

DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ERÚCICO EM MOSTARDA DE MESA *

Franca DURANTE **
Elza Schwarz Gastaldo BADOLATO **
Maria Elisa Wohlers de ALMEIDA **

RIALAG/556

DURANTE, F.; BADOLATO, E.S.G. & ALMEIDA, M.E.W. — Determinação de ácido erúcido em mostarda de mesa. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):33-40, 1983.

RESUMO: O ácido erúcido, substância de toxicidade já verificada em animais de laboratório, está presente no óleo de semente de mostarda; este fato levou os autores a pesquisarem sua presença em mostarda de mesa. A técnica de cromatografia em fase gasosa foi utilizada para determinar o perfil cromatográfico do óleo de semente de mostarda, extraído de 15 amostras de semente de mostarda, 22 amostras de mostarda de mesa de origem nacional e 11 amostras de mostarda de mesa de origem européia. Foram identificados os seguintes ácidos graxos: palmítico, palmitoléico, esteárico, oléico, linoléico, linolênico, gadolêico, behênico e erúcido. Foi encontrado um alto teor de ácido erúcido, variando de 15,6 a 38,0% em relação aos ácidos graxos totais. O perfil cromatográfico permitiu a identificação rápida do óleo de mostarda como também possibilitou a detecção da adulteração de mostarda de mesa.

DESCRITORES: mostarda, óleo de semente, determinação do ácido erúcido; mostarda de mesa (preparada), determinação do ácido erúcido; ácido erúcido, determinação em mostarda, semente, e em mostarda de mesa; ácidos graxos em mostarda, semente, determinação; ácidos graxos em mostarda de mesa, determinação; mostardas, fraudes.

INTRODUÇÃO

O grande número de trabalhos recentemente publicados sobre a toxicidade do ácido erúcido presente em vegetais, principalmente com referência ao óleo extraído de semente de colza (*Brassica napus*), trouxe-nos a preocupação de verificar a presença deste ácido em mostardas de mesa ou preparadas, considerando que o ácido erúcido faz parte da composição do óleo de semente de mostarda.

A mostarda pertence à família *Cruciferae*, sendo que as espécies mais utilizadas no preparo das mostardas de mesa são: mostarda branca (*Sinapis alba*), mostarda negra (*Brassica nigra*) e mostarda parda (*Brassica juncea*).

O grão inteiro e as sementes da mostarda em pó não possuem aroma e nem sabor característicos; estes aparecem em presença de água ou líquidos ácidos, pois o isotiocianato de alila, composto volátil responsável pelo odor e sabor picantes da mostarda, é liberado a partir do glicósido sinigrina pela ação da enzima mirosinase (SCHMIDT-HEBBEL¹⁵).

As mostardas preparadas ou mostardas de mesa são produtos de aspecto cremoso obtidos a partir de uma mistura de sementes de mostarda moídas com vinagre ou vinho, sal, açúcar, podendo conter outras especiarias, desde que não encubram o sabor e odor característicos do produto.

As mostardas de mesa, cujo consumo tem aumentado ultimamente devido a novos hábi-

* Realizado na Divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

tos alimentares, podem ser fraudadas substituindo-se a semente de mostarda moída por outras especiarias.

Aspectos toxicológicos do ácido erúico — a administração de ácido erúico junto com a ração, em animais de laboratório, acarreta o aparecimento de necrose focal do coração (ASTORG & LEVILLAIN¹; HUNG *et alii*⁷), fibrose (ATHIAS *et alii*²; RAY *et alii*¹²) e lipidose cardíaca (BHATIA *et alii*⁴; BHATIA *et alii*⁵).

Rações com diferentes teores de óleo de mostarda (0, 5, 10 e 15%), com alto teor de ácido erúico, foram administradas a ratos albinos durante períodos de tempo diversos (de 2 a 120 dias). Os grupos que receberam por 2 dias as rações com os níveis mais altos (10 e 15%) de óleo de mostarda apresentaram acentuado acúmulo de lipídios cardíacos (até 68%), principalmente triglicerídios. A análise dos lipídios cardíacos totais revelou um alto teor de ácido erúico (até 28%). Com o aumento do período de alimentação (até 120 dias) com óleo de mostarda, há uma diminuição progressiva dos altos índices que ocorrem precocemente (BHATIA *et alii*⁵; HUNG *et alii*⁷; KAKO & VASDEV⁸). Experimentos em frangos Leghorn apresentaram também resultados equivalentes (KRAMER & HULAN⁹).

O acúmulo dos triglicerídios cardíacos foi encontrado nos grupos de animais submetidos a rações contendo até 5% de ácido erúico. Isto não ocorre nos grupos alimentados com rações contendo 0,2% deste ácido (KRAMER & HULAN¹⁰).

Os resultados são semelhantes com a administração de óleo de mostarda ou de óleo de colza, desde que os teores de ácido erúico sejam equivalentes (BHATIA *et alii*⁵; HUNG *et alii*⁷; RAY *et alii*¹²).

A ingestão de rações contendo ácido erúico também causa diminuição da absorção intestinal de cálcio, decréscimo de cálcio nos ossos e alterações da relação cálcio/fósforo (NAVARRO *et alii*¹¹).

Com a administração a ratos de rações contendo 20% de óleo de mostarda, por períodos variáveis (até 160 dias), houve aumento significativo dos triglicerídios mitocondriais, do éster de colesterol, da fosfatidilcolina e da esfingomielina. Simultaneamente ocorreu uma diminuição da fosfatidiletanolamina e da cardioliipina (SEN & SEN GUPTA¹⁶).

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizadas sementes de mostarda e mostardas preparadas, tendo sido analisadas as seguintes amostras:

— 15 amostras de óleo de semente de mostarda, extraídas no laboratório, de diversas procedências;

— 22 amostras de óleo extraído de mostardas preparadas, de origem nacional, adquiridas no comércio;

— 11 amostras de óleo extraído de mostardas preparadas, de procedência estrangeira (européia).

As amostras de semente de mostarda foram trituradas e as de mostarda preparadas foram homogeneizadas.

Os lipídios dessas amostras foram extraídos e quantificados de acordo com o método indicado nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹⁴.

Os lipídios assim extraídos foram submetidos a um processo de metilação, usando a técnica de transesterificação descrita por BADOLATO e ALMEIDA³ que consiste em: colocar 25 mg de amostra em um frasco de transesterificação. Adicionar 15 ml de solução de H₂SO₄ a 2% em metanol, 3 ml de hexano e algumas pérolas de vidro. Aquecer em refluxo por uma hora. Esfriar e adicionar cerca de 40 ml de solução saturada de NaCl; agitar por um minuto. Adicionar mais solução de NaCl até o solvente atingir a parte afunilada do frasco. Os ésteres metílicos formados se encontram dissolvidos no hexano.

A análise dos ésteres metílicos dos ácidos graxos foi efetuada em um cromatógrafo a gás, Varian, modelo 1400, com detector de ionização de chama acoplado a um integrador, Varian, modelo CDS 111.

Foi usada uma coluna de aço inox de 6 pés de comprimento e 1/8 de polegada de diâmetro interno, tendo como fase estacionária DEGS (succinato de dietileno glicol) a 20% em Chromosorb W/AW 80-100 "meshes", como suporte sólido.

Condições de trabalho

Temperatura do injetor: 210°C

Temperatura do detector: 220°C

Temperatura da coluna: programada de 150 a 190°C, sendo $\beta = 4^\circ\text{C}/\text{min}$.

Gás de arraste: nitrogênio

Fluxo: 25 ml/min.

Sensibilidade: variável

Velocidade do papel: 0,2 cm/min.

Os principais ácidos graxos foram identificados por comparação com os tempos de retenção de padrões, e a porcentagem relativa foi determinada pelo processo de normalização interna.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tanto nas amostras de semente de mostarda como nas amostras de mostardas preparadas foram detectados os seguintes ácidos graxos: palmítico, palmitolêico, esteárico, olêico, linolêico, linolênico, gadolêico, behênico e erúico. Também foi detectado um pico não identificado que emerge logo após o ácido gadolêico (fig. 1 e 2).

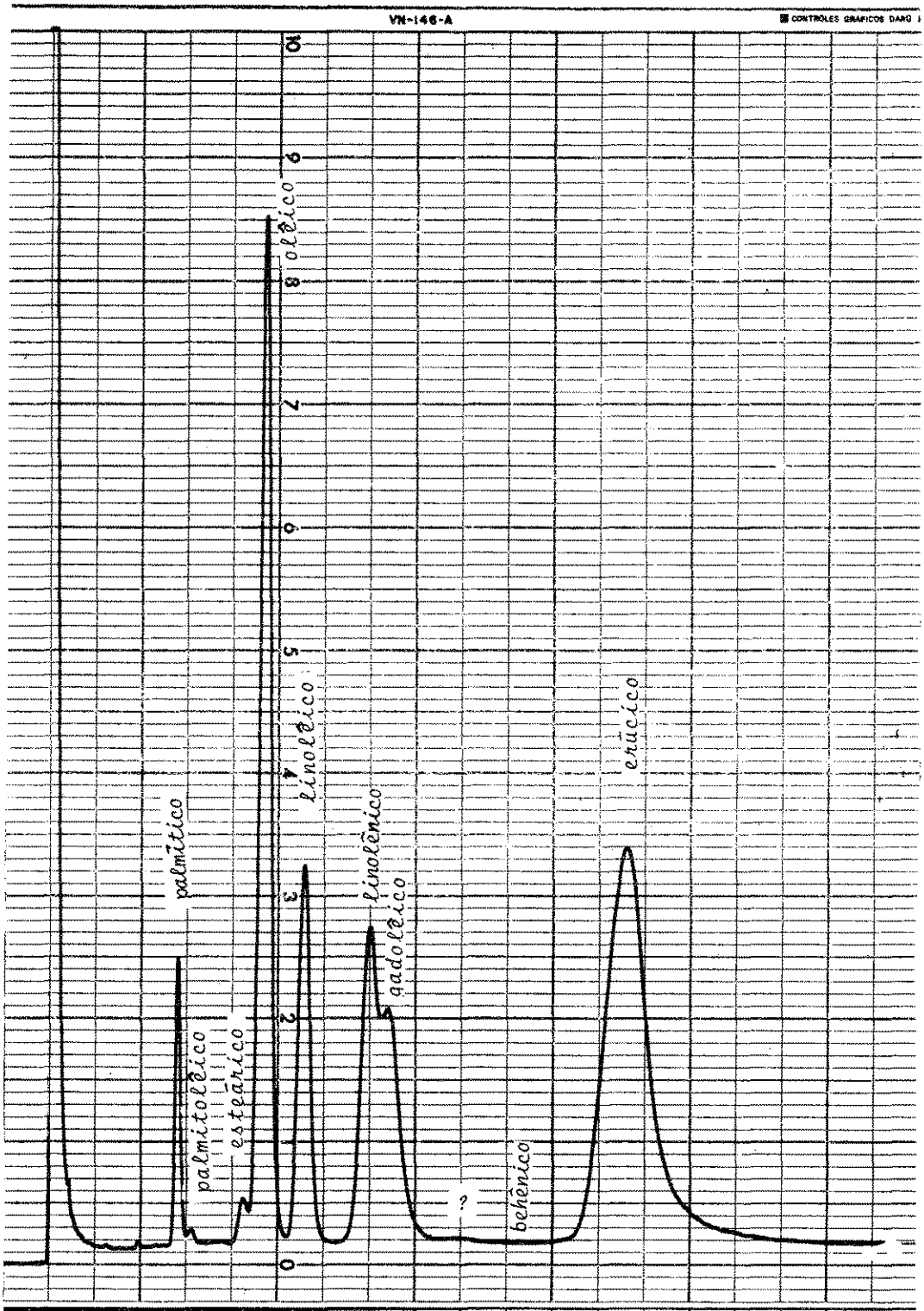


FIGURA 1 — Cromatograma de ácidos graxos de óleo de semente de mostarda extraído no laboratório.

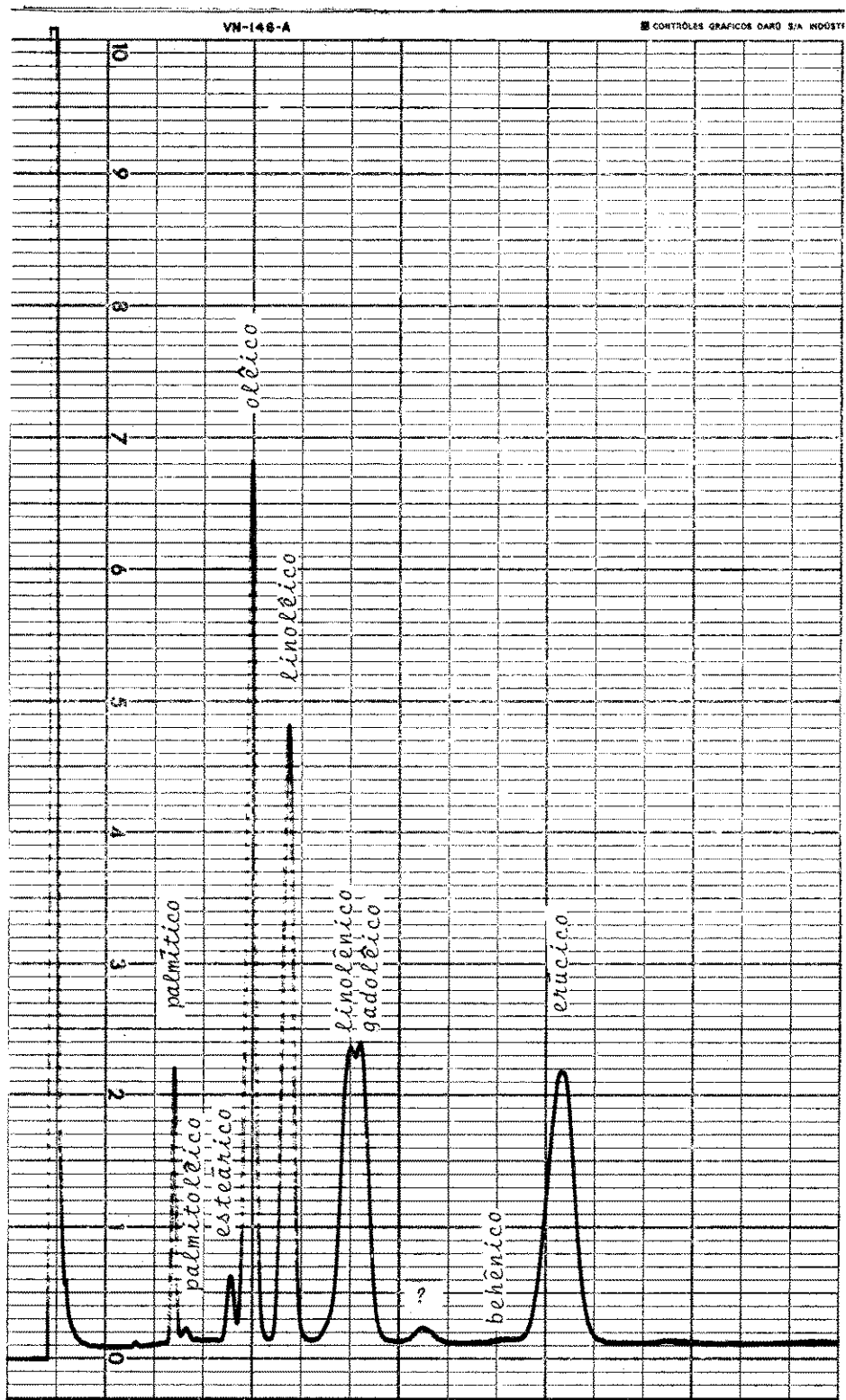


FIGURA 2 — Cromatograma de ácidos graxos de óleo de mostardas preparadas extraído no laboratório.

Os teores relativos dos ácidos graxos encontram-se reunidos nas tabelas 1, 2 e 3. Pelos dados obtidos verifica-se que o ácido erúico apresenta maior teor em relação ao total dos ácidos graxos, seguido do ácido oléico. Quanto aos ácidos linolênico e gadolêico eles foram computados conjuntamente devido à superposição parcial de seus picos; somente em algumas amostras houve separação, possibilitando o cálculo isolado.

Os teores de ácidos graxos de óleo de semente de mostarda (15 amostras) obtidos caem praticamente dentro dos intervalos estabelecidos provisoriamente pela Comissão do Codex Alimentarius sobre Óleos e Gorduras, da FAO/OMS, dados estes provenientes de aná-

lise de 4 amostras, publicados por SPENCER *et alii*¹⁷.

A presença do ácido mirístico em algumas amostras de mostardas preparadas é devida à adição de noz-moscada na formulação desses produtos. O óleo extraído de noz-moscada contém de 75 a 85% de ácido mirístico. As análises de óleo de noz-moscada, por nós efetuadas, demonstram ser o ácido mirístico o único ácido graxo, ausente no óleo de mostarda, detectável nas amostras de mostardas preparadas, não interferindo no seu perfil cromatográfico.

Os resultados da determinação dos lipídios estão reunidos na tabela 4.

TABELA 1

*Composição dos ácidos graxos das sementes de mostarda **

Ácidos graxos	Valor %	
	mínimo	máximo
Palmitíco	3,0	4,4
Palmitolêico	tr**	0,8
Esteárico	0,9	2,1
Oléico	21,9	28,5
Linolêico	8,2	11,8
Linolênico/Gadolêico	19,3	30,0
Não identificado	tr	0,5
Behênico	tr	0,5
Erúico	34,7	44,1

* N.º de amostras = 15

** tr = traços

TABELA 2

*Composição dos ácidos graxos das mostardas preparadas nacionais **

Ácidos graxos	Valor %	
	mínimo	máximo
Mirístico	tr**	3,5
Palmitíco	3,6	11,2
Palmitolêico	0,2	2,7
Esteárico	1,5	4,4
Oléico	15,7	33,9
Linolêico	7,6	21,8
Linolênico/gadolêico	14,4	25,9
Não identificado	tr	1,4
Behênico	tr	1,0
Erúico	15,6	38,0

* N.º de amostras = 20

** tr = traços

TABELA 3

*Composição dos ácidos graxos das mostardas preparadas estrangeiras**

Ácidos graxos	Valor %	
	mínimo	máximo
Mirístico	tr**	0,1
Palmitico	3,6	5,9
Palmitoléico	0,1	1,0
Esteárico	1,2	2,8
Oléico	19,7	29,3
Linoléico	11,7	24,8
Linolênico/gadoléico	19,4	28,1
Não identificado	0,2	1,4
Behênico	tr	0,4
Erúico	18,7	31,7

* N.º de amostras = 11

** tr = traços

TABELA 4

Teor de lípidios encontrado nas amostras analisadas

Tipos de amostra	N.º de amostras	Valor %		
		mínimo	máximo	médio
Mostardas em grão	15	10,8	39,0	25,9
Mostardas preparadas nacionais	20	0,3	7,7	2,8
Mostardas preparadas estrangeiras (européias)	11	2,5	8,2	5,3

Considerando a porcentagem de lípidios encontrados, verificamos uma variação significativa comparando-se as mostardas preparadas nacionais com as européias. Pelos resultados incluídos na tabela 4, verificamos que as mostardas estrangeiras são fabricadas com maior quantidade de semente de mostarda que as nacionais.

CONCLUSÃO

A cromatografia em fase gasosa dos ácidos graxos presentes nas mostardas preparadas, através do perfil cromatográfico do óleo de semente de mostarda, permitiu não só a identificação do produto, como também detectar fraudes, seja pela substituição da semente de mostarda por outras especiarias como também

pela adição de outros óleos comestíveis. A cromatografia em fase gasosa é, ainda, um processo mais rápido e sensível do que a clássica pesquisa de isotiocianato de alila¹⁴.

A toxicidade do ácido erúico, presente no óleo de mostarda, tem sido objeto de pesquisa por diversos autores, como citado na revisão bibliográfica feita por GODED Y MUR⁶ e nas demais referências constantes da introdução do trabalho. Entretanto, na bibliografia ao nosso alcance, não foram salientadas referências sobre os possíveis riscos provenientes da ingestão de mostardas preparadas.

Considerando que o consumo de mostarda é feito principalmente por crianças e adolescentes e que este consumo tende a aumentar devido a novos hábitos alimentares, o presente trabalho tem a preocupação de levantar o problema da ingestão em alta quantidade de

ácido erúico através desse produto, e alertar para as possíveis conseqüências prejudiciais ao organismo.

Assim como foram desenvolvidas variedades de colza isentas ou com teor muito baixo de ácido erúico, seria de interesse que os pesqui-

sadores se interessassem por resolução semelhante com relação às diferentes variedades de mostarda, considerando-se também que em alguns países, como Índia, Paquistão, Bangladesh, Polônia e outros, o óleo de mostarda é também utilizado como óleo comestível.

RIALA6/556

DURANTE, F.; BADOLATO, E.S.G. & ALMEIDA, M.E.W. — Determination of erucic acid in prepared mustards. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):33-40, 1983.

ABSTRACT: The presence of erucic acid in prepared mustards and in mustard seed oil was studied since this acid is toxic according to animal experimentation. Gas-liquid chromatography was employed to obtain a chromatographic profile of mustard seed oil and to detect frauds in prepared mustards. The following material was analysed: 15 samples of mustard seed oil extracted in the laboratory; 22 samples of Brazilian prepared mustard and 11 samples of European prepared mustard. The fatty acids identified and determined were: palmitic, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic, linolenic, gadoleic, behenic and erucic acids. Erucic acid was the fatty acid found in higher amount (from 15.6 to 38.0%) related to the total fatty acids in mustard samples.

DESCRIPTORS: mustard seed oil, determination of erucic acid; mustard, prepared, determination of erucic acid; erucic acid, determination in mustard seed oil and prepared mustards; fatty acids, determination in mustard seed oil and prepared mustards; mustards, frauds.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASTORG, P.O. & LEVILLAIN, R. — Lésions du myocarde après ingestion d'acide docosénoïque chez le Rat: effets comparés des acides brassidique et érucique. *C. r. hebdomadaire des Séances Acad. Sci., Ser. D, Sci. nat.* 285:1123-6, 1977.
2. ATHIAS, P.; PINSON, A.; FRELIN, C.; PADIEU, P. & KLEPPING, J. — Comparative study on the effects of exogenous palmitate and erucate on intracellular electric properties of cultured beating heart cells. *J. mol. cell. Cardiol.*, 11:755-67, 1979.
3. BADOLATO E.S.G. & ALMEIDA, M.E.W. — Pesquisa por cromatografia em fase gasosa da adulteração de chocolates. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37:47-56, 1977.
4. BHATIA, I.S.; SHARMA, A.K. & AHUJA, S.P. — Comparative in vitro metabolism of 1-¹⁴C-oleic acid & 1-¹⁴C-erucic acid in liver, heart & skeletal muscles of rats. *Indian J. exp. Biol.*, 16:897-902, 1978.
5. BHATIA, I.S.; SHARMA, A.K.; GUPTA, P.P. & AHUJA, S.P. — Effects of feeding mustard oil to rats on the in vivo lipid metabolism in heart and lungs. *Indian J. med. Res.*, 69:271-83, 1979.
6. GODED Y MUR, A. — Ácido erúico — perfil bibliográfico esquemático. *Alimentaria*, 99:31-39, 41-58, 1979.
7. HUNG, S.; UMEMURA, T.; YAMASHIRO, S.; SLINGER, S.J. & HOLUB, B.J. — The effects of original and randomized rapeseed oils containing high or very low levels of erucic acid on cardiac lipids and myocardial lesions in rats. *Lipids*, 12:215-21, 1977.
8. KAKO, K.J. & VASDEV, S.C. — Effects of a high fat-high erucic acid diet on the lipid metabolism and contractility of the rat heart. *Biochem. Med.*, 22:76-87, 1979.
9. KRAMER, J.K.G. & HULAN, H.W. — Changes in cardiac lipids of chicks fed rapeseed oils with different levels of erucic acid. *Can. J. anim. Sci.*, 57:305-12, 1977.
10. KRAMER, J.K.G. & HULAN, H.W. — The effect of dietary erucic acid on cardiac triglycerides and free fatty acid levels in rats. *Lipids*, 13:438-45, 1978.
11. NAVARRO, M.P.; ANDUJAR, M.M.; BOCANEGRA, N. & CUESTA, C. — El aceite de colza en el metabolismo mineral de la rata. *Grasas Aceites*, 31:105-10, 1980.

12. RAY, S.; SEN GUPTA, K.P. & CHATTERJEE, G.C. — Effect of mustard oil, rapessed oil and groundnut oil feeding on development of myocardial lipidosis and fibrosis in rats. *Indian J. exp. Biol.*, 17:918-21, 1979.
13. ROSE, S.P.; BELL, J.M.; WILKIE, I.W. & SCHIEFER, H.B. — Influence of weed seed oil contamination on the nutritional quality of diets containing low erucic acid rapeseed (*Brassica napus*, Tower cultivar) oil when fed to rats. *J. Nutr.*, 111:355-64, 1981.
14. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. Vol. 1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 2.^a ed. São Paulo, 1976.
15. SCHMIDT-HEBBEL, H. — *Las especias (condimentos vegetales): su importancia en química y tecnología de alimentos y en el arte culinario*. Santiago, Fundación Chile, 1980, p. 65.
16. SEN, A. & SEN GUPTA, K.P. — Effect of feeding mustard oil to rats on mitochondrial lipid profile of heart tissue. *Indian J. exp. Biol.*, 18:1012-15, 1980.
17. SPENCER, G.F.; HERB, S.F. & GORMISKY, P.J. — Fatty acid composition as a basis for identification of commercial fats and oils. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 53:94-6, 1976.

Recebido para publicação em 8 de abril de 1983.