativas do trato gastrointestinal, analisando a oxidação por meio de substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS). **Resultados:** Durante a simulação do sistema digestório, a absorção de ácidos graxos foi mais proeminente no intestino delgado. Observou-se discrepâncias entre as amostras no contato com o óleo, indicando uma maior oxidação lipídica no óleo 2 em comparação com o óleo 1. A etapa do cólon descendente (48h) revelou a maior oxidação dos óleos, sugerindo a necessidade de estudos adicionais para compreender melhor o metabolismo dos ácidos graxos. **Conclusão:** Com base nos resultados, a digestibilidade do ômega-3 variou em diferentes fases do sistema gastrointestinal simulado, com absorção notável no intestino delgado e maior oxidação no cólon descendente para ambas as amostras. A diferença de oxidação entre os óleos sugere variações na estabilidade dos compostos.

Palavras-chave: Ácidos graxos. Qualidade de óleos e gorduras. Absorção.

1 - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, Rio Grande do Sul, Brasil.

ABSTRACT

Assessment of lipid oxidation and physicochemical composition of omega-3 supplements in gastrointestinal simulation In vitro

Objective: In recent years, in vitro gastrointestinal simulation has emerged as an essential method for understanding the interaction of foods in the gastrointestinal tract. This pioneering study investigated the physicochemical composition and lipid oxidation of omega-3 oil supplements, identified as oil 1 and oil 2, purchased locally. **Materials and Methods:** The research, based on packaging criteria, IFOS certification, concentrations of EPA and DHA, and presence of vitamin E, focused on in vitro simulation of the gastrointestinal tract for a detailed evaluation of the behavior of these supplements. Physicochemical analyzes were carried out, including peroxide, acidity, iodine, ester, refraction and saponification indices. To evaluate in vitro digestibility, the study simulated the digestive process in representative stages of the gastrointestinal tract, analyzing oxidation through substances reactive to Thiobarbituric Acid (TBARS). **Results:** During the digestive system simulation, the absorption of fatty acids was more prominent in the small intestine. Discrepancies were observed between the samples in contact with the ileum, indicating greater lipid oxidation in oil 2 compared to oil 1. The descending colon stage (48h) revealed the greatest oxidation of the oils, suggesting the need for additional studies to better understand fatty acid metabolism. **Conclusion:** Based on the results, omega-3 digestibility varied in different phases of the simulated gastrointestinal system, with notable absorption in the small intestine and greater oxidation in the descending colon for both samples. The difference in oxidation between the oils suggests variations in the stability of the compounds.

Key words: Fatty acids. Oils and fats quality. Absorption.

INTRODUÇÃO

Os lipídios são compostos necessários para funções orgânicas, bioquímicas, estruturais e regulatórias.

São moléculas orgânicas compostas por grupos de ácidos graxos com longas cadeias não ramificadas por inúmeros pares de átomos de carbono unidos por simples ou duplas ligações.

O ácido graxo poli-insaturado do tipo ômega-3 é classificado como de cadeia longa por ter de 14 a 22 átomos de carbono e recebe a denominação de ômega-3 por conter a primeira dupla ligação no carbono 3 a partir do radical metil (Shahidi e Ambigaipalan, 2018).

A participação dos ácidos graxos ômega-3 na dieta é mais afetada pelo fornecimento de peixes, porque eles são a principal fonte de eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA) para os seres humanos.

O ácido alfa-linolênico (ALA) é convertido em EPA e DHA no corpo humano, porém em níveis baixos, e por esse motivo ele precisa ser suplementado através da dieta para atender às necessidades nutricionais diárias (Patel e colaboradores, 2022).

O ácido graxo ômega-6 é importante para o desenvolvimento humano, sendo derivado principalmente da carne e óleos vegetais (milho, girassol, cártamo), entretanto, o excesso na dieta tem sido associado a doenças cardiovasculares, câncer e obesidade, além disso os ácidos graxos ômega-6 e os ácidos graxos ômega-3 não têm o mesmo efeito. Os cientistas acreditam que os ácidos graxos ômega-6 são pró-inflamatórios e os ácidos graxos ômega-3 são anti-inflamatórios.

Além disso, os estudos indicam desproporção no consumo de ômega-3 e ômega-6 nas dietas ocidentais, com menor ingestão de ômega-3. Segundo a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) no período de 2017-2018 o consumo de peixes no Brasil é aproximadamente 2,79 kg/per capita ao ano, é recomendado pela Organização das Nações Unidas (ONU) para Alimentação e Agricultura é de pelo menos 12 kg per capita por ano.

Possíveis motivos para isso são os preços elevados e a baixa qualidade, resultante de problemas de manipulação na comercialização in natura, conservação e armazenamento (Martin e colaboradores, 2023).

A literatura sugere que o desequilíbrio dietético de alta ingestão de ômega-6 e baixa ingestão de PUFA ômega-3, característico da dieta ocidental (proporção média de 15:1), leva ao desenvolvimento de doença hepática gordurosa não alcoólica (Name e colaboradores, 2020).

Conforme a Diretriz de Prevenção Cardiovascular (Précoma e colaboradores, 2019), as recomendações de EPA e DHA são de 0,5 g a 1 g por dia. Uma baixa ingestão de ácidos graxos poli-insaturados pode trazer consequências negativas para a saúde. A baixa ingestão de ômega-3 está associada a alta prevalência de doenças cardiovasculares, altos níveis de colesterol e triglicerídeos e aumento da proteína-C reativa associada a inflamação e estresse oxidativo (Watson e Valença, 2021).

Além disso, o ácido graxo ômega-3 principalmente DHA e EPA, reduz a inflamação do tecido adiposo em diversos modelos animais de obesidade (Cholewski, Tomczykowa e Tomczyk, 2018; D'angelo, Motti e Meccariello, 2020).

Comparado ao ômega-6, o ômega-3 gera menos eicosanoides com propriedades inflamatórias, diminui competitivamente a síntese de prostaglandina eicosanoide E2 (PGE2) inflamatória mediada por ácido araquidônico, precursor na formação de eicosanoides.

A maioria dos eicosanoides atuam como mediadores pró-inflamatórios e contribuem para o desenvolvimento e proliferação de tumores.

Em relação a microbiota, na presença de uma disbiose intestinal (aumento das bactérias patogênicas no meio intestinal) e doença de Crohn (defeitos na barreira intestinal) leva a mistura do conteúdo luminal, incluindo patógenos, toxinas e interfere na absorção de nutrientes, o que causa e aumenta a resposta inflamatória no intestino, portanto torna-se de extrema importância a saúde da microbiota intestinal.

Neste sentido, o ômega-3 mostrou-se benéfico na resolução do processo inflamatório na doença de Crohn e na melhoria da saúde da microbiota intestinal (Zhao e colaboradores, 2015).

Em relação ao processo de qualidade e biodisponibilidade do ômega-3, os óleos de peixes são mais suscetíveis à deterioração que outros óleos e gorduras, devido a rapidez com que o processo de oxidação ocorre quando lipídios poli-insaturados são expostos ao ar.

Apresentam variação em sua composição de ácido graxo, devido a vários fatores como: disponibilidade de alimentos, idade, sexo, temperatura da água, localização geográfica e estação do ano. Um fato importante é a baixa aceitabilidade do óleo de peixe pelos indivíduos, devido ao odor, paladar e pela necessidade de ingerir altas doses por longo período de tempo.

Os benefícios da suplementação de ômega-3 utilizada para a redução de triglicerídeos pode variar, onde os autores constataram que os indivíduos respondem de formas diferentes após a suplementação. Essa variabilidade pode estar relacionada a variantes genéticas, perfis epigenéticos, variações gênicas, microbiota intestinal e ingestão habitual de ácidos graxos ômega-3 (Rundblad e colaboradores, 2023).

Embora o uso de suplementos multivitamínicos/minerais seja comum, a quantidade e a composição dos ingredientes desses suplementos variam. Os suplementos como cálcio, óleo de peixe, proteína em pó e vitamina E são alguns dos suplementos dietéticos de ingrediente único mais comuns, mas o tamanho da porção, forma, fonte e entrega (líquido, mastigável ou em cápsula) variam.

Os consumidores possuem fácil acesso aos produtos no mercado e as informações são baseadas nas mídias sociais que vão de acadêmicas à promocionais, o que dificulta o leitor a diferenciá-las e pode levar o consumidor a comprar um suplemento que não tenha uma boa qualidade (Akabas e colaboradores, 2016).

Desse modo, existem selos que garantem a segurança para consumo de suplementos, como o Programa Internacional de óleos de peixes (The International Fish Oil Program - IFOS), que indica a qualidade do óleo em relação a presença de metais pesados, fator determinante para a conformidade do produto (Cisneiros, Queiroz e Santos de Arruda, 2022).

O selo IFOS determina valores mínimos de qualidade para metais pesados, contaminantes ambientais, oxidação e concentração de ômega-3 (Teixeira, 2018).

A Administração de Alimentos e Medicamentos (Food and Drug Administration - FDA) regula a fabricação e rotulagem de suplementos dietéticos e a Suplemento Alimentar Saúde e Educação (Dietary Supplement Health and Education Act - DSHEA), que em 1994 estabeleceu um quadro

de legislações a fim de regulamentar os suplementos.

Os fabricantes e distribuidores de suplementos, além de garantir que a rotulagem do produto atenda a todos os requisitos do DSHEA e outros regulamentos de rotulagem da FDA antes de ir para o mercado, são responsáveis por comprovar a segurança dos ingredientes dietéticos usados na fabricação.

No entanto, os fabricantes não são obrigados a obter a aprovação do FDA antes de produzir ou vender suplementos dietéticos, nem são obrigados a demonstrar eficácia clínica e estão proibidos de comercializar produtos adulterados ou com marca incorreta (Akabas e colaboradores, 2016).

No entanto, nos suplementos ômega-3 nem sempre estão dentro dos parâmetros necessários para a comercialização devido a não precisarem da aprovação do FDA, o que pode levar o consumidor a suplementar um produto de baixa qualidade.

Durante a última década, tem aumentado o interesse em entender o destino dos alimentos durante a digestão no trato gastrointestinal, a fim de fortalecer os possíveis efeitos dos alimentos na saúde humana.

Neste sentido, foi desenvolvido modelos de digestão in vitro estáticos simples que mimetizam o trato gastrointestinal. Modelos dinâmicos que permitem a regulação do pH, fluxo do alimento, injeção de tempo real de enzimas digestivas nos diferentes compartimentos do trato gastrointestinal são mais promissores para mimetizar com precisão o processo digestivo (Dupont e colaboradores., 2019).

A simulação gastrointestinal in vitro tem se destacado recentemente como um método vital para compreender a dinâmica dos alimentos no trato gastrointestinal.

No entanto, estudos sobre a oxidação lipídica de suplementos de óleo de ômega-3 em simulação gastrointestinal são escassos na literatura. Nesse contexto, este estudo propôs-se a avaliar a composição físico-química de suplementos de ômega-3 de óleo de peixe encapsulado e a oxidação lipídica em simulação gastrointestinal in vitro, apresentando-se como uma abordagem inovadora frente à lacuna de estudos referentes a esse tema na literatura atual.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

As amostras de suplementos de óleos ômega-3 utilizadas neste estudo foram cuidadosamente selecionadas entre produtos disponíveis no comércio local.

O óleo 1, fabricado em agosto de 2022 e válido até agosto de 2024, e o óleo 2, produzido em junho de 2022 com validade até junho de 2025, foram submetidos a critérios específicos para seleção.

Estes critérios incluíram a análise da embalagem - se era transparente, permitindo a passagem de luz, ou opaca, sem essa passagem - e a presença do selo de qualidade (IFOS).

Além disso, as concentrações de ácidos graxos eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA) foram fundamentais para a escolha das amostras. As amostras avaliadas foram denominadas como óleo 1 e 2. O óleo 1, identificado como tendo o selo IFOS, uma embalagem opaca, vitamina E e concentrações de ambos EPA e DHA, era encapsulado com gelatina, água e umectante glicerina. Já o óleo 2, sem selo de certificação, em embalagem transparente e com concentrações semelhantes de EPA e DHA, mas sem vitamina E, tinha a composição da cápsula de gelatina, umectante glicerina e água.

Análises físico-química

As análises físico-químicas das amostras de óleo foram realizadas de acordo com procedimentos específicos para avaliar a composição e qualidade dos suplementos de ômega-3.

Índice de peróxido

O índice de peróxido foi determinado segundo metodologia descrita pelo IAL (IAL, 2008) com adaptações. A amostra foi resuspendida em 30 mL de solução de ácido acético clorofórmio (3:2) sob agitação, em seguida adicionou-se 0,5 mL de uma solução saturada de iodeto de potássio e deixado em repouso por 1 minuto, e adicionou-se 30 mL de água destilada e 0,5 mL de uma solução de amido como indicador, titulado a com solução padrão de tiosulfato de sódio a 0,01 N. O

resultado foi expresso em mEq de peróxido por kg de amostra.

Índice de acidez

A determinação da acidez total foi realizada segundo metodologia descrita por (Bobbio, (2003). A análise foi realizada por titulometria empregando uma solução de NaOH 0,1N, e a acidez total foi expressa em percentual.

Índice de iodo

O índice de iodo mede o grau de insaturação de óleos e gorduras e é definido como a quantidade em centigramas do halogênio absorvido por uma g de amostra (IUPAC, 1976).

Índice de refração

O índice de refração foi avaliado utilizando um refratômetro de Abbé (Dellta) onde inicialmente foi realizada a calibração do equipamento com água destilada. O refratômetro foi acoplado em banho termostático à 40 °C, em seguida foi realizada a leitura da amostra (IAL, 2008).

Índice de saponificação

O índice da saponificação foi determinado por titulação de hidróxido de potássio 4% e ácido clorídrico (AOAC, 2005).

Digestibilidade in vitro

O objetivo da simulação gastrointestinal in vitro é conhecer a oxidação do ácido graxo ômega-3 no estômago, duodeno, íleo e cólon sob a presença de enzimas e alterações de pH. A metodologia foi realizada conforme descrito por Madureira e colaboradores (2011) e Naissinger e colaboradores (2021) com modificações.

A análise foi realizada em uma incubadora Shaker refrigerada (Marconi, Brasil) mantida a 37°C, para simular a temperatura do corpo humano. A agitação mecânica foi utilizada em paralelo para simular os movimentos intestinais peristálticos, com intensidades semelhantes às alcançadas na seção do trato digestivo humano.

A oxidação foi avaliada sequencialmente em meios que simulam

diferentes seções do trato gastrointestinal (boca, esôfago/estômago, duodeno e íleo). Foram utilizadas alíquotas de cinco g de óleo, adicionadas em 45 mL de água destilada. As análises foram realizadas em duplicata.

Uma solução ácida (ácido clorídrico - HCl 0,1 mol/L) e uma solução básica (bicarbonato de sódio - NaHCO_3 0,1 mol/L) foram previamente preparados para ajustar o pH das amostras ao longo da simulação. Inicialmente, o pH foi ajustado para 6,9 para simular a acidez da boca, permanecendo nesta condição por 2 minutos a 200 rotação por minuto (rpm) e seguindo para a próxima etapa, conforme Tabela 1.

Na fase esôfago/estômago, foi usado 0,250 mL de pepsina (Sigma Aldrich, USA), preparado em HCl. Essa solução foi adicionada em alíquotas iguais, ao longo da fase gástrica, na quantidade de 0,250 mL, seguindo seis passos de pH/tempo (minutos): 5,5/10; 4,6/10; 3,8/10; 2,8/20; 2,3/20 e 2,0/20. A rotação foi reduzida para 130 rpm e o pH foi ajustado usando uma solução de HCl em cada etapa (pH/tempo) (Tabela 1) (Verruck e colaboradores, 2020). Ao final desta etapa, as amostras do estômago foram centrifugadas (10 min) para a separação do óleo para realizar a análise de substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS).

Tabela 1 - Condições utilizadas na digestibilidade in vitro das amostras de óleo de ômega-3.

	Volume de enzima (mL)	pH	Agitação (rpm)	Tempo
Boca	-	6,9	200	2 min
Estômago	0,250	5,5	130	3 min
	0,250	4,6	130	10 min
	0,250	3,8	130	10 min
	0,250	2,8	130	20 min
	0,250	2,3	130	20 min
	0,250	2,0	130	20 min
Duodeno	0,625	5,0	50	20 min
Íleo	0,625	6,5	50	90 min
Cólon ascendente	-	6,5	50	12h
Cólon transverso	-	6,5	50	24h
Cólon descendente	-	6,5	50	48h

Na etapa referente ao duodeno, na concentração de 0,625 ml, de uma solução contendo 2,0 g/L de pancreatina (Sigma Aldrich, Brasil) e 12 g/L de sais biliares bovinos, preparadas em NaHCO_3 (0,1 mol/L), sendo o pH ajustado para 5,0 e permanecendo por 20 minutos a 50 rpm. Ao final, foi retirado a amostra que correspondia ao estágio do duodeno, e a amostra foi submetida à centrifugação para separação do óleo utilizado na análise do TBARS. Na etapa do íleo foi elevado o pH para 6,5 utilizando uma solução de NaHCO_3 e adicionado 1,25 mL de pancreatina e sais biliares permanecendo a 50 rpm por 90 minutos seguindo o mesmo procedimento das etapas anteriores (Tabela 1).

Para avaliar a resistência do ômega-3 em simulação in vitro do processo digestivo adicionou-se a etapa correspondente ao intestino grosso dando sequência a etapa do intestino delgado seguindo a metodologia Verruck, e colaboradores (2020). As amostras foram adicionadas em um meio contendo os

principais compostos presentes no intestino grosso para simular as condições do cólon.

Este meio contém 5 g/L de peptona bacteriológica, 4,5 g/L, de extrato de levedura, 5 g/L de triptona, 4,5 g/L de cloreto de sódio (NaCl), 0,5 g/L de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4), 1,25 g/L de sulfato de magnésio monohidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 4,5 g/L de cloreto de potássio (KCl), 5 g/L de amido, 2 g/L de pectina cítrica, 3 g/L de caseína, 0,8 g/L de L-cisteína, 1 mL de Tween 80.

A temperatura foi mantida a 37°C, agitação 50 rpm para simular a intensidade dos movimentos peristálticos.

Foram retiradas alíquotas de 12 (cólon ascendente), 24 (cólon transverso) e 48 (cólon descendente) horas simulando o cólon ascendente, transverso e descendente respectivamente. Ao final de cada etapa as amostras foram submetidas a análise de TBARS para avaliar a oxidação do óleo após a simulação do trato gastrointestinal.

Substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs)

A determinação das substâncias reativas ao ácido 2 tiobarbitúrico (TBA) foi realizada segundo a metodologia descrita por Raharjo, Sofos e Schmidt (1993), modificado por Wang e colaboradores (2013) e Savio (2010), com adaptações. Inicialmente 5 g de amostra foram adicionadas em 0,5 mL de uma solução butil-hidroxi-tolueno (BHT) 0,5% e 2 mL de solução de sulfanilamida 0,5%, homogeneizadas. Após 10 minutos de repouso adicionou-se 18 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5%, homogeneizou-se e submeteu-se a filtração. A uma alíquota de 2 mL do filtrado foi adicionado a 2 mL de TBA (0,08 M) e aquecida a banho maria (Lavadora ultra-sônica, UNIQUE, Brasil) 40°C por 1h30 min. Após, efetuou-se a leitura em espectrofotômetro (Agilent Technologies, CN 02501464, Brasil) a 531 nm. A quantificação foi realizada frente a uma curva de calibração padrão de uma solução de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) nas concentrações de 1×10^{-8} a 1×10^{-8} mol/mol. Os

resultados foram expressos em miligramas de malonaldeído por quilograma da amostra.

Análise estatística

Os resultados das análises físico-químicas e digestibilidade foram submetidos a análise da variância (ANOVA), seguidas pelo teste Tukey e t-student utilizando 95% de confiança. Todas as análises estatísticas foram feitas usando a versão estatística 13.3 (TIBCO software Inc, Palo Alto, CA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Qualidade do ômega-3

As análises físico-químicas de acidez, peróxido, iodo, e saponificação, foram realizadas em triplicata, sendo que os resultados se encontram na Tabela 2.

Para as análises de índice de acidez, índice de iodo, índice de saponificação, e índice de refração não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras.

Tabela 2 - Resultados das análises de índices de acidez, peróxido, iodo, saponificação e refração das amostras dos óleos.

Análises	Amostras	
	Óleo 1	Óleo 2
Índice de acidez (%)	0,009 ^a ±0,002	0,010 ^a ±0,001
Índice de peróxido (meq/1000g)	5,080 ^b ±0,010	14,023 ^a ±0,006
Índice de iodo (%)	0,326 ^a ±0,035	0,323 ^a ±0,025
Índice de saponificação (mg/g)	1,897 ^a ±0,040	1,934 ^a ±0,023
Índice de refração	1,480 ^a ±0,01	1,482 ^a ±0,03

Legenda: *médias ± desvio padrão seguida de letras iguais minúsculas nas linhas não diferem significativamente ao nível de 95% de confiança pelo teste de t student.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2021), indica que valores de acidez são adequados quando se encontram abaixo de 3%, sendo assim ambos os óleos estão de acordo com a legislação.

No presente estudo, os valores encontrados para o índice de iodo são de 0,326 e 0,323% para o óleo 1 e óleo 2, respectivamente. Essa diferença pode ter se dado ao fato de que as amostras analisadas são de óleo de peixe encapsulado, além de que o óleo 1 apresenta vitamina E em sua composição, sendo associado a menor oxidação da amostra devido ao seu efeito antioxidante.

Na literatura são encontrados valores superiores aos aqui mencionados para as análises de índice de acidez (0,91 a 2,34%),

índice de iodo (143,17 a 149,91%) e índice de saponificação (194,98 a 196,37 mg/g).

Essas diferenças podem estar associadas com a pureza da gordura, qualidade e natureza da matéria prima, bem como o as condições de processamento e conservação.

Além disso, as características físico-químicas de óleos variam devido a espécies, tecidos, estação climática, alimentação, localização geográfica, condições ambientais e métodos de extração do óleo (Šimat e colaboradores, 2020).

Na legislação brasileira, não há parâmetros de referência para o índice de refração em óleos de peixe. Resultados de 1,45 a 1,47 de índice de refração foram encontrados

para óleo de peixe encapsulado corroborando aos encontrados neste estudo (1,480 e 1,482).

Do mesmo modo, Oliveira (2008) avaliando o índice de refração em óleo de tambaqui (*Colossoma macropomum*) coletado em diferentes cidades, obtiveram valores de 1,459 a 1,461.

Conforme a análise de índice de peróxido (Tabela 2), é possível observar diferença significativa entre as amostras analisadas ($p > 0,05$). O óleo 2 apresentou um nível de oxidação 2,8 vezes maior que o óleo 1, o que sugere a indicação de baixa qualidade da matéria prima em que valores altos de peróxido denotam um processo de oxidação sendo que os peróxidos são os primeiros compostos a serem formados durante o processo de degradação de óleos (Teixeira e colaboradores, 2020).

Com relação ao índice de peróxido, encontrou 53,28% de peróxido no óleo bruto de peixe e 35,58% no óleo refinado (remoção de impurezas), comprovando um elevado estado de deterioração do óleo bruto, onde valores de peróxido adequados são os encontrados abaixo de 10 meq/kg.

Com isso, o óleo 1 analisado está dentro dos limites adequados de oxidação (5,08%), sendo indicado para consumo humano, já o óleo 2 encontra-se acima dos limites permitidos (14,02%), não sendo indicado para o uso como suplemento alimentar na dieta.

No estudo de Ritter, Budge e Jovica (2013), foram analisados produtos contendo éster de óleo de peixe em que apresentaram maior índice de peróxido do que os produtos na forma de triacilglicerol, sugerindo que a formulação pode interferir na oxidação. A indústria pode adicionar antioxidantes, naturais (α -tocoferol - Vitamina E) e artificiais (butilhidroxitolueno - BHT) ao óleo de peixe durante seu processo de fabricação para reduzir a oxidação do óleo.

A adição destes compostos no óleo possuem mecanismos diferentes de interrupção da cadeia oxidativa ou a inibição de seu desenvolvimento.

Portanto, a amostra do óleo 1, pode ter apresentado menor oxidação devido à presença da vitamina E em sua composição. O óleo 2 não continha a vitamina E em sua composição.

Digestibilidade in vitro

No corpo humano as taxas de digestibilidade e absorção dos óleos diferem devido a variações na insaturação de ácidos graxos, comprimento do carbono e localização no esqueleto do glicerol.

Essas variações afetam a biodisponibilidade dos ácidos graxos saturados e o metabolismo lipídico. O óleo é emulsionado pelo ácido biliar e absorvido após ser hidrolisado pela lipase pancreática (Michalski e colaboradores, 2013; Na e Lee, 2020).

Os ácidos biliares na bile podem formar micelas simples, sendo uma função chave no intestino delgado, onde os ácidos emulsificam a gordura da dieta para facilitar sua digestão e absorção (Wang e colaboradores, 2013).

Como a eficiência (>90%) dos ácidos graxos intestinais é significativamente maior em comparação com a absorção do colesterol (~50%), isso mostra claramente que os ácidos graxos podem ser eficientemente absorvidos pelo intestino delgado em seres humanos (Wang e colaboradores, 2013).

A maior parte do transporte de nutrientes ocorre no intestino delgado, enquanto o cólon é o principal responsável pela absorção de água e transporte de eletrólitos. O processo de digestão das gorduras inicia-se na boca com a lipase lingual e continua no estômago com a adição da lipase gástrica produzida pelas células principais.

No entanto, a maior parte da digestão da gordura ocorre no duodeno pela lipase pancreática e colipase, com a ajuda de ácidos biliares emulsificantes (Kiela e Ghishan, 2016).

A oxidação é um dos fatores primordiais para o sucesso terapêutico do óleo de peixe e é de interesse da indústria a comercialização de um produto com níveis ótimos quanto a este parâmetro, além da adição de algum tipo de antioxidante em sua composição para evitar este processo com o decorrer do tempo de prateleira do produto (Teixeira, 2018).

O TBARS induzido in vitro é um método empregado para analisar a capacidade de uma substância em prevenir o dano a gorduras.

Observando o óleo sem tratamento (controle) das duas amostras, o óleo 2 tem uma oxidação de 2,08 vezes maior do que o óleo 1.

Avaliando o óleo controle e digestão no estômago não foi observado diferença significativa ($p > 0,05$) para as duas amostras.

Na primeira etapa da digestão avaliada no estômago as amostras apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre elas. O estômago é o principal local para a emulsificação da gordura dietética, que é um pré-requisito importante para a hidrólise eficiente pela enzima lipase pancreática (Wang e colaboradores, 2013).

A Tabela 3 apresenta os valores obtidos para a análise de TBARS em cada etapa da digestão no trato gastrointestinal. O óleo 1 apresenta diferença significativa ($p<0,05$) entre a fase do estômago e duodeno, enquanto o óleo 2 não apresentou diferença significativa ($p>0,05$). Na fase do intestino delgado, ou seja, duodeno e íleo, os óleos apresentaram resultados similares.

Tabela 3 - Resultados do TBARS realizado em cada etapa do trato gastrointestinal.

TBARS	Amostras	
	Óleo 1	Óleo 2
Controle	0,037 ^{b,E} ±0,004	0,077 ^{a,D} ±0,003
Estômago	0,036 ^{b,E} ±0,001	0,079 ^{a,D} ±0,002
Duodeno	0,060 ^{b,D} ±0,009	0,087 ^{a,C,D} ±0,008
Íleo	0,073 ^{a,C,D} ±0,015	0,085 ^{a,C} ±0,001
Cólon ascendente	0,085 ^{a,C} ±0,014	0,105 ^{a,B} ±0,007
Cólon transverso	0,161 ^{a,B} ±0,008	0,113 ^{b,B} ±0,009
Cólon descendente	0,178 ^{a,A} ±0,006	0,200 ^{a,A} ±0,020

Legenda: *médias ± desvio padrão seguida de letras iguais minúsculas nas linhas e letras maiúsculas na coluna não diferem significativamente ao nível de 95% de confiança pelo teste de t student e Tukey.

Comparando a fase do íleo e cólon 12 horas, o óleo 1 não apresentou diferença significativa no nível de oxidação ($p>0,05$), por outro lado, o óleo 2 apresentou diferença. Avaliando a oxidação de 24h essa foi 1,9 vezes maior em relação a fase do cólon 12h para o óleo 1, enquanto o óleo 2 não apresentou diferença significativa.

De acordo com e Jamilian e colaboradores (2017), os ácidos graxos ômega-3 são sensíveis à oxidação e a suplementação combinada com vitamina E pode ser uma estratégia adequada para obter melhores resultados, sendo que as substâncias oxidantes atuam sinergicamente para reduzir efeitos inflamatórios.

Na fase de 24h para 48h as amostras tiveram diferenças significativas ($p<0,05$). No entanto, no final da digestão, comparando os óleos analisados em relação a oxidação, estes não apresentaram diferença significativa ($p>0,005$). Observando a digestibilidade das amostras analisadas, o óleo 1 manteve uma baixa oxidação quando comparado ao óleo 2, até o cólon de 12h. A partir desse momento ocorreu uma alta oxidação no óleo 2, associado ao efeito da absorção no sistema gastrointestinal humano. Com isso, no cólon pode haver uma maior absorção do óleo no organismo.

Por outro lado, o óleo 2 quando encontrado no cólon, se observa um aumento da oxidação em 12 horas, o que pode mostrar

menos eficácia na absorção. Os ácidos graxos que não são absorvidos são excretados como ácidos graxos fecais, constituindo a principal via de eliminação de esteróis do corpo (Tietge e Groen, 2013).

O metabolismo dos ácidos graxos pode sofrer influência das diferenças significativas nas estruturas químicas e nas propriedades físico-químicas dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados e entre os ácidos graxos de cadeia curta, média e longa. (Wang e colaboradores, 2013)

CONCLUSÃO

No estudo foi possível analisar e compreender sobre o funcionamento do sistema gastrointestinal do ser humano em relação ao comportamento dos ácidos graxos e sua oxidação lipídica, especialmente do ácido graxo ômega-3 de óleo de peixe.

Sugere-se que o intestino delgado é o responsável pela absorção dos ácidos graxos e no cólon ocorre a excreção.

Nas amostras analisadas, o óleo 2 apresentou maior oxidação desde sua amostra controle, mantendo um comportamento de oxidação maior que o óleo 1 durante a digestão.

Entretanto, o óleo 1 apresentou menor oxidação, sendo um suplemento dentro dos parâmetros exigidos pela legislação, que pode ser indicado para o consumo humano, outro fator que pode ter influenciado a menor

oxidação é devido a vitamina E em sua composição.

A maior oxidação foi na fase do cólon descendente (48h) para as duas amostras analisadas, justificando a fase de excreção do cólon. São necessários mais estudos acerca do metabolismo dos ácidos graxos em especial ao do óleo de peixe, ômega-3.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a URI-Erechim, CNPq, FAPERGS e CAPES pela infraestrutura e suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- 1-Akabas, S.R.; Vannice, G.M.S.; Atwater, J.B.; Cooperman, T.; Cotter, R.; Thomas, L. Quality certification programs for dietary supplements. *Journal of the academy of nutrition and dietetics*. Vol. 116. Num. 9. 2016. p. 1370–1379.
- 2-AOAC. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (method 900.02, 994.12, 996.06, 996.01). 2005.
- 3-Calder, P.C. n–3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *The American Journal of Clinical Nutrition*. Vol. 83. Núm. 6. p. 1505s-1519s. 2006.
- 4-Bobbio, F.O; Bobbio, P.A. Introdução a química de alimentos. 3ª edição. p. 238. São Paulo. Varela. 2003.
- 5-Cholewski, M.; Tomczykowa, M.; Tomczyk, M. A comprehensive review of chemistry, sources and bioavailability of omega-3 fatty acids. *Nutrients*. Vol. 10. Num. 11. 2018. p. 1662.
- 6-Cisneiros, A.A.; Queiroz, R.P.G.; Santos de Arruda, H.A. Avaliação dos rótulos de suplementos com ácido graxo ômega 3 comercializados em farmácias localizadas na zona norte de Recife-PE. *Revista Saúde - UNG-SER*. Vol. 16. Num. 2. 2022. p. 8.
- 7-D'angelo, S.; Motti, M.L.; Meccariello, R. ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids, obesity and cancer. *Nutrients*. Vol. 12. Num. 9. 2020. p. 2751.
- 8-Dupont, D.; Alric, M.; Blanquet-Diot, S. Bornhorst, G.; Cueva, C. Deglaire, A.; Denis, S.; Ferrua, M.; Havenaar, R.; Lelieveld, J.; Mackie, A.R.; Marzorati, M.; Menard, O.; Minekus, B.; Miralles, B.; Recio, I.; Van Den Abbeele, P. Can dynamic in vitro digestion systems mimic the physiological reality: Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Vol. 59. Num.10. 2019. p. 1546-1562.
- 9-IAL. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. 2008.
- 10-IUPAC. International Union of Pure and Applied Chemistry. Pure and applied chemistry. Vol. 45. Num. 2. 1976. p. 99-103.
- 11-Jamilian, M.; Dizaji, S.H.; Bahmani, F.; Taghizadeh, M.; Memarzadeh, M.R.; Karamali, M.; Akbari, M.; Asemi, Z. A randomized controlled clinical trial investigating the effects of omega-3 fatty acids and vitamin E co-supplementation on biomarkers of oxidative stress, inflammation and pregnancy outcomes in gestational diabetes. *Canadian Journal of Diabetes*. Vol. 41. Num. 2. 2017. p. 143-149.
- 12-Kiela, P.R.; Ghishan, F.K. Physiology of intestinal absorption and secretion. *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology*. Vol. 2. Num. 30. 2016. p. 145-59.
- 13-Michalski, M.C.; Geno, C.; Gayet, G.; Lopes, C.; Bem, F.; Joffre, F. Vendevre, J.L.; Bouvier, J.; Chardigny, J.M.; Raynal-Ljuttovac., K. Multiscale structures of lipids in foods as parameters affecting fatty acid bioavailability and lipid metabolism. *Progress in Lipid Research*. Vol. 4. Num. 52. 2013. p. 354-75.
- 14-Na, B.; Lee, J. In vitro and in vivo digestibility of soybean, fish, and microalgal oils, and their influences on fatty acid distribution in tissue lipid of mice. *Molecules*. Vol. 25. Num. 22. 2020. p. 5357.
- 15-Name, M.A. Savoye, M.; Chick, J.M.; Galuppo, B.T.; Feldstein, A.E. Pierpoint, B. Johnson, C.; Shabanova, V.; Ekong, U.; Valentino, P.L. Kim, G. Caprio, S.; Santoro, N. A low ω -6 to ω -3 pufa ratio (n–6 n–3 pufa) diet to treat fatty liver disease in obese youth. *Journal Nutrition*. Vol. 9. Num. 150. 2020. p. 2314-2321.

16-Patel, A.K.; Chauhan, A.S.; Kumar, P.; Michaud, P.; Gupta, K.V.; Chang, J.; Chen, C.; Dong, C.; Singhanian, R.R. Emerging prospects of microbial production of omega fatty acids: Recent updates. *Bioresource Technology*. Vol. 360. 2022. p. 127534.

17-Précoma, D.B.; Oliveira G.M.M.; Simão, A.F.; Dutra O.P, Coelho, O.R.; Izar, M.C.O.; Póvoa, R.M.D.S.; Giuliano, I.C.B.; Alencar, A.C. F.; Machado, C.A.; Scherr, C.; Fonseca, F.A.H.; Santos, F. R.D.D.; Carvalho T.; Avezum A. J.R.; Esporcatte, R.; Nascimento B.R.; Brasil, D.P.; Soares, G.P.; Villela, P.B.; Ferreira, R.M.; Martins, W.A.; Sposito, A.C.; Halpern, B.; Saraiva, J.F.K.; Carvalho, L.S.F.; Tambascia, M.A.; Coelho-Filho, O.R.; Bertolami, A.; Correa, H. F.; Xavier, H.T.; Faria-Neto, J.R.; Bertolami, M.C.; Giraldez, V.Z.R.; Brandão, A.A.; Feitosa, A.D.M.; Amodeo, C.; Souza, D.D.S.M.; Barbosa, E.C.D.; Malachias, M.V.B.; Souza, W.K.S.B.; Costa, F.A.A.D.; Rivera, I.R.; Pellanda, L.C.; Silva, M.A.M.D.; Achutti, A.C.; Langowski, A.R.; Lantieri, C.J.B.; Scholz, J.R.; Ismael, S.M.C.; Ayoub, J.C.A.; Scala, L.C.N.; Neves, M.F.; Jardim, P.C.B.V.; Fuchs, S.C.P.C.; Jardim, T.S.V.; Moriguchi, E.H.; Schneider, J.C.; Assad, M.H.V.; Kaiser, S.E.; Lottenberg, A.M.; Magnoni, C.D.; Miname, M.H.; Lara, R.S.; Herdy, A.H.; Araújo, C.G.S.; Milani, M.; Silva, M.M.F.D.; Stein, R.; Lucchese, F.A.; Nobre, F.; Griz, H.B.; Magalhães, L.B.N.C.; Borba, M.H.E.; Pontes, M.R.N.; Mourilhe-Rocha, R. Updated cardiovascular prevention guideline of the brazilian society of cardiology. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. Vol. 113. Num. 4. 2019. p. 787-891.

18-Ritter, J.C.S.; Budge, S.M.; Jovica, F. Quality analysis of commercial fish oil preparations. *Journal of the science of Food and agriculture*, Vol. 93. Num. 8. 2013. p. 1935-1939.

19-Rundblad, A.; Sandoval, V.; Holven, K.B.; Ordovás, J.M.; Ulven, S.M. Omega-3 fatty acids and individual variability in plasma triglyceride response: A mini-review. *Redox biology*. Vol. 63. 2023.

20-Šimat, V.; Vlahović, J.; Soldo, Bárbara.; Mekinić, I.G.; Čagalj, M.; Hamed, I.; Skroza, D. Production and characterization of crude oils from seafood processing by-products. *Food Bioscience*. Vol. 33. p. 100484. 2020. p. 102730.

21-Teixeira, J.T. Produção e caracterização de óleo bruto e refinado obtido de cabeças de tilápia sob diferentes temperaturas. *Research, Society and Development*. Vol. 9, Num. 11. 2020. p. 2709119837.

22-Tietge, U.J.F.; Groen, A.K. Role the tice?. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. Vol. 33. Num. 7. 2013. p. 1452-1453.

23-Verruck, S.; Baretta, C.; Miotto, M.; Canela, M. H.M.; Liz, G.R. Maran, B.M.; Garcia, S.G.; Silveira, S.M.; Vieira, C.R.W.; Cruz, A. G.; Prudêncio, E.S. Evaluation of the interaction between microencapsulated bifidobacterium BB-12 added in goat's milk frozen yogurt and escherichia coli in the large intestine. *Food Research International*. Vol. 127. 2020.

24-Wang, T.Y.; Liu, M.; Portincasa, P.; Wang, D. Q.H. New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption. *European journal of clinical investigation*. Vol. 11. Num. 43. 2013. p. 1203-23

25-Watson, G.A.T.; Valença, Y.L. Salomon, A.L.R. O papel dos ácidos graxos na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares. TCC. Centro universitário de Brasília - CEUB. Faculdade de Ciências da Educação e Saúde. 2021. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/handle/prefix/15821>. Acesso em: 01/07/2023.

26-Zhao, J.; Shi, P.; Sun, Y.; Sun, J.; Dong, J.N.; Wang, H.G.; Zuo, L.G.; Gong, J.F.; Li, Y.; Gu, L.L.; Li, N.; Li, J.S.; Zhu, W.M. DHA protects against experimental colitis in il-10-deficient mice associated with the modulation of intestinal epithelial barrier function. *British Journal of Nutrition*. Vol. 114. Num. 2. 2015. p. 181-188.

E-mail dos autores:
097042@aluno.uricer.edu.br
ilizandrafernandes@yahoo.com.br
marciperuzzolo@yahoo.com.br
janinemartinazzo@yahoo.com.br
clarices@uricer.edu.br

Recebido para publicação em 08/11/2023
Aceito em 15/04/2024