UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Maíra de Oliveira Namorato Caetano

Ação antioxidante de extratos de louro (*Laurus nobilis*) em óleo de girassol sob estocagem acelerada em estufa

São José do Rio Preto
2022

Maíra de Oliveira Namorato Caetano

Ação antioxidante de extratos de louro (*Laurus nobilis*) em óleo de girassol sob estocagem acelerada em estufa

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientadora: Profª. Drª. Neuza Jorge

São José do Rio Preto
2022

C128a

Caetano, Maíra de Oliveira Namorato
Ação antioxidante de extratos de louro (Laurus nobilis) em óleo de girassol sob estocagem acelerada em estufa / Maíra de Oliveira Namorato Caetano. -- São José do Rio Preto, 2022
84 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto
Orientadora: Neuza Jorge

1. extratos vegetais. 2. fenóis. 3. peroxidação de lipídeos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Maíra de Oliveira Namorato Caetano

Ação antioxidante de extratos de louro (*Laurus nobilis*) em óleo de girassol sob estocagem acelerada em estufa

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão examinadora

Profª. Drª. Neuza Jorge
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientador

Profª. Drª. Cintia Nanci Kobori
UFSJ – Campus Sete Lagoas

Profª. Drª. Ana Carolina da Silva
UFTM – Uberaba

São José do Rio Preto
01 Setembro de 2022

“Se você acha que pode e se você acha que não pode, de um jeito ou de outro, você está certo.” Henry Ford.

Este trabalho é dedicado aos meus filhos Izabela e Felipe e meu desejo é que eles nunca se esqueçam que querer é poder.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de realizar esse desejo e por cuidar de mim e da minha família durante toda essa trajetória.

Ao meu esposo Patrick D'Angelo, pelo incentivo e apoio, por dedicar seu tempo a cuidar de tudo quando não pude estar presente, e por se mostrar meu parceiro e amigo nos momentos que mais precisei. Aos meus filhos, por serem minhas motivações diárias e os responsáveis por eu querer ser melhor a cada dia. À minha mãe e minha irmã, que foram minhas maiores incentivadoras a iniciar o mestrado e por acreditarem no meu potencial. Ao meu pai, por ser uma referência para mim em todos os quesitos. Ao meu irmão, que mesmo sem saber, me incentiva a encarar a vida com mais leveza e me ensina que tudo o que eu fizer precisa ser divertido para fazer sentido. Agradeço também os meus sogros, pelo apoio e incentivo, sempre. E à toda minha família, que mesmo longe, não mede esforços para me ver feliz, meu muito obrigada, amo muito vocês.

Agradeço minha orientadora, Professora Dra. Neuza Jorge, pela confiança, apoio, por todos os ensinamentos, pela paciência e por contribuir muito na minha formação.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos e às professoras Cintia Nanci, Débora Moreno, Ana Carolina da Silva, Carolina Veronezzi e Patrícia Maria Vieira por aceitarem o convite para participar da banca examinadora e contribuirem com esta dissertação.

Ao amigo e técnido do laboratório Luiz Carlos, pela paciência e amizade; aos colegas Larissa Rocha e Welinghton Umeda, pelo apoio e icentivo e a todos os demais colegas do departamento, pela parceria e pelos bons momentos vividos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), Código de Financiamento 001, pelo auxílio financeiro.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivos avaliar o efeito antioxidante de extratos etanólicos de folhas louro (*Laurus nobilis*), medir a estabilidade oxidativa do óleo de girassol adicionado desses extratos e analisar a resistência dos tocoferóis naturalmente presentes no óleo de girassol sob estocagem acelerada em estufa. Para tanto, foram utilizados extratos *in natura* (EN), liofilizados (EL) e secos em estufa a 60ºC (ES). Os extratos foram obtidos com álcool etílico na proporção 1:10 (1 parte de folhas para 10 partes de solvente) ao abrigo da luz, à temperatura ambiente. O teor de compostos fenólicos foi determinado pelo método colorimétrico, empregando o reagente Folin-Ciocauteau e a atividade antioxidante pelos métodos do radical livre DPPH$^{\bullet}$, FRAP e ABTS$^{\bullet+}$. Os extratos de louro liofilizado (EL) e seco em estufa (ES) foram aplicados em óleo de girassol para avaliação do efeito antioxidante em comparação com o antioxidante sintético TBHQ. Os tratamentos constituídos por óleo de girassol sem e com antioxidantes naturais de extratos de louro, sintético (TBHQ) e a combinação de ambos foram submetidos ao teste acelerado em estufa a 60ºC, cujas amostras foram tomadas nos intervalos 0, 7, 14 e 21 dias e posteriormente analisadas por meio das medidas de dienos conjugados, índice de peróxidos, ganho de massa, índice de estabilidade oxidativa e teores de tocoferóis. A concentração de compostos fenólicos totais foi de 1,91 mg EAG/g para o EL e 1,68 mg EAG/g para o ES, demonstrando potencial ação antioxidante natural. No ensaio de estocagem acelerada, as análises mostraram que os tratamentos contendo apenas extrato natural, apresentaram resultados de peróxidos e dienos conjugados significativamente menores que o óleo de girassol sem antioxidantes. Já, o antioxidante sintético TBHQ provou ser mais eficiente na prevenção da oxidação lipídica que os extratos analisados. Os tratamentos contendo as combinações de antioxidantes, demonstraram eficácia similar, principalmente na retenção de tocoferóis, evidenciando sinergismo entre os componentes, possibilitando a substituição parcial do TBHQ por extrato natural no óleo de girassol.

Palavras-chave: Extrato etanólico. Compostos fenólicos totais. Estabilidade oxidativa. Tocoferóis.

ABSTRACT

The present work aimed to evaluate the antioxidant effect of ethanolic extracts of laurel leaves (Laurus nobilis), measure the oxidative stability of sunflower oil added to these extracts and analyze the resistance of tocopherols naturally present in sunflower oil under accelerated storage in an oven. For that, extracts in natura (EN), lyophilized (EL) and oven-dried at 60ºC (ES) were used. The extracts were obtained with ethyl alcohol in a 1:10 ratio (1 part of leaves for 10 parts of solvent) protected from light, at room temperature. The content of phenolic compounds was determined by the colorimetric method, using the Folin-Ciocauteau reagent and the antioxidant activity by the free radical methods DPPH$^{\bullet}$, FRAP and ABTS$^{\bullet+}$. Lyophilized (EL) and oven-dried (ES) laurel extracts were applied to sunflower oil to evaluate the antioxidant effect compared to the synthetic antioxidant TBHQ. The treatments consisting of sunflower oil without and with natural antioxidants from laurel extracts, synthetic (TBHQ) and the combination of both were submitted to the accelerated test in an oven at 60ºC, whose samples were taken at intervals of 0, 7, 14 and 21 days. and later analyzed through the measurements of conjugated dienes, peroxide index, mass gain, oxidative stability index and tocopherol contents. The concentration of total phenolic compounds was 1.91 mg EAG/g for EL and 1.68 mg EAG/g for ES, demonstrating potential natural antioxidant action. In the accelerated storage test, the analyzes showed that the treatments containing only natural extract, presented results of peroxides and conjugated dienes significantly lower than the sunflower oil without antioxidants. On the other hand, the synthetic antioxidant TBHQ proved to be more efficient in preventing lipid oxidation than the analyzed extracts. The treatments containing the combinations of antioxidants showed similar efficacy, mainly in the retention of tocopherols, evidencing synergism between the components, allowing the partial replacement of TBHQ by natural extract in sunflower oil.

Keywords: Ethanol extract. Total phenolic compounds. Oxidative stability. Tocopherols.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Esquema geral do mecanismo de oxidação lipídica. 17
Figura 2 - Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos. 22
Figura 3 - Principais classes de compostos bioativos existentes nas plantas. 27
Figura 4 - Mecanismo de ação dos compostos fenólicos. 28
Figura 5 - Estrutura dos ácidos hidroxibenzóicos. 30
Figura 6 - Estrutura dos ácidos hidroxicinâmicos. 30
Figura 7 - Estrutura química dos flavonoides. 32
Figura 8 - Tocoferóis detectados nas folhas e sementes de louro. 32
Figura 9 - Estrutura química dos tocoferóis presentes nos óleos vegetais. 33
Figura 10 - Folhas de louro. 35
Figura 11 - Folhas de louro antes e após processo de liofilização. 41
Figura 12 - Folhas de louro antes e após processo de secagem em estufa. 42
Figura 13 - Extratos das folhas de louro ressuspensos em álcool etílico. 43
Figura 14 - Tratamentos submetidos à estocagem em estufa..... 55
Figura 15 - Ganho de massa dos tratamentos submetidos à estocagem acelerada. 61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teor de tocoferóis das folhas de louro espécie Laurus nobilis. 34
Tabela 2 - Composição em ácidos graxos de óleos de girassol. 37
Tabela 3 - Análises de rendimento, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos de folhas de louro: *in natura* (EN), liofilizado (EL) e seco em estufa (ES). 50
Tabela 4 - Caracterização físico-química do óleo de girassol. 52
Tabela 5 - Análise de clorofila dos tratamentos antes da estocagem. 55
Tabela 6 - Médias do índice de dienos conjugados e peróxidos para a interação tratamentos x tempos dos óleos submetidos a estocagem em estufa a 60ºC. 57
Tabela 7 - Médias do índice de p-anisidina e totox para a interação tratamentos x tempos dos óleos submetidos a estocagem em estufa a 60ºC. 58
Tabela 8 - Estabilidade oxidativa (h) para a interação de tratamentos x tempos de estocagem em estufa a 60°C. 60
Tabela 9 - Médias de tocoferóis para a interação tratamentos x tempos dos óleos submetidos a estocagem em estufa a 60ºC. 63
Tabela 10 - Teor de α-tocoferol residual (%) do óleo de girassol adicionado de antioxidantes. 64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µMol	Micromol
A•	Radical inerte
ABTS	2,2´-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
AGL	Ácidos graxos livres
AH	Antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo
ANOVA	Análise de variância
AOCS	*American Oil Chemists´ Society*
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
C	Carbono
cm	Centímetro
CO_2	Gás carbônico
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
ERO	Especíes reativas de oxigênio
FRAP	*Ferric Reducing Antioxidant Power*
GP	Galato de propila
h	Horas
HPLC	High performance liquid chromatography
HPLC-MS	High performance liquid chromatography tandem mass spectrometry
mg	Miligrama
mm	Milímetro
mM	Milimolar
Nm	Namômetro
PET	Polietileno tereftalato
R•	Radical livre
RH	Ácido graxo insaturado
ROO•	Radical peróxido
ROOH	Hidroperóxido
TBHQ	Terc-butil-hidroquinona
TOTOX	Valor de oxidação total

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13
2. OBJETIVOS 15
2.1. Objetivo geral 15
2.2. Objetivos específicos 15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 16
3.1. Oxidação de lipídios 16
3.2. Avaliação físico-química dos óleos vegetais 19
3.3. Antioxidantes 20
3.4. Atividade antioxidante 25
3.5. Compostos bioativos 26
3.5.1. Compostos fenólicos 28
3.5.2. Tocoferóis 31
3.6. Loureiro 34
3.7. Óleo de girassol 35
3.8. Estocagem acelerada em estufa 38
4. MATERIAL E MÉTODOS 41
4.1. Material 41
4.1.1. Óleo vegetal 41
4.1.2. Folhas de louro 41
4.1.3. Extratos e antioxidantes 42
4.2. Estocagem acelerada em estufa 43
4.3. Métodos 44
4.3.1. Análise nas folhas e extratos 44
4.3.2. Análises no óleo 46
4.4. Análise estatística 49
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 50
5.1. Análise nas folhas e extratos 50
5.2. Análises no óleo 52
5.2.1. Caracterização do óleo de girassol 52
5.2.2. Estocagem acelerada em estufa 54
6. CONCLUSÕES 66
REFERÊNCIAS 67

APÊNDICE A - Curva padrão de ácido gálico para análise de compostos fenólicos..... 79
APÊNDICE B - Curva padrão Trolox para análise de DPPH• 79
APÊNDICE C - Curva padrão Trolox para análise de FRAP..... 80
APÊNDICE D - Curva padrão Trolox para análise de ABTS..... 80
APÊNDICE E - Análises de variância para as determinações de rendimento, compostos fenólicos, DPPH (AA%), DPPH, FRAP, ABTS..... 81
APÊNDICE F - Análises de variância para clorofila, índice de dienos conjugados, peróxidos, *p*-anisidina, Totox, estabilidade oxidativa e ganho de massa dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa. 82
APÊNDICE G - Ganho de massa (%) para a interação tratamentos x tempos de estocagem em estufa a 60°C. 83
APÊNDICE H - Análises de variância para tocoferóis dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa. 84

1. INTRODUÇÃO

As causas mais frequentes de deterioração de óleos e gorduras são as reações de oxidação de lipídios. Óleos com elevados teores de ácidos graxos poli-insaturados, como é o caso dos óleos vegetais, uma vez oxidados, causam efeitos maléficos tanto ao alimento quanto à saúde, podendo sofrer alterações no valor nutricional e no *flavor* original com o surgimento de odor e gosto característicos de ranço, além de propiciar a destruição de vitaminas essenciais e irritação da mucosa intestinal (CHAIYASIT *et al.*, 2007, BARON; PAZINATTO; BARON, 2020).

A oxidação pode ser inibida de diferentes maneiras, incluindo a prevenção do acesso de oxigênio ou redução de sua pressão, uso de baixas temperaturas, inativação de enzimas que catalisam a reação de oxidação e utilização de embalagens adequadas. Outra forma de proteção é o uso de antioxidantes, aditivos específicos capazes de inibir a oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006; FELLENBERG *et al*., 2020).

Os antioxidantes sintéticos são substâncias que têm seu uso aprovado em alimentos e assim, estão sujeitos às legislações e normas de cada país (TAKEMOTO; TEIXEIRA FILHO; GODOY, 2009). No entanto, seu uso tem sido questionado quanto aos efeitos toxicológicos e pode apresentar restrições de uso devido à problemas de solubilidade e contribuição com sabores estranhos (POKORNY, 2007; BASANTA *et al*., 2018).

Existem diversas pesquisas sobre o uso de antioxidantes na indústria de alimentos, principalmente visando a substituição dos antioxidantes sintéticos por naturais, utilizando derivados de plantas como extratos e óleos essenciais (ROHOD; GARCIA; LARA, 2023).

Os antioxidantes naturais têm ganhado atenção devido à tendência mundial de evitar ou minimizar o uso de aditivos alimentares artificiais. Além de terem importante função na indústria alimentícia, os antioxidantes naturais também têm benefícios para a saúde como inibidores de oxidação biologicamente prejudiciais no corpo. Uma melhor compreensão das propriedades dos antioxidantes naturais pode levar ao desenvolvimento de aditivos alimentares que podem prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos, ao mesmo tempo que proporcionam benefícios para a saúde. As vantagens do uso desses componentes, podem superar, então, as limitações em eficácia, preço, sabores e cores associados (CHAIYASIT *et al.*, 2007).

O louro, além de ser um condimento muito utilizado na culinária, tem efeito antioxidante devido à sua composição rica em compostos fenólicos. Essa especiaria tem sido alvo de investigação, nomeadamente, na caraterização química e quantificação de metabólitos secundários relacionados com diversas atividades biológicas, tais como antioxidante, antimicrobiano, analgésico, anti-inflamatório, antifúngico e antiviral (EMAM *et al.*, 2010; OUCHIKH *et al.*, 2011; ALBAYRAK; AKSOY; SAGDIC, 2012).

Estudos também têm demonstrado que o louro pode ser usado no tratamento de diabetes, bem como em doenças cardiovasculares (TAROQ *et al.*, 2018), no entanto, a atividade antioxidante é a que desperta mais atenção por parte da comunidade científica devido aos benefícios na saúde pública, contribuindo para a prevenção de doenças crônicas, como o cancro, as doenças cardiovasculares e neurológicas, e as disfunções provocadas pelo estresse oxidativo (OUCHIKH *et al.*, 2011; INAN; ÖZCAN; JUHAIMI, 2012; RAMOS *et al.*, 2012).

Uma das formas de se avaliar o efeito antioxidante de compostos naturais, é através da aplicação direta em óleos e gorduras e submissão a condições controladas de temperatura.

O óleo de girassol é um dos óleos vegetais mais susceptíveis à oxidação lipídica devido ao alto teor de ácido linoléico e, com isso, a presença de antioxidantes é um fator determinante para a qualidade oxidativa ao longo dos dias, principalmente com a crescente utilização das embalagens PET (polietileno tereflalato). Dessa forma, manter as características físico-químicas dos óleos vegetais e o grau de riqueza da insaturação dos ácidos graxos, é de grande interesse da produção industrial nacional e internacional (MASUCHI *et al*., 2008; CASTRO *et al.*, 2021).

Quando comparado à soja, a semente de girassol ainda é pouco cultivada no Brasil, porém, a alta qualidade e importantes características, como maior tolerância à seca, ao frio e ao calor, o girassol tem se tornado uma alternativa econômica de cultivares (OLIVEIRA; VIEIRA, 2004).

Sendo assim, o presente trabalho apresenta um estudo sobre o efeito dos compostos antioxidantes extraídos da folha de louro aplicados em óleo de girassol, sob estocagem acelerada em estufa.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito antioxidante de extratos de folhas de louro em óleo de girassol sob estocagem acelerada em estufa.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar o efeito antioxidante dos extratos por meio dos teores de compostos fenólicos totais e dos sistemas DPPH$^{\bullet}$, FRAP e ABTS$^{\bullet+}$.
- Avaliar a eficiência dos extratos de louro em reduzir a oxidação lipídica do óleo de girassol submetido à estocagem acelerada em estufa por meio das análises de dienos conjugados, peróxidos, *p*-anisidina, Totox, estabilidade oxidativa e ganho de massa.
- Analisar a resistência dos tocoferóis naturalmente presentes nos óleos de girassol sob estocagem acelerada em estufa.
- Avaliar o sinergismo entre os extratos de louro e antioxidante TBHQ aplicados no óleo de girassol sob estocagem acelerada em estufa.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Oxidação de lipídios

A oxidação lipídica é um processo de degradação que ocorre quando o oxigênio atmosférico ou aquele que está dissolvido no óleo reage com ácidos graxos insaturados presentes induzindo a peroxidação (CONFORTI *et al.,* 2006; RAMALHO; JORGE, 2006). Sendo assim, compostos insaturados são significativamente mais susceptíveis à oxidação que os compostos saturados e essa tendência cresce à medida que aumenta o grau de insaturação (KUMAR, 2017).

Esse processo é conhecido por gerar aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, ésteres, furanos e lactonas, que podem ser responsáveis pelos sabores de ranço e outros defeitos sensoriais (LEE; AHN, 2003; DERGAL, 2006), tornando assim, muitas vezes, indesejável para a indústria de alimentos, impactando diretamente na qualidade dos produtos. Os ácidos graxos insaturados, embora não contribuam diretamente para o aroma dos alimentos, se decompõem durante esse processo para formar moléculas pequenas e voláteis que produzem os aromas estranhos associados ao ranço oxidativo (CHAIYASIT *et al*., 2007).

O processo de oxidação lipídica é autocatalítico e, uma vez iniciado, tem efeito autoacelerador, no entanto, alguns fatores, como presença de íons de metais pesados, podem agir como pró-oxidantes e acelerar ainda mais a reação (SCHAICH *et al.*, 2013).

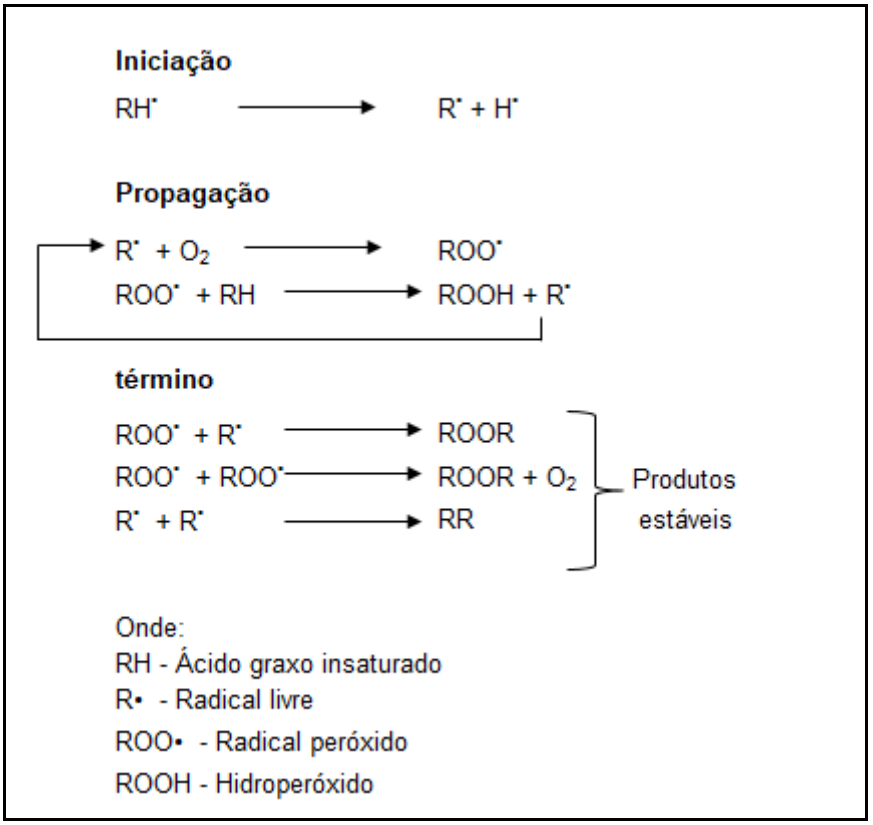
A autoxidação é a uma das transformações mais comuns em alimentos, e consiste principalmente na oxidação de ácidos graxos com duplas ligações, mas pode ocorrer com outras substâncias de interesse biológico, como a vitamina A (DERGAL, 2006).

A auto-oxidação produz hidroperóxidos e passa por três etapas principais: iniciação, propagação e terminação, como apresentado na Figura 1. Uma vez que os hidroperóxidos tenham sido formados, podem se decompor em aldeídos e cetonas, sendo principalmente esses produtos de degradação que têm os sabores e aromas associados à rancidez oxidativa (CHOE; MIN, 2006; SCHAICH *et al.*, 2013).

Na etapa de iniciação, um radical de ácido graxo conhecido como radical livre (alquila) é formado pela abstração de um hidrogênio de um ácido graxo na presença de um iniciador. Uma vez formado, esse radical livre pode se deslocar sobre o

sistema de ligação dupla, resultando em deslocamento da ligação (CHAIYASIT *et al*., 2007).

Figura 1- Esquema geral do mecanismo de oxidação lipídica.



Fonte: Adaptado de Chaiyasit *et al*. (2007).

Um radical livre é qualquer espécie com existência independente que contém um ou mais elétrons desemparelhados tornando-a altamente instáveis e reativas. A formação desses radicais decorre da ruptura da ligação covalente, em que cada elétron partilhado fica no seu átomo (cisão homolítica) (GÜLÇIN, 2012).

Os radicais livres formados podem reagir com outras moléculas, partilhando os seus elétrons desemparelhados, formando uma ligação covalente, podendo assim, doar um elétron desemparelhado a outra molécula, retirarando um elétron de outra molécula para formar um par de elétrons (radical ionizante) ou pode, ainda, combinar-se com espécies não radicalares. Em qualquer um dos casos, essa molécula torna-se um radical livre, prosseguindo a reação em cadeia (GÜLÇIN, 2012).

Na propagação, há a formação de peróxidos e nessa etapa, ocorre a conversão dos radicais livres susceptíveis ao ataque do oxigênio a outros radicais

(peróxidos e hidroperóxidos), que são produtos primários da oxidação lipídica e cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes (DERGAL, 2006; TIVERON, 2010).

No término, há interação de dois radicais livres para formar espécies não radicais, encerrando o processo. Nesta etapa, o alimento já estará rançoso antes mesmo de ocorrer reações de terminações significativas (CHAIYASIT *et al*., 2007).

O ranço nos alimentos ocorre quando os ácidos graxos insaturados se decompõem em compostos voláteis. Esses produtos de oxidação voláteis são produzidos a partir da decomposição de hidroperóxidos de ácidos graxos (CHAIYASIT *et al*., 2007). Óleos e gorduras que tenham sofrido oxidação, apresentam então alteração de cor, viscosidade, sabor e aroma, além de formação de espuma, tornando o produto inaceitável (RAMALHO; JORGE, 2006).

Sendo assim, é importante inativar os radicais livres, pois os danos causados por eles podem afetar muitas moléculas biológicas, incluindo os lipídios, as proteínas, os carboidratos e as vitaminas presentes nos alimentos (BIANCHI; ANTUNES, 1999), reduzindo o prazo de validade, causando deterioração nos alimentos, comprometendo assim a segurança e qualidade alimentar. A aplicação de antioxidantes, em termos técnicos, é um dos caminhos mais simples para reduzir a oxidação de gorduras (BARDEN; DECKER, 2016).

Os produtos primários são compostos produzidos nas etapas de iniciação e propagação e, por se tratarem dos primeiros produtos formados no processo de oxidação lipidica, eles podem aparecer precocemente. Esses produtos podem ser formados a partir de um único ácido graxo. Além disso, esses compostos de decomposição constumam conter ligações duplas e podem sofrer abstração posterior de hidrogênio ou ataque por oxigênio singlete, o que resultará na formação de produtos de degradação adicionais (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

Os produtos secundários são compostos que surgem da decomposição de hidroperóxidos de ácidos graxos por reações de *β*-clivagem. Essas reações podem gerar centenas de compostos distintos, tanto voláteis como não-voláteis, a partir da oxidação. A formação de produtos secundários deriva da decomposição de hidroperóxidos lipídicos, em alguns casos, as concentrações de produtos primários podem ser baixas, enquanto as concentrações de produtos secundários são elevadas. A avaliação de muitos produtos da decomposição de ácidos graxos, os quais são responsáveis diretos por odores e sabores indesejáveis em óleos

rançosos, têm elevada correlação com a análise sensorial (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

3.2. Avaliação físico-química dos óleos vegetais

A avaliação do estado de oxidação lipídica, é um meio de controlar e garantir a qualidade das matérias-primas e produtos adquiridos. Os métodos baseiam-se na medição de produtos primários e secundários da oxidação, variável em função das condições aplicadas e dos substratos lipídicos utilizados (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999; TENA *et al*., 2019).

O teor de ácidos graxos livres é definido como o número de miligrama de hidróxido de potássio necessário para neutralizar um grama da amostra. Está relacionado com a qualidade inicial da matéria-prima, do processamento e das condições em que o óleo é armazenado, uma vez que a decomposição dos glicerídeos é acelerada pelo aquecimento e pela luz. A partir da quantidade de ácidos graxos livres, é possível calcular a acidez multiplicando o valor de AGL em oléico por 1,99, sendo o resultado expresso em mg KOH/g (AOCS, 2009, FARHOOSH; EINAFSHAR; SHARAYEI, 2009).

Na etapa de iniciação, as duplas ligações conjugadas são formadas rapidamente em ácidos graxos poli-insaturados após a abstração do hidrogênio. Dienos conjugados tem o máximo de aborção de 234 nm, com coeficiente de extinção molar de 2,5 x 10^4 M^{-1} cm^{-1}, sendo esse, um coeficiente que permite nível intermediário de sensibilidade, em comparação a outras técnicas (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

A medição de hidroperóxidos de ácidos graxos é um método comum para a medição da qualidade oxidativa de óleos e gorduras. Esses métodos baseiam-se na capacidade de hidroperóxidos de oxidar compostos indicadores. Os valores de peróxidos são expressos em miliequivalentes (meq) de oxigênio por kg de óleo, sendo que 1 meq é igual a 2 mmol de hidroperóxido (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

O índice de *p*-anisidna fundamenta-se na reação de produtos secundários da degradação de lipídios, sobretudo aldeídos, com a *p*-anisidina, formando um produto amarelo, sendo determinado espectofotometricamente a 350 nm de absorbância. O valor de *p*-anisidina correponde ao valor resultante de 100 vezes a absorbância

detectada em solução de 1 grama de óleo em mistura de solvente e reagente, em cubeta de 1 cm (AOCS, 2009; DIJKSTRA, 2016).

Totox apresenta a medida da oxidação total, a partir dos valores de *p*-anisidina e peróxidos, ou seja, demonstra a formação de produtos primários e secundários da oxidação (PINHEIRO; JORGE, 2021).

O índice de saponificação está relacionado à quantidade relativa de ácidos graxos de alto e baixo peso molecular, sendo inversamente proporcional ao peso molecular médio dos ácidos graxos presentes nos acilgliceróis, ou seja, quanto menor o peso molecular do ácido graxo, maior será o índice de saponificação. Essa medida é útil para identificar adulterações por outros óleos ou gorduras contendo ácidos graxos com peso molecular diferente daqueles presentes no óleo. O índice de saponificação é referido como a quantidade em miligramas de hidróxido de potássio necessária para saponificar um grama de amostra (MORETTO *et al*., 2002; GUNSTONE, 2011).

O índice de iodo determina o grau de insaturação dos ácidos graxos. É baseado no fato de que o iodo, assim como outros halogênios, se adiciona às duplas ligações presentes nas cadeias insaturadas dos ácidos graxos. Portanto, quanto mais insaturados estiverem os ácidos graxos nos óleos ou gorduras, maior será o índice de iodo. O índice de iodo é definido como a quantidade em gramas de iodo absorvido por 100 g de gordura ou óleo (MORETTO *et al.,* 2002).

O índice de refração constitui um dos mais importantes parâmetros ópticos de uma substância através da relação entre a velocidade da luz no vácuo e a velocidade da luz da substânca testada, apresentando assim uma visão sobre a pureza e a reprodutibilidade do material, sendo que o índice de refração aumenta com o comprimento da cadeia hidrocarbonada e com o grau de insaturação dos ácidos graxos (MORETTO *et al*., 2002; SANTOS, 2012).

3.3. Antioxidantes

Antioxidantes são substâncias que, em concentrações menores que a do substrato oxidável, inibem significativamente a oxidação adiando seu início ou reduzindo sua taxa (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999; MOURE *et al.*, 2001). Essas substâncias fazem parte do sistema de defesa dos organismos vivos, com ação intracelular e extracelular, em meio hidrofílico e hidrofóbico, sendo produzidas

pelo organismo ou obtidas da dieta. Podem estar presentes no alimento, ou serem adicionados para aumentar a vida útil (ANDREO; JORGE, 2007; PODSEDEK, 2007; TIVERON, 2010).

Para ser empregado em alimentos, além de ser efetivo em baixa concentração, o antioxidante deve atender aos seguintes requisitos: ser compatível com o substrato, não conferir odor ou sabor estranho ao produto, ser efetivo durante o período de estocagem do produto alimentício, ser estável ao processo de aquecimento e ser facilmente incorporado ao alimento (MELO; GUERRA, 2002).

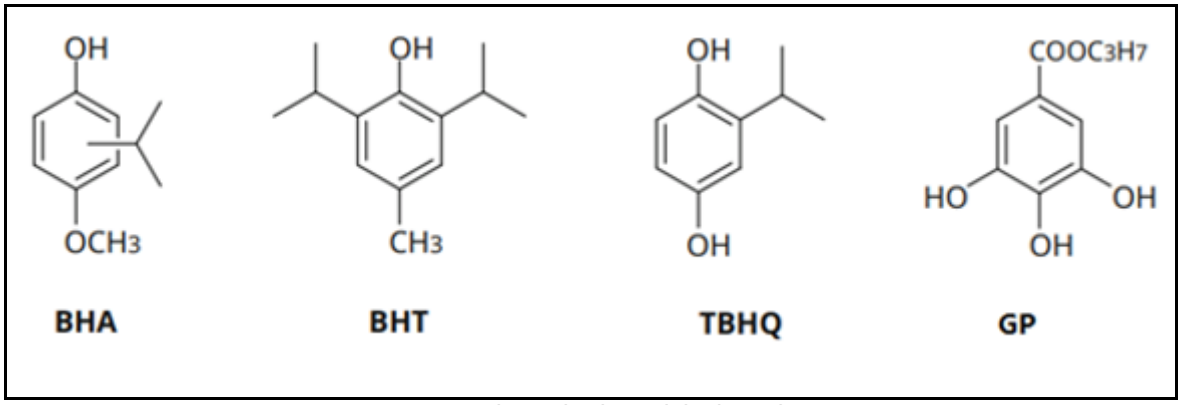
Os radicais livres formados durante as etapas de propagação e ramificação da cadeia da autoxidação, são eliminados por antioxidantes, que por sua vez formam radicais que são estabilizados por um sistema de ressonância molecular (BELITZ; GROSH; SCHIEBERLE, 2009).

Os antioxidantes podem ser classificados de acordo com seu mecanismo de ação como primários ou secundários e alguns antioxidantes podem apresentar funções múltiplas (BAILEY, 1996).

Dentre os primários, estão os sintéticos butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidrozi-tolueno (BHT), o terc-butil-hidroquinona (TBHQ), o galato de propila (GP) (Figura 2) e os tocoferóis que são naturais (BERGER; HAMILTON, 1995; BAILEY, 1996). Estes não detêm a formação dos radicais que são gerados na oxidação, mas os estabilizam e produzem radicais do antioxidante que são incapazes de iniciar ou propagar as reações oxidativas (DERGAL, 2006). São, então, compostos fenólicos que através da doação de átomos de hidrogênio a um radical livre, tem o poder de regenerar a molécula do aglicerol e interromper o mecanismo de oxidação por radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis (CHOE; MIN, 2006; FREIRE; MANCINI-FILHO; FERREIRA, 2013). Para que um antioxidante primário seja eficaz, deve inativar os radicais livres existentes antes que possam atacar os ácidos graxos insaturados (CHAIYSASIT *et al*., 2007).

Os antioxidantes secundários ou preventivos, retardam a reação de autoxidação por diferentes mecanismos, mas não convertem os radicais em produtos mais estáveis (CHAIYASIT *et al*., 2007). Esses mecanismos incluem: complexação com metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical, absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio singlete (GORDON, 1990).

Figura 2 - Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos.



Fonte: Adaptado de Gülçin (2012).

Dentre os secundários, estão os sinergistas, que possuem pouca ou nenhuma atividade antioxidante, mas quando usados em combinação, podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários (BERGER; HAMILTON, 1995), os removedores, como ácido ascórbico, que capturam o oxigênio do meio deixando-os indisponíveis para atuarem na propagação da oxidação (BAILEY, 1996; BELITZ; GROSH; SCHIEBERLE, 2009), os biológicos (enzimas) que são capazes de remover o oxigênio ou compostos altamente reativos de um sistema alimentício (BAILEY, 1996) e os sequestradores ou quelantes (ácidos fosfórico, cítrico, tartárico e ascórbico), que comumente são utilizados de maneira conjunta com os antioxidantes doadores de prótons, com um efeito sinergista entre eles (DERGAL, 2006) e atuam complexando íons metálicos que catalisam a oxidação lipídica. Um par de elétrons não compartilhado na sua estrutura molecular promove a ação de complexação (BAILEY, 1996).

O uso de antioxidantes é amplamente empregado na indústria de alimentos, principalmente com a função de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos (TIVERON, 2010). Devem ser aplicados de forma preventiva, já que não têm efeito em ácidos graxos oxidados (DERGAL, 2006).

Dentre os antioxidantes sintéticos, o BHA, é uma mistura de isômeros (2-BHA e 3-BHA) na proporção 9:1, e é mais efetivo na inibição da oxidação em gorduras animais que em óleos vegetais (BARDEN; DECKER, 2016). Em temperaturas elevadas, esse antioxidante apresenta pouca estabilidade, sendo efetivo no controle de oxidação de ácidos graxos de cadeia curta. É insolúvel em água e pode ser utilizado sinergicamente com o BHT e o GP (SILVA *et al.*, 2019).

O BHT é um antioxidante monofenólico e é similar ao BHA em termos de propriedades. Apresenta boa solubilidade em gorduras animais e óleos vegetais, mas pode conferir odor aos alimentos quando usado em altas temperaturas por longo período (RAMALHO; JORGE, 2006; SILVA *et al.*, 2019). Tanto o BHA quanto o BHT são bastante estáveis ao calor e podem ser usados para estabilizar gorduras em produtos assados e fritos (GÜLÇIN, 2012).

O GP é um antioxidante trifenólico, com baixa estabilidade térmica, eficiente em óleos mais saturados (BREWER, 2011). A desvantagem dos galatos está relacionada com a tendência de formar partes escuras com os íons de ferro, além da sensibilidade ao calor (GÜLÇIN, 2012). É usado para evitar a rancidez nos produtos à base de carne, sendo bastante efetivo na estabilização de óleos e gorduras. Atua com o TBHQ e BHA de forma sinérgica. Relativamente solúvel em água e pouca resistência ao aquecimento (SILVA *et al.*, 2019).

O TBHQ não se complexa com íons de cobre e ferro e é considerado, em geral, mais eficaz que BHA e BHT em óleos vegetais. Tem aspecto pó cristalino branco e brilhoso, moderadamente solúvel em óleos e gorduras (FREIRE; MANCINI-FILHO; FERREIRA, 2013).

Os antioxidantes sintéticos estão em constantes testes de comportamento toxicológicos e alguns estudos indicam cautela em seu uso (GÜLÇIN, 2012). No Canadá e na Comunidade Econômica Européia, por exemplo, não é permitido o uso do TBHQ (RAMALHO; JORGE, 2006). No Brasil, a legislação limita a 200 mg/kg para BHA e TBHQ, e 100 mg/kg para BHT e GP como concentrações máximas permitias sob o teor de gordura para óleos e gorduras (BRASIL, 2005).

A volatilidade e facilidade de decomposição em altas temperaturas, bem como os riscos associados ao consumo crônico, são as principais desvantagens dos compostos sintéticos (SILVA *et al*., 2019). Nesse contexto, cada vez mais, produtos naturais vêm ganhando a preferência dos consumidores e muitos fabricantes se esforçam para que os produtos contenham no rótulo apenas “palavras que você pode pronunciar” ou “ingredientes encontrados na cozinha” (BARDEN; DECKER, 2016). O interesse é motivado também pela necessidade de encontrar novas substâncias de origem natural com eficácia comprovada nos campos de aplicação descritos e baixa toxicidade (CONFORTI *et al.*, 2006).

Mitterer-Daltoé *et al.* (2021) realizaram um estudo com 96 pessoas, entre homens e mulheres, da avaliação cognitiva de antioxidantes alimentares por meio da

técnica de associação de palavras sob dois estímulos: “Antioxidantes Alimentares” e “Antioxidantes Alimentares Naturais”, e concluíram claramente a percepção negativa para o estímulo “Antioxidante Alimentar” e positiva para o estímulo “Antioxidante Alimentar Natural”. A pesquisa mostrou que a percepção positiva de benefícios à saúde de um determinado alimento influencia o comportamento de compra e que há um potencial uso de antioxidantes naturais para a indústria alimentícia.

Os antioxidantes naturais podem ser encontrados e isolados em uma variedade de alimentos. Dentre as fontes naturais podem ser citados os cereais (OKARTER *et al.*, 2010), os cogumelos (HELENO *et al.*, 2010), as ervas e especiarias (BANDYOPADHYAY; CHAKRABORTY; RAYCHAUDHURI, 2008), os frutos e os vegetais (FALLER; FIALHO, 2009; WIJNGAAR; RÖßLE; BRUNTON, 2009).

Silva *et al.* (2022) promoveram o mapeamento dos estudos relacionados à produção de antioxidantes naturais para a indústria alimentícia, com buscas em bancos de patentes e artigos científicos e identificaram um significativo número de pesquisas utilizando como matéria-prima diversas espécies de plantas, principalmente frutas, ervas e vegetais, com destaque a alta capacidade antioxidante. Concluiram que é notório o crescimento na busca por substitutos naturais aos antioxidantes sintéticos, porém, mesmo com a grande quantidade de pesquisas, destacaram a importância de mais estudos em relação à aplicação desses antioxidantes em diversos tipos de alimentos, como também benefícios da aplicação em larga escala para o setor industrial.

Os antioxidantes naturais, denominados substâncias bioativas, incluem organosulfurados, fenólicos (tocoferóis, flavonoides e ácidos fenólicos), terpenos, carotenoides e ácido ascórbico que fazem parte da constituição de diversos alimentos (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Extratos de especiarias como orégano, alecrim, coentro, tomilho, manjericão, dentre outros, devido à presença de compostos fenólicos em sua composição, têm potencial ação antioxidante além de serem inibidores de microrganismos de origem alimentar (ROHOD; GARCIA; LARA, 2023).

Os compostos antioxidantes de ervas e especiarias podem ser extraídos e concentrados como extratos, óleos essenciais ou resinas (BREWER, 2011). Diversos métodos podem ser citados como, por exemplo, a extração utilizando solventes líquidos de diferentes polaridades (como acetona, água, etanol, éter e

metanol) e a extração supercrítica com o dióxido de carbono CO_2 (PINELO *et al*., 2007).

Os antioxidantes fenólicos, conforme mencionado anteriormente, podem extinguir os radicais livres derivados do oxigênio, bem como os radicais livres derivados do substrato, doando um átomo de hidrogênio ou um elétron ao radical livre, sendo capazes de neutralizá-los (CONFORTI *et al.*, 2006).

Dentre as espécies vegetais naturais com poder antioxidante, têm-se o louro (*Laurus nobilis*), que, além de ser um condimento muito usado na culinária, é rico em compostos bioativos e fenólicos, já comprovados em estudos, o que confere a ele um importante papel antioxidante (BALLEN *et al.,* 2019).

3.4. Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante dos extratos de plantas depende amplamente das composições dos extratos e das condições do sistema de teste, sendo então influenciada por muitos fatores que não podem ser totalmente descritos por um único método e, por esse motivo, faz-se necessária a realização de mais de um tipo de medição da capacidade antioxidante (LI *et al.*, 2007).

O teste DPPH$^{\bullet}$ (1,1-difenil-2-picrilhidrazila) é um dos métodos colorimétricos padrões para avaliação de propriedades antioxidantes e é frequentemente utilizado para avaliação do potencial de captura de radicais livres de uma molécula antioxidante (KUSKOSKI *et al*., 2005). Esse método é baseado no princípio que o DPPH$^{\bullet}$ aceita um átomo de hidrogênio da molécula antioxidante, resultando na redução do DPPH$^{\bullet}$ a DPPH$^{\bullet}{}_2$, quando a coloração roxa muda para amarelo com um decréscimo na absorbância em 515 nm. A mudança na coloração é monitorada espectrofotometricamente e é utilizada para a determinação de parâmetros para propriedades antioxidantes (CHENG; JEFFREY; LIANGLI, 2006).

O FRAP é um método que pode avaliar o potencial antioxidante de um extrato através da avaliação da capacidade de doar elétrons (MASOOD *et al*., 2021). É um método versátil de avaliação de atividade antioxidante, e pode ser facilmente aplicado a extratos aquosos e alcóolicos de plantas. Baseia-se na capacidade de reduzir o íon ferroso. É considerado um ensaio simples que gera resultados rápidos e reproduzíveis (LI *et al.,* 2007).

O método ABTS$^{\bullet+}$ (2,2-azinobis (3-etilbenzoatiazolina-6-ácido sulfônico)) é um método comumente utilizado que realmente mede a capacidade de um composto eliminar o radical ABTS$^{\bullet+}$. É um método indicado para uso em extratos de plantas porque o máximo de comprimento de onda longo (734 nm) elimina a interferência de cor (LI *et al.*, 2007). Com esse método, é possível medir a atividade antioxidante de compostos tanto de natureza hidrofílica quanto lipofílica (KUSKOSKI *et al.*, 2005).

3.5. Compostos bioativos

Por serem sésseis, as plantas estão em constante exposição a estresses ambientais resultando na geração de espécies reativas de oxigênio (ERO). Essas espécies de oxigênio ativado tendem a oxidar várias biomoléculas celulares, como proteínas, ácidos nucléicos e lipídios, o que acaba desafiando a existência central da célula. Com o intuito de prevenir o acúmulo dessas espécies e para sua própria sobrevivência, as plantas desenvolveram um complexo sistema de defesa antioxidante que compreende várias moléculas enzimáticas e não enzimáticas, as quais, grande parte, pertencem à categoria de compostos orgânicos que não são diretamente envolvidos no crescimento e desenvolvimento das plantas, mas desempenham funções especializadas sob um determinado conjunto de condições, chamados metabólitos secundários (BARTWAL *et al.*, 2013).

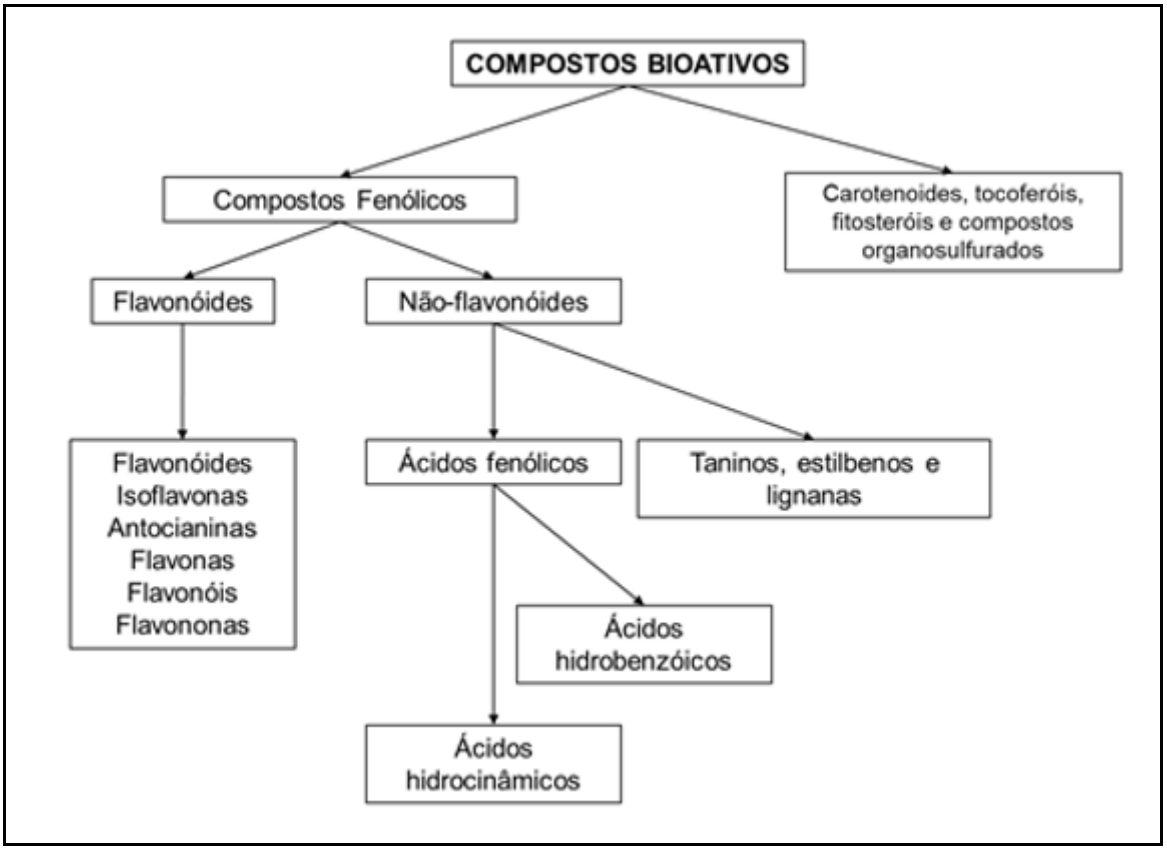
A produção de metabólitos primários e secundários é uma propriedade característica dos organismos vivos que pode ser utilizada para fins farmacológicos e tecnológicos (SHIRAHIGUE; CECCATO-ANTONINI, 2020).

Os metabólitos secundários são encontrados em diferentes partes das plantas, incluindo raízes, flores, cascas, sementes e frutos (PAPARELLA *et al*., 2022) e podem formar três grupos primordiais: compostos fenólicos, terpenos e compostos azotados como os alcaloides (PEREIRA, 2014), sendo os compostos fenólicos mais amplamente distribuídos na natureza e os mais abundantes relatados em plantas (SHIRAHIGUE; CECCATO-ANTONINI, 2020).

Para melhor compreensão dos compostos naturais existentes nas plantas, a Figura 3 apresenta as principais classes de compostos bioativos. Em destaque, a função dos compostos fenólicos está envolvida com a síntese das ligninas, que são comuns a todas as plantas com atrativos aos seres humanos devido ao odor, sabor e coloração agradáveis. Esses compostos têm importante papel na proteção das

plantas contra os raios ultravioleta, insetos, fungos, vírus e bactérias (FUMAGALI *et al.*, 2008).

Figura 3 - Principais classes de compostos bioativos existentes nas plantas.



Fonte: Adaptado de Shirahigue e Ceccato-Antonini (2020).

Os compostos antioxidantes de ervas e especiarias podem ser extraídos e concentrados como extratos, óleos essenciais ou resinas (BREWER, 2011).

A extração realizada com solventes é comumente utilizada para melhor conservar os compostos antioxidantes que são sensíveis a ação da luz, temperatura e oxigênio, as matérias-primas em geral devem ser desidratadas, liofilizadas ou congeladas e moídas ou peneiradas, para maior superfície de contato dos substratos com o solvente de extração (ROMANI; MARTINS; SOARES, 2017). Para a recuperação de compostos antioxidantes de ervas e especiarias, sob o ponto de vista toxicológico, etanol e água são solventes mais seguros que acetona, metanol e outros solventes orgânicos, portanto mais adequados para indústria alimentícia (OKTAY; GÜLÇIN; KÜFREVIOĞLU, 2003).

Chipault *et al*. (1952) realizaram um estudo de extração com etanol e éter de petróleo de 32 especiarias, e, na maior parte dos resultados, os extratos etanólicos

apresentaram maior atividade antioxidante.

Na extração supercrítica com o dióxido de carbono (CO_2), têm-se uma alta pureza dos extratos e grande eficiência do processo, o inconveniente reside na alta pressão utilizada para a operação, exigindo equipamentos com elevado custo (ROMANI; MARTINS; SOARES, 2017).

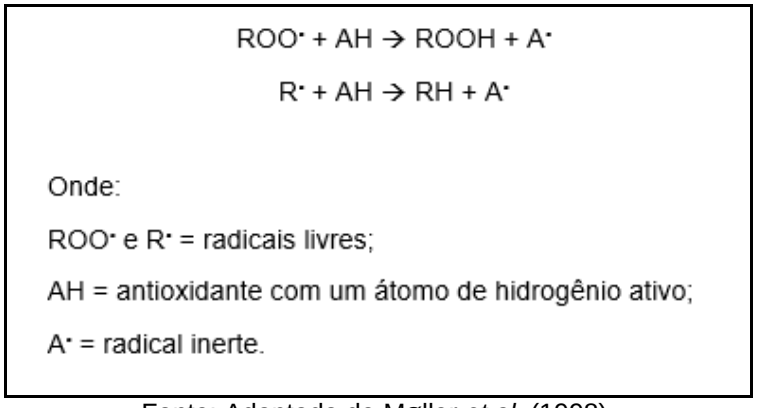
3.5.1. Compostos fenólicos

As plantas contêm diversos compostos como fenólicos simples, ácidos fenólicos, antocianinas, derivados do ácido cinâmico e flavonoides e fatores como posição e grau de hidroxilação, polaridade, solubilidade, potencial de redução, estabilidade do fenólico influenciam na atividade dos sequestrantes de radicais livres de fenólicos (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

Nos alimentos, os compostos fenólicos têm a função de conferir algumas propriedades quanto à prevenção de alterações indesejáveis de cor, aroma e atividade antioxidante. Biologicamente, é responsável pela atividade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e outros (UEDA, 2020).

A atividade antioxidante está intimamente relacionada ao conteúdo de compostos fenólicos, com papel fundamental como eliminadores de radicais livres formados durante a inibição ou propagação da reação oxidativa, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, inativando-as (MØLLER *et al.*, 1998; RAMALHO; JORGE, 2006), conforme mecanismo de ação demonstrado na Figura 4.

Figura 4 - Mecanismo de ação dos compostos fenólicos.



Fonte: Adaptado de Møller *et al.* (1998).

Estudos apontam que a capacidade de captura de radicais livres entre diferentes classes de compostos químicos indica que compostos fenólicos apresentam, *in vitro*, atividade antioxidante muito superior a compostos não fenólicos (BALLEN *et al.*, 2019).

Os compostos fenólicos são metabólicos secundários que são derivados das vias de fosfato de pentose, chiquimato e fenilpropanóide nas plantas. (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

Esses ácidos têm desde moléculas simples (como ácido gálico e ácido caféico) até outras com alto grau de polimerização (como as procianidinas) e estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídios) e proteínas (SOARES, 2002; UEDA, 2020). De forma geral, a denominação de ácidos fenólicos engloba os ácidos hirdoxibenzóicos com sete átomos de carbono (C6–C1) (Figura 5) e os ácidos hidroxicianâmicos com nove átomos de carbono (C6–C3) (Figura 6) (SOARES, 2002).

A estrutura básica dos compostos fenólicos é um anel aromático com um grupo hidroxila ligado a um dos carbonos do anel e, conforme o número de anéis fenólicos e os agrupamentos ligados a esses anéis, os compostos fenólicos são classificados em: ácidos fenólicos, flavonoides, estibenos e lignanas (SHIMANO, 2012).

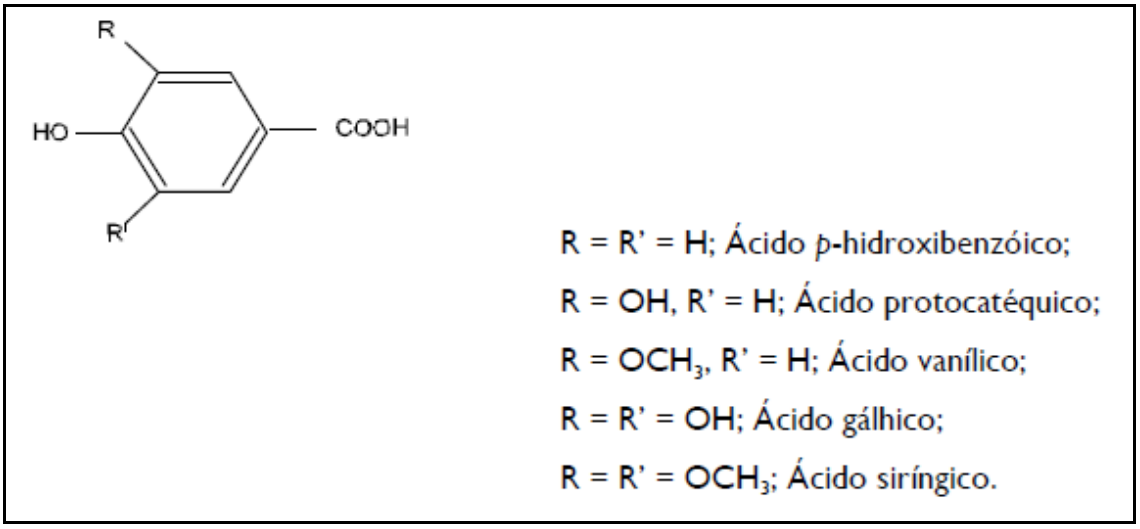
Os ácidos hidroxicinânimos mais comuns são os ácidos cafeico, p-cumárico e ferúlico, enquanto o ácido benzóico mais comum é o ácido gálico. Os taninos são polifenóis solúveis em água comumente apresentados como taninos hidrolisáveis ou taninos condensados (SHIRAHIGUE; CECCATO-ANTONINI, 2020).

Estudos com extratos de especiarias como orégano, alecrim e manjericão comprovaram que esses aditivos naturais possuem efeitos antioxidantes devido à presença de compostos como ácido carnósico e carnosol no extrato de alecrim, timol e carvacrol em orégano e linalol, timol e carvacrol em manjericão (ROHOD; GARCIA; LARA, 2023).

De acordo com Alejo-Armijo, Altarejos e Salido (2017), as folhas de louro foram investigadas por HPLC (*High performance liquid chromatography*) ou HPLC-MS (*high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry*), e nessas análises, foram detectados os seguintes compostos fenólicos: 2-(4-hidróxi-3-metóxifenil)-etil-O-β-D-glucopiranosídeo, ácido 2-hidroxicinâmico; ácido hexosídeo 3,4-hididroxibenzóico, ácido 3,4-dihidroxibenzóico, ácido caféico, ácido caféico *o*-

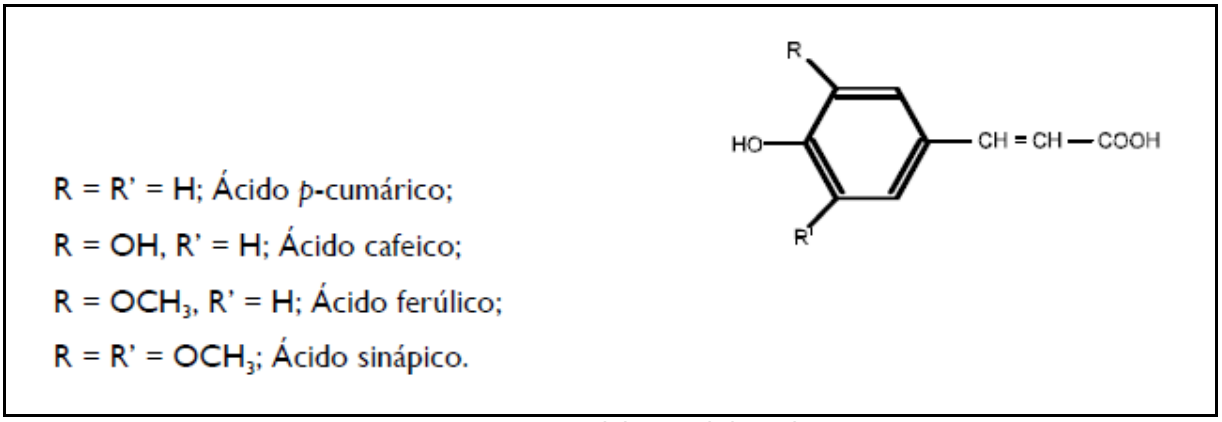
hexosídeo, ácido cumárico, ácido cumárico-*o*-hexosídeo, ácido cumárico-*o*-hesosídeo, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido homovanílico, ácido homovanílico-*o*-hexosídeo, ácido *m*-hidroxibenzóico, ácido *p*-hidroxibenzóico, ácido protocatecuico, ácido seringico, ácido vanílico, ácido vanílico-*o*-hezosídeo.

Figura 5 - Estrutura dos ácidos hidroxibenzóicos.



Fonte: Vinha *et al.* (2012).

Figura 6 - Estrutura dos ácidos hidroxicinâmicos.



Fonte: Vinha *et al.* (2012).

As folhas de louro têm elevado teor de compostos fenólicos e são ricas em compostos bioativos como 1,8-cineol, metil eugenol, *D*-limoneno e 3-careno e, com isso, apresentam propriedades antioxidante, antifúngica, anti-inflamatória e analgésica (BALLEN *et al.*, 2019; PINHEIRO; JORGE, 2021).

Morais *et al*. (2009) analisaram diferentes condimentos e verificaram que o eugenol (4-alil-2-metoxifenol), presente no louro *(Laurus nobilis)* é um composto

fenólico, reconhecido sequestrador de radicais livres, cuja eficácia já foi comprovada tanto *in vitro* como *in vivo.* O óleo de folha de canela tem reconhecido efeito inibitório sobre os radicais hidroxila e o principal componente identificado foi o eugenol, com cerca de 87,2% (BREWER, 2011; ORDOUDI *et al.*, 2022).

O óleo essencial do louro contém hidrocarbonetos monoterpeno (α- e β-pineno, sabineno), hidrocarbonetos monoterpeno oxigenados (1,8-cineol, α-terpinil acetato, linalol, α-terpineol) e compostos aromáticos (eugenol e metileugenol) que podem apresentar propriedades conservantes através de diferentes mecanismos. O efeito inibitório contra bactérias transmitidas por alimentos e fungos estão associados com a presença das duas categorias de hidrocarbonetos (ORDOUDI *et al.*, 2022).

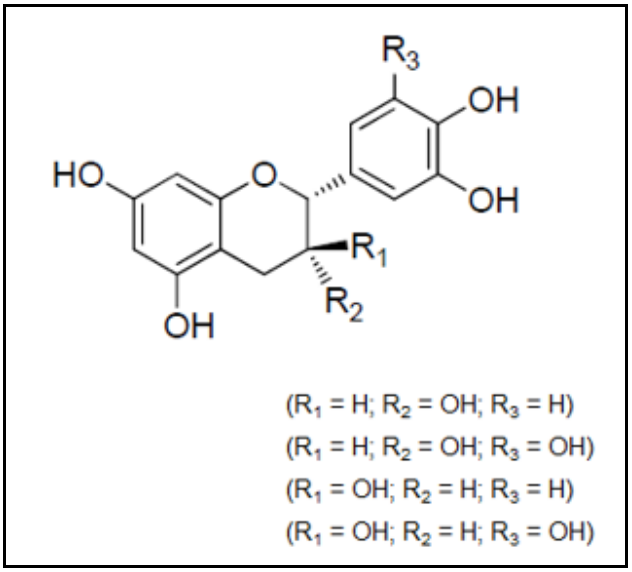
Os polifenóis são os grandes responsáveis pela atividade antioxidante de *Laurus nobilis* e outras propriedades medicinais como o tratamento de distúrbios neurológicos e urológicos, bem como problemas gastroinstestinais (KHODJA *et al.*, 2020; LUCENA; AMÂNCIO; MORAIS, 2020; DOBROSLAVIĆ *et al.*, 2021), porém, é importante ressaltar que elementos genéticos, condições edafoclimáticas, práticas agrícolas, tipos de estresse sofrido pela planta e a forma como são colhidas e conservadas são fatores que podem interferir no metabolismo da planta (PEREIRA, 2014).

Os flavonoides, principalmente flavonas e flavonóis, são os principais constituintes fenólicos dos extratos alcoólicos das folhas de louro, quimicamente baseados em um esqueleto de 15 carbonos que consiste em dois anéis de benzeno A e B, ligados através de um anel pireno heterocíclico (Figura 7). Apigenina, kaempferol, quercetina e seus glicosídeos também são frequentemente encontrados. No grupo flavona é observada principalmente *c*-glicosidação em C-6 ou C-8, enquanto em flavonóis predomina *o*-glicosidação em C3 (ALEJO-ARMIJO; ALTAREJOS; SALIDO, 2017).

3.5.2. Tocoferóis

Tocoferóis são comumente encontrados em plantas e outros alimentos sendo que as principais fontes são os óleos vegetais, germe de trigo, vegetais folhosos verde-escuro, sementes oleaginosas e alimentos de origem animal (GUINAZI *et al*., 2009).

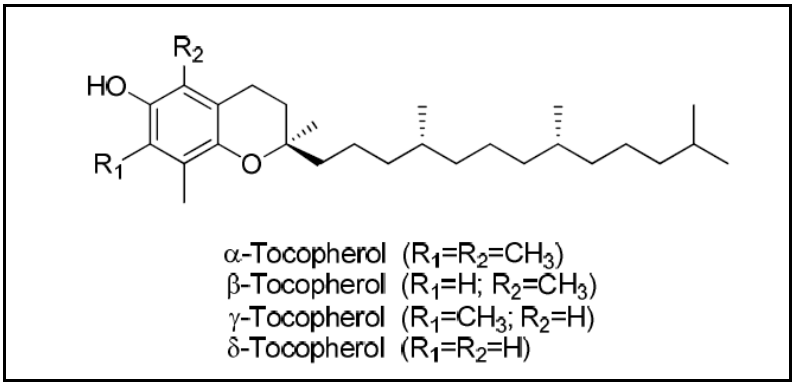
Figura 7 - Estrutura química dos flavonoides.



Fonte: Alejo-Armijo, Altarejos e Salido (2017).

Quatro isômeros de tocoferóis (α-, β-, γ-, δ-) foram detectados em folhas de louro e sementes (Figura 8). Entre eles, α- e γ- tocoferóis são os mais predominantes nas sementes. Tanto nas folhas, quanto nas sementes, δ-tocoferol é o menos abundante (ALEJO-ARMIJO; ALTAREJOS; SALIDO, 2017).

Figura 8 - Tocoferóis detectados nas folhas e sementes de louro.

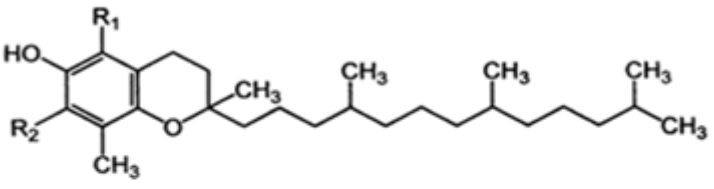


Fonte: Alejo-Armijo, Altarejos e Salido (2017).

Tocoferóis são os principais antioxidante naturais encontrados em óleos vegetais. Também conhecido como vitamina E, os tocoferóis, podem ocorrer em quatro formas diferentes: α-, β-, γ- e δ-tocoferol, sendo os γ- e α- os mais abundantes. Estudos apontam que o óleo de girassol é o mais rico em α-tocoferol, seguido pelo de algodão, palma, canola, amendoim, oliva, milho, soja e coco (GUINAZI *et al.*, 2009), e os óleos de soja e milho contém predominantemente γ-

tocoferol (GRILO *et al*., 2015). A diferença entre os isômeros de tocoferóis, está no número e posição dos grupos metilo do anel aromático (Figura 9).

Figura 9 - Estrutura química dos tocoferóis presentes nos óleos vegetais.



R1	R2	ESTRUTURA
CH_3	CH_3	α-tocoferol
CH_3	H	β-tocoferol
H	CH_3	γ-tocoferol
H	H	δ-tocoferol

Fonte: Adaptado de Burton e Ingold (1986).

A atividade antioxidante dos tocoferóis decorre de sua capacidade de doar o hidrogênio fenólico a um radical livre, eliminando os radicais peroxil da cadeia de propagação, sendo que o homologo α- é o que contém maior atividade antioxidante, em seguida, tem-se β-, γ- e δ- (GRILO *et al*., 2015).

A quantidade de tocoferol presente nos óleos alimentares pode ser afetada pelo cultivo, processamento e ou armazenamento, sendo o processo de refinação o maior responsável pela diminuição do teor desta vitamina em óleos vegetais, portanto, embora o óleo de girassol contenha quantidades significativas α-tocoferol, o processo de refino resulta na remoção de quantidades consideráveis de potentes componentes antioxidantes, diminuindo assim a sua capacidade oxidativa natural (GERTZ; KOCHHAR, 2001; GUINAZI, 2009).

Segundo Dias *et al.* (2014), as especiarias também possuem quantidades significativas de tocoferóis, especificamente na espécie *Laurus nobilis*, na qual foram detectados α-, β-, γ- e δ-tocoferol, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Teor de tocoferóis das folhas de louro espécie *Laurus nobilis*.

Tocoferol	**Folha de louro**
α-tocoferol	370,05 ± 0,56
β-tocoferol	13,53 ± 0,15
γ-tocoferol	395,76 ± 2,64
δ-tocoferol	0,78 ± 0,12
Tocoferóis totais (mg/100 g b.s.)	780,12 ± 2,36

Fonte: Adaptado de Dias *et al.* (2014)

3.6. Loureiro

O Loureiro, pertencente à família das Lauraceae, compreende 32 gêneros e cerca de 2500 espécies. É uma planta nativa da região sul do Mediterrâneo, e é cultivada em muitas regiões quentes do mundo. Na Europa e nos Estados Unidos, é amplamente cultivada como planta ornamental (MSSILLOU *et al.*, 2020).

O louro (*Laurus nobilis*) é largamente utilizado como planta ornamental e/ou medicinal. As folhas e os óleos essenciais, devido às propriedades benéficas que lhe são atribuídas, são utilizados em formulações dermatológicas e na indústria alimentar (PROENÇA; RIBEIRO; ROQUE, 2009).

É uma árvore, ou arvoreta, perenifólia com ramos eretos que pode atingir até 15 metros de altura, caule glabro, de casca lisa e escura. Caracterizada por folhas persistentes, alternas, elípticas ou lanceoladas, aromáticas, apresenta flores pequenas e pouco vistosas. Sua inflorescência é amarela e seus frutos (baga) globosos escuros, contendo uma semente, que quando maduro adquire uma coloração negra (CORRÊA, 1984; VAZ *et al*., 2006).

A árvore do louro não suporta geadas constantes e temperaturas negativas, prefere solos ricos em matéria-orgânica, bem drenados e com boa luminosidade (VAZ *et al*., 2006; PEREIRA, 2014). A colheita é feita a partir das folhas bem desenvolvidas em qualquer época do ano e são perceptivelmente odoríferas, com nervuras secundárias formando ângulo com a nervura principal (Figura 10) (DUARTE; OLIVEIRA, 2006; VAZ *et al*., 2006).

Além de estar entre as especiarias mais antigas utilizadas pelo homem, o louro tem importante papel funcional, sendo uma planta rica em compostos bioativos que lhe conferem atividades antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, dentre outras (BALLEN *et al.*, 2019). Segundo Duarte e Oliveira (2006), as folhas podem

ser usadas com segurança, pois não foram relatados riscos no consumo ou restrições ao uso.

Figura 10 - Folhas de louro.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A composição química de *Laurus nobilis* compreende alcalóides, norisoprenóides, açúcares, polissacarídeos, ácidos orgânicos, tocoferóis e uma ampla gama de polifenóis, incluindo diferentes flavonóides, ácidos fenólicos, taninos e lignanos (DOBROSLAVIĆ *et al.*, 2021).

A Turquia é o maior produtor de *Laurus nobilis* com quase 97% da produção total mundial, e exporta para 64 países. A quantidade de produção anual varia entre 7.000 e 7.500 toneladas (PAPARELLA *et al*., 2022).

De acordo com o Guia CEAGESP (Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo), o Louro é o 231º produto mais comercializado na CEAGESP. No ano de 2017, foram comercializadas 30,92 toneladas da folha e as cidades que mais fornecem louro para o entreposto Terminal de São Paulo são: São Roque/SP (69,5%), Cotia (11%) e Piedade (6,73%).

3.7. Óleo de girassol

O girassol (*Helianthus annuus* L.) tem grande importância econômica e seu óleo é consumido em todo o mundo, ficando atrás apenas dos óleos de soja, palma e canola (LEANDRO *et al*., 2020).

O girassol contém 7,57% de umidade, 22,19% de proteína bruta, 22,15% de extrato etéreo, 4,68 % de matéria mineral, 0,35% de cálcio, 0,70% de fósforo e 23,8% de fibra bruta e é utilizado principalmente como matéria-prima para produção

de óleo. Destaca-se por ser a quarta oleaginosa em produção de grãos e a quinta em área cultivada no mundo (CASTRO *et al.*, 2021; PINHEIRO; JORGE, 2021).

Ainda atrás da soja em termos de cultivo, o girassol possui produção anual de 1560 kg/ha (CONAB, 2022). Devido a lei 11.097/2005, desde 2013 que obriga a inclusão de 5% de biodiesel ao óleo diesel consumido no Brasil, a produção de óleos vegetais vem crescendo no país e o girassol entra como uma boa alternativa para esse fim devido ao seu alto teor de óleo (LEANDRO *et al*., 2017).

Além disso, existem estudos comprovando que a planta do girassol e suas diferentes partes como grãos e seus subprodutos (farelo, torta e óleo) apresentam características nutricionais que permitem o seu uso como ingrediente também na alimentação animal (OLIVEIRA; VIEIRA, 2004).

Segundo o informativo elaborado pela Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SEAPA, 2021), Goiás foi o estado brasileiro líder no *ranking* nacional de produção de girassol na safra de 2020/2021, com estimativa de 42 mil toneladas, um crescimento de 27,7% em relação à safra anterior.

As maiores áreas produtoras brasileiras estão nas regiões Sul e Centro, onde as chuvas anuais suportam as necessidades hídricas do cultivar, no entando, em países como Turquia e Itália, o girassol também é cultivado em áreas semiáridas, abrindo assim a possibilidade de avanço das áreas de produção de girassol no semiárido brasileiro nas áreas que possibilitam irrigação (CARVALHO; CARVALHO; CARVALHO, 2020).

Mais de 90% da produção mundial de girassol destinam-se à elaboração de óleo comestível, os outros 10% são destinados à alimentação de pássaros e consumo humano direto. Em média, para cada tonelada de grão, são produzidas 400 kg de óleo (OLIVEIRA; VIEIRA, 2004).

O óleo de girassol teve consumo inicial nos Estados Unidos como um item vendido principalmente em lojas de alimentos naturais. A ênfase estava no alto percentual de ácidos graxos poli-insaturados e os benefícios de uma dieta rica nesses ácidos graxos. Desde então, é considerado um óleo especial e o preço é mais alto do que os óleos comuns, sendo o valor controlado pelo preço do óleo de soja no mercado de exportação (BERGER; HAMILTON, 1995). Além disso, o alto teor de ácido linoleico favorece o uso do óleo de girassol também na área clínica, com a importante função de prevenir infecções e recuperar a integridade cutânea (SILVA *et al.,* 2021).

Pesquisas demonstram que a composição de ácidos graxos do óleo de girassol depende das condições genéticas e ambientais. Em geral, os ácidos graxos determinam as propriedades nutricionais e usos específicos. É constituído por uma pequena quantidade de ácidos graxos saturados (aproximadamente 10%), principalmente palmítico e esteárico, e é rico em vitamina E (α-tocoferol). Contém baixos teores de ácido α-linolênico (≤ 0,2%), alto teor de ácido linoleico (60 a 75%) e contém cerca de 22% de ácido oleico (BERGER; HAMILTON, 1995; ZHELJAZKOV *et al.*, 2010).

Embora seja um óleo rico em α-tocoferol, durante as etapas de degomagem, neutralização e desodorização, os tocoferóis, esteróis, carotenoides e compostos fenólicos são reduzidos, comprometendo a estabilidade dos óleos (FREITAS, 2015).

O óleo bruto contém de 27 a 124 mg de tocoferóis/100 g de óleo com a maior porcentagem (acima de 90%) do α-tocoferol ativo. A variação do tocoferol total é proveniente de fatores ambientais durante a maturação da semente. Foi demonstrado que a síntese total de tocoferol se assemelha à síntese total de lipídios (BERGER; HAMILTON, 1995).

Tabela 2 - Composição em ácidos graxos de óleos de girassol.

Ácidos graxos (%)	**Amostras**									
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
Mirístico (C14:0)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Palmítico (C16:0)	6,2	6,5	6,7	6,7	6,2	6,6	6,0	6,6	7,6	6,9
Palmitoleico (C16:1)	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	0,1	-
Esteárico (C18:0)	3,5	3,6	3,8	3,9	3,5	3,6	3,5	3,5	3,5	3,2
Oleico (C18:1*t*)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oléico (C18:1*c*)	26,2	26,2	17,6	17,6	25,4	19,1	27,9	20,2	24,9	19,6
Linoleico (C18:2*t*)	0,2	0,8	0,5	0,5	0,4	0,3	0,2	0,4	1,2	0,3
Linoleico (C18:2*c*)	62,0	60,9	69,3	69,3	62,8	68,5	60,9	67,5	59,2	68,1
α-linolênico (C18:3*t)*	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	-
α-linolênico (C18:3*c*)	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	-	0,3	0,9	0,6
Araquídico (C20:0)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2
Gadoleico (C20:1)	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,4	0,2
Behênico (C22:0)	0,7	0,7	0,8	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,6
Cetoleico (C22:1)	-	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-
Lignocérico (C24:0)	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2
Saturados	10,9	11,3	11,9	12,0	10,9	11,6	10,7	11,5	12,5	11,2
Monoinsaturados	26,6	26,6	18,0	18,0	25,7	19,3	28,1	20,5	25,4	19,7
Poli-insaturados	62,5	62,1	70,1	70,1	63,4	69,1	61,2	68,1	62,1	69,0
Isômeros *trans*	0,2	0,8	0,5	0,5	0,4	0,3	0,2	0,4	2,0	0,3

Fonte: Adaptado de Masuchi *et al.* (2008).

Apresenta cor clara e sabor suave, possui elevado ponto de fumaça e tem grande utilidade na culinária, principalmente como molho para saladas e em frituras (MUNDER; ARGYROPOULOS; MULLER, 2017). Teoricamente, a composição em ácidos graxos deveria ser uma identidade específica e de pouca variabilidade nos óleos vegetais, porém, segundo Masuchi *et al.* (2008), verificou-se grande variabilidade nos teores de ácidos linoleico e oleico nos óleos de girassol adquiridos comercialmente, 59 a 69% e 18 a 28%, respectivamente, como mostra Tabela 2. Esse fato pode ser justificado pela alta submissão das variedades a melhoramentos genéticos, assim como pelas diferentes áreas de cultivo e colheita, condições agronômicas e climáticas, qualidade das sementes e, processos de extração e refino (CERT; MOREDA; PEREZ-CAMINO, 2000; PEREZ; CARELLI; CRAPISTE, 2004).

Como já mencionado, o óleo de girassol bruto é rico em α-tocoferol e estudos sugerem que os óleos ricos em tocoferóis não respondem tão favoravelmente a antioxidantes adicionados, ao contrário do que acontece com os óleos com baixo teor de tocoferóis. A eficácia do antioxidante melhora à medida que o conteúdo de tocoferol é reduzido (BERGER; HAMILTON, 1995). Segundo Masuchi *et al.* (2008), durante o refino, pode haver perda de até 30% de tocoferol, dependendo das condições do processamento, sendo que os refinos físico e químico podem ocasionar maiores perdas de tocoferol se a temperatura de desodorização usada for superior a 260ºC.

3.8. Estocagem acelerada em estufa

Os testes de estocagem acelerada permitem estimar de forma rápida a estabilidade oxidativa de uma matéria graxa ou a eficácia de um antioxidante, isolado ou em associação. Esse experimento tem importante papel na rotina analítica, uma vez que a oxidação natural é um processo lento e muitas vezes torna-se incompatível com o controle da qualidade de óleos e gorduras a nível industrial (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). De acordo com Evans *et al.* (1973), cada dia de estocagem em estufa a 60ºC corresponde a um mês de estocagem em temperatura ambiente.

O método de estufa apresenta menores limitações que outros métodos acelerados e o resultado apresenta correlação com o ensaio de vida-de-prateleira. É importante destacar que os métodos de estabilidade acelerada apresentam validade

restritra, pois à medida em que se submete a amostra ao aquecimento, à luz ou ao contato com metais, muda-se o mecanismo da oxidação. Assim, os resultados obtidos podem sofrer desvios dos valores reais, já que o comportamento do óleo nestas condições será diferente das condições normais de estocagem (FRANKEL, 1993).

Além da avaliação do comportamento dos óleos em testes reais de armazemento, os métodos de determinação da oxidação lipídica surgiram na tentativa de espelhar a vida de prateleira de óleos e gorduras de forma mais acelerada, e dentre as metodologias existentes, pode-se estudar o estado de oxidação ou a estabilidade oxidativa. Sendo que a primeira consiste em determinar, no momento da análise, a concentração ou valor de um parâmetro de qualidade indicativo. E a segunda, está relacionada ao prazo máximo de validade do produto, avaliado por um certo período de tempo (TENA *et al.*, 2019; GERTZ; KOCHHAR, 2001).

A estabilidade oxidativa é um dos métodos mais utilizados para avaliação da qualidade dos óleos e gorduras e a estabilidade entre os diversos tipos de óleos vegetais é devida principalmente à presença de ácidos graxos poliinsaturados e da quantidade de γ- e δ-tocoferóis (MASUCHI *et al.*, 2008).

A determinação da estabilidade oxidativa relativa ao aumento da condutividade elétrica, é baseado no método originalmente desenvolvido por Hadorn e Zuecher (1974), onde utiliza-se o equipamento denominado Rancimat 617. Neste aparelho, o fluxo de ar passa através do óleo (mantido sob aquecimento em temperatura que varia de 100 a 140ºC), depois borbulha em água deionizada, arrastando os ácidos carboxílicos voláteis (principalmente ácido fórmico), gerados do processo de oxidação, que se solubilizam, aumentando a condutividade elétrica da água (ANTONIASSI, 2001; GERTZ; KOCHHAR, 2001). Esses testes envolvem a medição do período de indução, ou seja, o tempo no qual o óleo resite à oxidação à presença de antioxidantes naturais ou não (GERTZ; KOCHHAR, 2001).

A estabilidade oxidativa depende da composição química, da qualidade da matéria-prima, das condições a que foi submetido o produto durante o processamento, das condições de estocagem da semente e do óleo, da presença de sabões, de fosfolipídios e de pigmentos no óleo e das condições do processo de desodorização (ANTONIASSI, 2001).

Silva, Borges e Ferreira (1999) estudaram os métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante e verificaram que nos ensaios de estabilidade oxidativa, como por exemplo Rancimat, o mecanismo de oxidação lipídica apresenta reações laterais de polimerização, ciclização e cisão, fatos que não acontecem em temperaturas normais de armazenamento. Com isso, verifica-se a formação de novas espécies antioxidantes ou até mesmo pro-oxidantes, podendo, por consequência, falsear as determinações. No entanto, quando utilizados para avaliar a capacidade antioxidante de compostos, o índice de proteção global, medido a alta temperatura, é inferior ao verificado a temperaturas mais baixas. Ou seja, de fato, na presença de um antioxidante, há uma diminuição da velocidade do processo oxidativo devido ao aumento da energia de ativação da reação, mas que é compensado pelo fornecimento de energia térmica, podendo o grau de eficácia dos antioxidantes, medido a alta temperatura, refletir a maior ou menor estabilidade térmica dos compostos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. Óleo vegetal

Para a realização deste trabalho, foi utilizado óleo de girassol refinado, sem adição de antioxidantes sintéticos (TBHQ e ácido cítrico), adquirido no mercado local.

4.1.2. Folhas de louro

As folhas de louro foram coletadas manualmente de um loureiro existente no campus IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto (latitude: 20° 49' 13" Sul, longitude: 49° 22' 47" Oeste) no mês de fevereiro do ano de 2021.

Após a coleta, as folhas foram lavadas com água corrente, e secas em temperatura ambiente. Parte das folhas coletadas foi submetida à análise de umidade, onde as folhas *in natura* foram higienizadas e trituradas em processador doméstico (Walita, modelo HL 3252, São Paulo, Brasil).

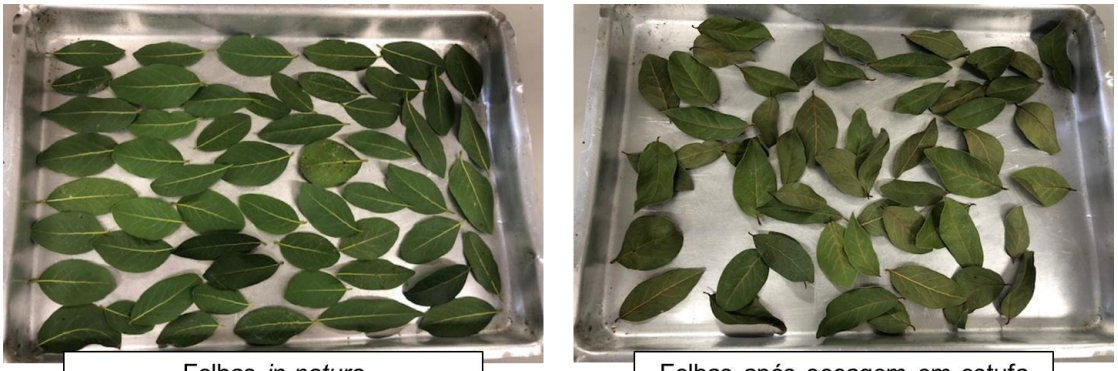
As folhas foram separadas em três partes, sendo uma destinada à extração *in natura*, outra à extração das folhas liofilizadas (Figura 11) e a restante, à extração das folhas secas em estufa a 60^{o}C (Figura 12).

Figura 11 - Folhas de louro antes e após processo de liofilização.

Folhas *in natura* | Folhas liofilizadas

Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 12 - Folhas de louro antes e após processo de secagem em estufa.



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.1.3. Extratos e antioxidantes

Para o extrato liofilizado (EL), as folhas foram liofilizadas durante 48 horas (Liobras, modelo L101, São Carlos, Brasil). Para obtenção do extrato seco (ES), as folhas foram dispostas em bandejas de alumínio e colocadas em estufa com circulação forçada de ar (Marconi, MA 035, Piracicaba, Brasil) a 60ºC, até estabilização do peso da amostra.

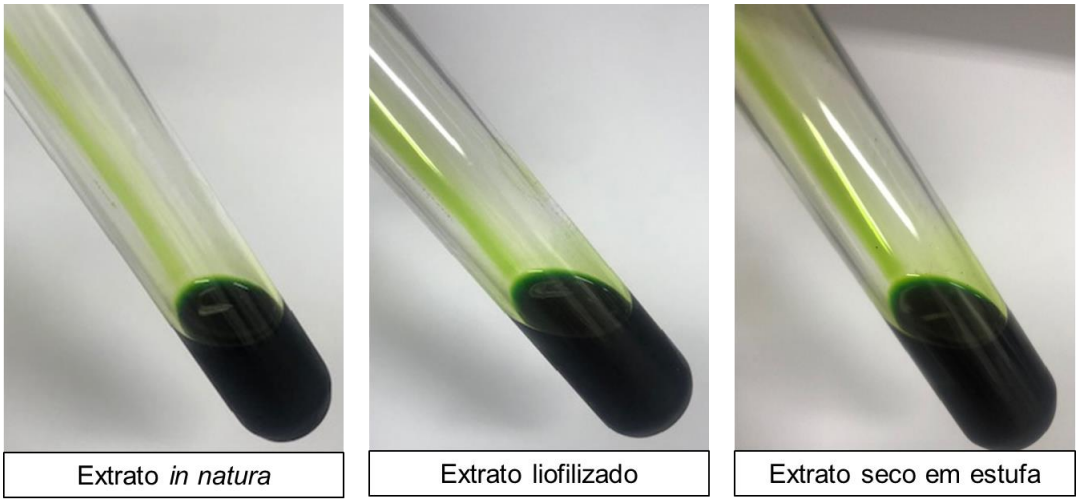
Para obtenção dos extratos foi utilizada solução alcóolica (Etanol 95ºGL). As folhas *in natura* e as folhas tratadas termicamente (20 g de cada parte) foram trituradas em processador (Walita, modelo HL 3252, São Paulo, Brasil), mantidas sob agitação com etanol (200 mL) à temperatura ambiente (25ºC) durante 30 minutos em mesa agitadora orbital (Tecnal, modelo TE-141, Piracicaba, Brasil), na proporção de 1:10 (1 parte de folhas para 10 partes de solvente), ao abrigo da luz. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 3.000 rpm, por 10 minutos e o sobrenadante submetido em filtro de papel contendo sulfato de sódio anidro. Procedeu-se a remoção do solvente utilizado, sob pressão reduzida a 45ºC, por meio do evaporador rotativo (Quimis, modelo Q 344B2, São Roque, Brasil).

Os extratos obtidos foram inertizados com gás nitrogênio e mantidos a -32ºC por 24 horas. Em seguida, os extratos foram desidratados em liofilizador (Liobras, modelo L101, São Carlos, Brasil), durante 26 horas. O rendimento dos extratos liofilizados foi obtido por diferença de peso, e os extratos foram armazenados em temperatura aproximada de -18ºC até o momento das análises. Os extratos obtidos foram pesados e ressuspensos em etanol (Figura 13), obtendo-se soluções-

estoques contendo 1 grama de extrato para cada 10 mL de solvente etanol (1:10), utilizadas para aplicações diretas no óleo de girassol.

O antioxidante sintético TBHQ, nas concentrações 100 e 200 mg/kg, foi utilizado na forma comercial, fornecido pela empresa Danisco S/A.

Figura 13 - Extratos das folhas de louro ressuspensos em álcool etílico.



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2. Estocagem acelerada em estufa

Foram submetidos à estocagem acelerada os seguintes tratamentos óleo de girassol (OG); OG com 200 mg/kg de TBHQ ($TBHQ_{200}$), OG com 200 mg/kg de compostos fenólicos totais do extrato liofilizado (EL_{200}), OG com 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de compostos fenólicos totais do extrato liofilizado ($TBHQ_{100}$+EL_{100}) OG com 200 mg/kg de compostos fenólicos totais do extrato seco em estufa (ES_{200}), OG com 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de compostos fenólicos totais do extrato seco em estufa ($TBHQ_{100}$+ES_{100}) e OG com 100 mg/kg de compostos fenólicos totais do extrato liofilizado + 100 mg/kg de compostos fenólicos totais do extrato seco em estufa (EL_{100}+ES_{100}).

Por ser a quantidade máxima permitida pela legislação brasileira, a concentração de 200 mg/kg do antioxidante sintético TBHQ foi definida como máxima para todos os tratamentos realizados.

Os tratamentos foram mantidos por 21 dias em estufa (Marconi, MA 035, Piracicaba, Brasil), aquecida a 60ºC ± 2ºC, utilizando-se frascos âmbar de 60 mL contendo 30 mL de cada amostra, com relação superfície/volume de 0,3/cm. As

amostras, em diferentes intervalos de tempo (0, 7, 14, e 21 dias) foram tomadas e inertizadas com nitrogênio gasoso e armazenadas a -18ºC até o momento das análises.

4.3. Métodos

4.3.1. Análise nas folhas e extratos

Umidade

A umidade das folhas de louro *in natura* foi realizada de acordo com o método Ca 2d-25 da AOCS (2009).

Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram quantificados, colorimetricamente pelo método de Folin-Ciocauteau, descrito por Singleton e Rossi (1965). Este método baseia-se na redução dos ácidos fosfomolíbdico e fosfotungstico em solução alcalina, e é o mais utilizado para a determinação de compostos fenólicos totais em alimentos. A cor azul produzida pela redução do reagente Folin-Ciocauteau pelos fenólicos é medida espectrofotometricamente. Conforme procedimento, 100 µL da solução de extrato de louro foram adicionados a 500 µL do reagente Folin-Ciocauteau, com posterior adição de 1,5 mL de solução saturada de carbonato de sódio 20% e 6,0 mL de água destilada. Após duas horas, a absorbância foi determinada a 765 nm. Para a quantificação, foi feita uma curva analítica utilizando ácido gálico em concentrações de 0 a 500 mg/L. Os teores de compostos fenólicos totais estão expressos como miligrama de equivalente de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g) e a curva padrão de ácido gálico encontra-se no Apêndice A.

Dentre os diferentes extratos de louro estudados, os que apresentaram maior teor de compostos fenólicos totais foram selecionados para serem aplicados no óleo de girassol em testes acelerado de estufa nas concentrações de 100 e 200 mg/kg de compostos fenólicos totais.

Sequestro do radical livre DPPH$^{\bullet}$ (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

A atividade antioxidante dos extratos de louro foi determinada por meio do método proposto por Hatano *et al.* (1988). Este método baseia-se na remoção do

radical estável DPPH$^{\bullet}$ do meio de reação por ação dos antioxidantes presentes na amostra. 3,0 mL do extrato diluído foram adicionados a 1,0 mL de solução de DPPH$^{\bullet}$ (2.10^{-4} Mol/L). Após o tempo de reação de 30 minutos em ausência de luz, a absorbância foi lida a 517 nm em espectrofotômetro (Shimadzu, modelo UV mini 1240, Kyoto, Japão), e convertida em atividade antioxidante. O resultado foi expresso em porcentagem de Atividade Antioxidante (AA) pela fórmula: AA (%) = 100 – {[($Abs_{amostra}$ – Abs_{branco}) x 100] / $Abs_{controle}$}, onde, Abs é a absorvância e em µMol de Trolox por grama de extrato. A curva padrão de Trolox para esta análise encontra-se no Apêndice B.

Redução do Ferro – FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

A atividade antioxidante dos extratos de louro também foi determinada pelo método da redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe^{3+}, conforme Szydłowska-Czerniak *et al.* (2008). Em ambiente escuro, foi transferida uma alíquota de 90 µMol da amostra para tubos de ensaio e adicionado 270 µMol de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP (25 mL de tampão acetato 0,3 M, 2,5 mL de TPTZ 10 mM e 2,5 mL de cloreto férrico 20 mM). A mistura foi homogeneizada em agitador de tubos tipo vórtex, modelo QL-901, marca Bioximer, e mantida em banho de aquecimento, modelo 550, marca Fisatom a 37ºC. Depois de 30 minutos, a absorvância foi medida em espectrofotômetro (Shimadzu, modelo UV mini 1240, Kyoto, Japão) a 595 nm. A atividade antioxidante está expressa nos resultados em µMol Trolox/mg e a curva padrão de Trolox para esta análise encontra-se no Apêndice C.

Captura do radical livre – $ABTS^{\bullet+}$

A medida da atividade antioxidante através do radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) - $ABTS^{\bullet+}$ foi determinada conforme descrito por Re *et al.* (1999). O radical $ABTS^{\bullet+}$ foi preparado por meio da reação de 10 mL da solução estoque de $ABTS^{\bullet+}$ 7 mM com 176 µL da solução de perssulfato de potássio 140 mM. A mistura permaneceu no escuro e à temperatura ambiente por 16 horas. Essa mistura foi diluída com álcool etílico até obtenção de absorvância 0,70 nm (± 0,05) a 734 nm. Uma alíquota de 30 µL de cada amostra foi misturada com 3 mL da solução de $ABTS^{\bullet+}$ e agitada em agitador de tubos tipo vórtex (Biomixer, modelo QL-

901, Curitiba, Brasil) e mantida à temperatura ambiente e no escuro por 6 minutos. A absorvância foi medida em espectrofotômetro (Shimadzu, modelo UV mini - 1240, Kyoto, Japão) a 734 nm. Uma massa de 0,025 g de Trolox foi dissolvida em álcool etílico, em balão de 50 mL (2 mM), utilizada como solução padrão. A atividade antioxidante está expressa nos resultados em µMol Trolox/100 g. A curva padrão de Trolox está apresentada no Apêndice D.

4.3.2. Análises no óleo

Teor de ácidos graxos livres e acidez

Essa análise determina os ácidos graxos livres existentes na amostra, expressa como ácido oléico e foi realizada de acordo com o método Ca 5a-40 da AOCS (2009). A acidez consiste na relação existente entre a percentagem de ácidos graxos livres e o índice de acidez (IA), onde, IA = 1,99 x %AGL, sendo o fator 1,99 obtido experimentamente e internacionalmente utilizado, quando a % de AGL é expressa em relação ao peso molecular do ácido oleico.

Dienos conjugados

Este método determina dienos conjugados, presentes na matéria graxa, expressos como porcentagem de ácidos dienóicos conjugados. Com base no métodoTi 1a-64 (AOCS, 2009), foi feita a leitura da absorbância a 233 nm em espectrofotômetro (Shimadzu, modelo UV mini 1240, Kyoto, Japão).

Índice de peróxidos

O índice de peróxidos determina em miliequivalentes de oxigênio ativo por quilograma de matéria graxa todas as substâncias que oxidam o iodeto de potássio (KI), por serem essas substâncias geralmente consideradas como peróxidos ou outros produtos similares da oxidação de gorduras. Este índice foi determinado segundo a norma da *American Oil Chemists' Society* Cd 8-53 (AOCS, 2009), o qual mede o iodo produzido a partir da reação do iodeto de potássio com os peróxidos.

Índice de p-anisidina

Esse teste foi desenvolvido com a finalidade de quantificar compostos

secundários, tipo aldeídos α e β insaturados (principalmente 2-alquenal) presentes nos óleos. Consiste na formação de um complexo de cor amarela com os aldeídos que possuem duplas ligações conjugadas, em particular com o *trans,trans*-2,4-decadienal resultante da degradação do ácido linoleíco (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Foi realizada de acordo com o método Cd 18-90 da AOCS (2009) onde, as amostras foram pesadas e dissolvidas em 10 a 25 mL de isooctano, e, em seguida, foi realizada a leitura em espectrofotômetro (UV mini 1240, Shimadzu, Kyoto, Japão) a 350 nm obtendo-se a absorbância inicial (Abs 1). Dessa solução, foi retirada uma alíquota de 5 mL e posteriormente adicionado 1 mL da solução contendo *p*-anisidina. A nova mistura foi deixada em repouso por 10 minutos e em seguida realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 350 nm obtendo-se a absorbância final (Abs 2). O resultado foi calculado conforme a equação: $IpA = [V \times (1,2 \times Abs_2 - Abs_1)]/m$, onde, IpA é o índice de *p*-anisidina, V é o volume de iso-octano em mL, Abs_2, a absorbância inicial, Abs_1, a absorbância final, e m, a massa em gramas.

Valor de oxidação total (Totox)

O valor de oxidação total corresponde ao teor total de compostos produzidos pela oxidação dos óleos. O valor Totox (VT) foi obtido pela equação matemática que combina os resultados dos índices de peróxidos e *p*-anisidina. Foi realizado com base na equação: $VT = 2\ IP + IA$, onde, IP o valor de índice de peróxidos e IA, o índice de *p*-anisidina (SHAHIDI, 2005).

Índice de saponificação

Esse índice é definido pela quantidade em mg de hidróxido de potássio necessária para saponificar 1 g de óleo ou gordura. A análise foi realizada de acordo com o método Cd 3-25 da AOCS (2009).

Índice de iodo

Essa é uma medida da insaturação de óleos e gorduras e é definido como a quantidade de halogênio em gramas, calculado como iodo absorvido por 100 g de amostra nas condições do ensaio. No presente estudo, foi utilizado o método de Wijs, Cd 1-25 da AOCS (2009).

Índice de refração

A análise foi realizada a 40ºC conforme método Cc 7-25 proposto pela AOCS (2009), mediante Refratômetro de Abbé (Quimis, Brasil).

Clorofila

A análise de clorofila foi feita de acordo com o método Cc 13d-55 da AOCS (2009) por meio da leitura por espectrofotômetro (modelo UV mini 1240, Shimadzu, Kyoto, Japão), nos comprimentos de onda de 630, 670 e 710 nm.O resultado foi expresso em mg/kg pelo seguinte cálculo: C = [A670 – (A630 + A710) / 2] / 0,1016 x L, onde, C é a concentração de pigmentos em mg/kg de óleo, A é a absorvância em seus respectivos comprimentos de onda e L é a espessura da cubeta em cm.

Estabilidade oxidativa

A medida da estabilidade oxidativa do óleo adicionado dos extratos foi conduzida conforme método Cd 12b-92 da AOCS (2009) que utiliza o equipamento Rancimat, e se baseia na determinação da condutividade elétrica dos produtos voláteis de degradação. A determinação foi realizada a 110ºC, com fluxo de ar de 20 L/h, com utilização de 3 g de amostra e volume de água destilada de 60 mL nos frascos contendo os eletrodos. Por esse método uma curva de condutividade elétrica x tempo é automaticamente registrada com o decorrer da reação e do teste, sendo o período de indução expresso em horas.

Ganho de massa

Na análise de ganho de massa, 2,0 g de cada amostra de óleo foram pesados em placas de Petri e colocados em estufa a 60°C. A taxa de oxidação, em termos de ganho de massa, foi medida a cada 24 horas num intervalo de 22 dias. O índice de estabilidade é definido como o tempo requerido para um aumento de massa de 0,5% (IQBAL; BHANGER, 2007).

Tocoferóis

A análise de tocoferóis, foi realizada segundo o método Ce 8-89 da AOCS (2009), e utilizou-se o cromatógrafo líquido de alta eficiência, (Varian, modelo Pro Star 210), equipado com detector de fluorescência. De acordo com as condições da análise, foi utilizada a coluna de sílica de 250 x 4,6 mm com poros de 5 µm, fluxo de 1,2 mL/min, comprimento de onda de excitação em 290 nm e de emissão em 330

nm e como fase móvel a mistura de 99,5% de n-hexano e 0,5% de isopropanol, todos com grau de pureza para CLAE. A identificação de tocoferóis foi feita por comparação com o tempo de retenção dos padrões da marca Sigma grau de pureza 95%. Estes foram quantificados por padronização externa e os teores de tocoferóis expressos em termos de mg/kg.

4.4. Análise estatística

O experimento foi realizado em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado (BANZATTO; KRONKA, 2006), cujos resultados obtidos das determinações analíticas foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 5%, através do programa Statistica, versão 7.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise nas folhas e extratos

As folhas de louro apresentaram umidade inicial de 53,23% e foram conduzidas aos processos de liofilização e secagem em estufa para posterior obtenção dos extratos EL e ES, respectivamente.

As análises de variância para a determinação de rendimento, compostos fenólicos, DPPH$^{\bullet}$, FRAP e ABTS$^{\bullet}$ estão apresentadas no Apêndice E. Observa-se que o teste F foi significativo ($p < 0,01$) para os tratamentos, com exceção da análise de rendimento que não apresentou diferença significativa.

Os rendimentos foram calculados por diferença de peso, cujos valores foram 5,53% para a folha de louro *in natura* (EN), 6,15% para o louro liofilizado (EL) e 5,50% para as folhas secas em estufa (ES) (Tabela 3).

Tabela 3 - Análises de rendimento, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos de folhas de louro: *in natura* (EN), liofilizado (EL) e seco em estufa (ES).

Determinações	**EN**	**EL**	**ES**
Rendimento (%)	5,53 ± 0,26^{a}	6,15 ± 0,54^{a}	5,50 ± 0,48^{a}
Compostos fenólicos (mg EAG/g)	1,35 ± 0,02^{b}	1,91 ± 0,10^{a}	1,68 ± 0,04^{a}
Atividade antioxidante			
DPPH$^{\bullet}$ (AA%)	40,33 ± 2,50^{b}	70,23 ± 2,51^{a}	44,45 ± 1,48^{b}
DPPH$^{\bullet}$ (µMol Trolox/g)	2,31 ± 0,15^{b}	4,59 ± 0,17^{a}	2,24 ± 0,08^{b}
FRAP (µMol Trolox/g)	9,44 ± 0,03^{c}	17,29 ± 0,94^{a}	13,50 ± 0,75^{b}
ABTS$^{\bullet+}$ (µMol Trolox/g)	9,16 ± 0,83^{b}	13,46 ± 0,56^{a}	9,24 ± 0,29^{b}

Médias ± desvios padrões das determinações seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas não diferem pelo teste de *Tukey* ($p > 0,05$).

Ballen *et al.* (2019) encontraram 6,66% de rendimento em extrato de folha de louro utilizando etanol como solvente extrator. O rendimento de extração pode sofrer variadas influências, dentre elas, as condições em que o processo é realizado como método, tipo de solvente, tempo e temperatura (PEREIRA, 2014; PRADAL *et al.*, 2016).

De acordo com a Tabela 3, o extrato EL apresentou concentração de compostos fenólicos totais de 1,91 mg EAG/g de extrato, não diferindo

significativamente do ES, 1,68 mg EAG/g, sendo ambos significativamente maiores que o extrato EN (1,35 mg EAG/g).

Dall'Acqua *et al.* (2009) detectaram um total de 1,03 mg EAG/L de compostos fenólicos extraídos da folha de louro, colhida na Itália, por infusão em água e 0,90 mg EAG/L para extrato obtido utilizando metanol como solvente. Já, Lucena, Amâncio e Morais (2020) encontraram 0,44 mg EAG/mL de extrato obtido a partir da folha de louro comercial, utilizando álcool etílico.

Quando comparado às demais especiarias, nota-se valores discrepantes entre as quantidades de compostos bioativos das folhas. No estudo de Cortez (2020), teve-se um total de 10,07 mg/g de compostos fenólicos para extrato metanólico de cúrcuma. Pitaro, Fiorani e Jorge (2012) encontraram 20,66 mg/g de fenólicos no extrato etanólico de manjericão seco e 89,45 mg/g para o extrato etanólico de orégano seco. Hiromoto, Umeda e Jorge (2021) detectaram 64,18 mg/g e 5,06 mg/g de fenólicos para o extrato etanólico de cálices e sementes de hibisco, respectivamente.

Diferenças entre os resultados podem estar relacionadas às diferenças nos solventes, métodos de extração e testes antioxidantes usados, além do material vegetal, que sofre interferências relacionadas as condições geográficas, climáticas e ambientais, resultando em grande variação do conteúdo de metabolitos secundários (DALL'ACQUA *et al.*, 2009; NAYAK *et al.* 2018).

A atividade antioxidante pelos métodos DPPH$^{\bullet}$, FRAP e ABTS$^{\bullet+}$, do extrato EL, foi significativamente maior que os valores encontrados para os ES e EN. Esse foi um resultado esperado, uma vez que, de acordo com Ribeiro (2012), o processo de liofilização conserva melhor as propriedades dos vegetais, e, além disso, o aumento da temperatura na secagem em estufa, pode reduzir o tempo do processo, mas por outro lado, também promove a degradação de compostos bioativos (KHODJA *et al.,* 2020).

Lucena, Amâncio e Morais (2020) encontraram um total de 95,3% de atividade antioxidante para o extrato alcóolico de louro e 78,4% para para o extrato hidroalcóolico. Esses autores concluíram que a extração de compostos fenólicos de produtos naturais sofre influencia pelo tipo de solvente utilizado, e que diferentes tipos de solventes empregados na obtenção dos extratos geraram diferença nas quantidades encontradas de fenólicos totais.

A água dos alimentos é um fator importante para a degradação dos fenólicos por oxidação química e ação enzimática. A secagem de produtos alimentícios garante melhor armazenamento, preservação da qualidade nutricional e dos compostos bioativos (KHODJA *et al.*, 2020). Além disso, na ausência de água, há uma maior distribuição dos compostos fenólicos existentes (SILVA, 2008), o que pode explicar os maiores teores de fenólicos e atividade antioxidante para os extratos EL e ES em relação ao EN.

5.2. Análises no óleo

5.2.1. Caracterização do óleo de girassol

A Tabela 4 apresenta os resultados da caracterização físico-química do óleo de girassol. Elevados teores de ácidos graxos livres podem indicar baixa qualidade, no manuseio e armazenamento impróprio ou de uma extração em condições não ideais. A determinação da acidez está diretamente relacionada ao estado de conservação do óleo. Um processo de decomposição por oxidação geralmente altera a concentração dos íons de hidrogênio. Com aquecimento e luz, há uma decomposição dos triacilgliceróis, acompanhada pela formação de ácidos graxos livres, frequentemente expressos em termos de acidez (FREIRE; MANCINI-FILHO; FERREIRA, 2013). O óleo presentou 0,16% de ácidos graxos livres e 0,33 de acidez, demonstrando que está dentro do especificado na Instrução Normativa nº 87 (BRASIL, 2021), a qual determina acidez máxima de 0,6 mg KOH/g para óleos e gorduras refinados.

Tabela 4 - Caracterização físico-química do óleo de girassol.

Análises	**Médias ± desvios padrões**
Ácidos graxos livres (% em oleico)	0,16 ± 0,01
Índice de acidez (mg KOH/g)	0,33 ± 0,02
Dienos conjugados (%)	0,20 ± 0,00
Índice de peróxidos (meq/kg)	2,14 ± 0,39
Índice de *p*-anisidina	12,72 ± 0,27
Valor de oxidação total (Totox)	17,00 ± 0,88
Índice de saponificação (mg KOH/g)	192,28 ± 0,14
Índice de iodo (g I_2/100 g)	133,5 ± 2,03
Índice de refração (40ºC)	1,468 ± 0,00

A análise de dienos conjugados apresentou resultado igual a 0,20%, valor próximo ao obtido por Pinheiro (2019), que encontrou 0,23% para o óleo de girassol nas mesmas condições de avaliação.

A análise de peróxidos é comumente utilizada como indicador de qualidade dos óleos nos estágios iniciais de oxidação lipídica e está relacionado à rancidez do óleo, uma vez que a presença de compostos voláteis formados pela oxidação dos ácidos graxos insaturados tem consequente formação de peróxidos (PIZARRO *et al*., 2013; CARVALHO; MARTELLI; NASCIMENTO, 2022). As substâncias que oxidam KI, são geralmente consideradas como peróxidos ou outros produtos similares da oxidação de gorduras (AOCS, 2009).

Conforme Tabela 4, o óleo de girassol apresentou índice de peróxidos de 2,14 meq/kg. A quantidade de peróxidos encontrada está dentro do padrão estabelecido pela IN nº 87 (BRASIL, 2021), que estabelece o máximo 10 meq/kg para óleos e gorduras refinados. Corsini e Jorge (2006) encontraram índice de peróxidos inicial de 3,40 meq/kg para o mesmo óleo, quando empregado em estudo sobre alterações oxidativas em óleos de frituras de mandioca palito congelada.

O teste de *p*-anisidina determina produtos secundários da oxidação de lipídeos e detecta principalmente o nível de aldeídos presentes (FREIRE; MANCINI-FILHO; FERREIRA, 2013). Portanto, valores elevados de *p*-anisidina podem influenciar negativamente na estabilidade dos óleos durante armazenamento. Embora não exista legislação específica, em geral, o valor de *p*-anisidina de óleos de boa qualidade deve ser menor que 10 (AOCS, 2009). Conforme pode-se verificar na Tabela 4, o óleo apresentou 12,72 de *p*-anisidina, sendo um resultado superior ao máximo considerado para óleos de boa qualidade. Freitas (2015) encontrou valor igual a 13,63 em uma das amostras de óleo de girassol refinado que foram analisadas em sua pesquisa. Diferenças nos resultados de *p*-anisidina está relacionada ao processo. O aumento no índice de *p*-anisidina nos óleos refinados ocorre principalmente na etapa de clarificação com a ação da terra clarificante e consequente degradação dos peróxidos e formação de aldeídos e cetonas, porém, na etapa de desodorização, pode ocorrer uma redução de 50 a 60% desse índice, com a destilação dos compostos nas condições de trabalho do desodorizador, com influências de temperatura, vácuo e vapor injetado (FREITAS, 2015).

O valor Totox mais alto indica uma menor estabilidade da amostra de óleo contra rancidez oxidativa. De acordo com os resultados, pode-se verificar que o óleo

apresentou valor igual a 17,0. Freitas (2015) avaliou cinco diferentes marcas de óleo de girassol refinado e encontrou uma variação de 6,78 a 18,20 de oxidação total.

O índice de saponificação é inversamente proporcional ao peso molecular médio dos ácidos graxos dos glicerídeos presentes. A análise da amostra apresentou índice de saponificação de 192,28 mg KOH/g, de acordo com o *Codex Alimentarium* (2009), o índice de saponificação para óleo de girassol é de 188 a 194 mg KOH/g.

O índice de iodo representa a medida da insaturação de óleos e gorduras e o grau de degradação dessas ligações (CARVALHO; MARTELLI; NASCIMENTO, 2022). Para o óleo analisado foi encontrado 133,5 g I_2/ 100 g. A faixa padrão especificada pelo *Codex Alimentarium* (2009) é de 118 a 141 g I_2/ 100 g.

O óleo apresentou 1,468 de índice de refração. O índice de refração é característico para cada tipo de óleo. É a relação entre a velocidade da luz no vácuo e a velocidade da luz na substância testada. Podendo os raios luminosos atravessarem com menor ou maior intensidade, dependendo da natureza do óleo (GUNSTONE, 2011). Os óleos e gorduras possuem poder de refringências diferentes e de acordo com sua natureza, desviam com maior ou menor intensidade os raios luminosos que os atravessam. Avaliados à temperatura de 40ºC, o *Codex Alimentarium* (2009) estabelece índice de refração na faixa de 1,461 a 1,468 para óleo de girassol. O valor obtido ficou dentro da faixa especificada e apresentou coerência com os resultados de Jorge *et al*. (2005), que encontraram índice de refração igual a 1,467 para o óleo de girassol, utilizando mesma metodologia.

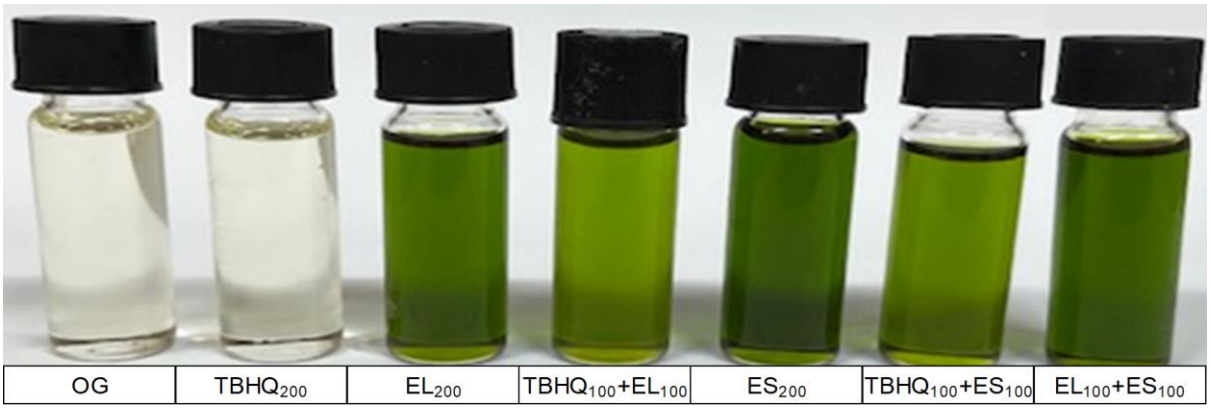
5.2.2. Estocagem acelerada em estufa

Clorofila

Na aplicação dos extratos no óleo de girassol foi possível observar cor verde intensa nos tratamentos (Figura 14) e, por esse motivo, foi realizada análise de clorofila antes de submeter os tratamentos ao teste acelerado em estufa, e os resultados estão apresentados na Tabela 5.

As análises de variância para a determinação de clorofila estão apresentadas no Apêndice F. Observa-se que o teste F foi significativo ($p < 0,01$) para os tratamentos.

Figura 14 - Tratamentos submetidos à estocagem em estufa.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os tratamentos $TBHQ_{100}+ES_{100}$, EL_{200} e $TBHQ_{100}+EL_{100}$ foram os que apresentaram maiores teores de clorofila, não diferendo estatísticamente entre eles, seguido dos tratamentos ES_{200} e $EL_{100}+ES_{100}$.

Pesquisas demonstram que o óleo de hibisco apresenta teor de clorofila de 21,24 mg/kg, enquanto o óleo de abacate contém cerca de 18,96 mg/kg, e o azeite de oliva, 13,53 mg/kg, ambos com coloração esverdeada. Grandes quantidades de clorofila podem influenciar na qualidade do óleo já que a alta concentração pode ter efeito pró-oxidante, reduzindo a estabilidade oxidativa e a vida de prateleira (JORGE *et al.,* 2015; NORA; IYNDA; HENCHIRI, 2016; HIROMOTO, UMEDA; JORGE, 2021).

Tabela 5 - Análise de clorofila dos tratamentos antes da estocagem.

Tratamentos	**Clorofila (mg/kg)**
OG	$0,03 \pm 0,03^{C}$
$TBHQ_{200}$	$0,07 \pm 0,00^{C}$
EL_{200}	$16,32 \pm 0,02^{A}$
$TBHQ_{100}+EL_{100}$	$16,08 \pm 0,58^{A}$
ES_{200}	$15,12 \pm 0,11^{B}$
$TBHQ_{100}+ES_{100}$	$16,56 \pm 0,06^{A}$
$EL_{100}+ES_{100}$	$15,06 \pm 0,77^{B}$

OG: óleo de girassol, $TBHQ_{200}$: OG + 200 mg/kg de TBHQ, EL_{200}: OG + 200 mg/kg de extrato liofilizado, $TBHQ_{100}+EL_{100}$: OG + 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de extrato liofilizado, ES_{200}: OG + 200 mg/kg de extrato seco, $TBHQ_{100}+ES_{100}$: OG + 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de extrato seco, $EL_{100}+ES_{100}$: OG + 100 mg/kg de extrato liofilizado + 100 mg/kg de extrato seco.
Médias ± desvios padrões da determinação seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem pelo teste de *Tukey* ($p > 0,05$).

É importante observar e destacar que a análise de clorofila por espectrofotometria fornece dados relativos ao conteúdo total de pigmentos esverdeados, incluindo clorofila a, clorofila b e seus derivados, como feofitinas e

feoforbídeos, com isso, não diferencia individualmente entre os seus componentes, uma vez que seus espectros e máximos de absorbância são muito parecidos. Dessa forma, o método não é adequado para a identificação dos pigmentos, é utilizado apenas para quantificação da soma de pigmentos verdes (BORRMANN, 2009).

Compostos primários e secundários da oxidação

As análises de variância para a determinação dos índices de dienos conjugados, peróxidos, *p*-anisidina e Totox nos óleos de girassol, utilizando os valores obtidos ao longo do período de estocagem acelerada em estufa, estão apresentadas no Apêndice F. Observa-se que o teste F foi significativo ($p < 0,01$) para tratamentos, tempos de estocagem e sua interação. Dessa forma, os resultados estão apresentados nas Tabelas 6 e 7.

Na análise de dienos conjugados, houve aumento gradual e progressivo na formação desses compostos primários ao longo do tempo para todos os tratamentos, com exceção do tratamento $TBHQ_{200}$ que não apresentou aumento significativo entre os tempos 0 e 7 dias. Ao final dos 21 dias, o tratamento EL_{200}, apresentou maior teor de dienos conjugados, não diferindo significativamente do OG. Os tratamentos EL_{200}, ES_{200} e $EL_{100}+ES_{100}$ também não apresentaram diferença significativa em relação ao OG, demonstrando que os extratos aplicados não inibiram a formação de dienos conjugados ao longo do período de estocagem estudado.

Observa-se resultados satisfatórios para os tratamentos contendo os dois tipos de antioxidante, comparando-os com o OG. Os dados obtidos demonstram que o extrato de louro foi mais eficiente que o extrato de coentro estudado por Angelo e Jorge (2008), que encontraram 1,34% de dienos conjugados para óleo de girassol adicionado de extrato de coentro, com 10 dias de estocagem acelerada em estufa.

De acordo com a Tabela 6, pode-se verificar que os tratamentos tiveram aumento significativo ($p < 0,05$) nos índices de peróxidos, demonstrando que quanto maior o tempo de estocagem, mais compostos primários de degradação foram formados. Ao final de 14 dias, o OG apresentou maior índice de peróxidos com 129,58 meq/kg, sendo significativamente maior que os demais tratamentos, enquanto o $TBHQ_{200}$, $TBHQ_{100}+EL_{100}$, $TBHQ_{100}+ES_{100}$, não apresentaram diferença significativa entre eles, demonstrando eficácia do sinergismo entre os dois antioxidantes. Quando observado o final da estocagem acelerada em estufa (21

dias), nota-se que o EL_{200} passa a ter o maior teor de peróxidos, sendo significativamente maior que os demais tratamentos, inclusive o OG, sugerindo que o extrato apresentou efeito pró-oxidante ao longo de 21 dias.

Tabela 6 - Médias do índice de dienos conjugados e peróxidos para a interação tratamentos x tempos dos óleos submetidos a estocagem em estufa a 60ºC.

Tratamentos	**Tempo de estocagem (dias)**			
	0	**7**	**14**	**21**
Dienos conjugados (%)				
OG	$0,21 \pm 0,01^{dA}$	$0,78 \pm 0,03^{cA}$	$1,56 \pm 0,00^{bA}$	$1,80 \pm 0,04^{aAB}$
$TBHQ_{200}$	$0,21 \pm 0,00^{bA}$	$0,23 \pm 0,00^{bD}$	$0,29 \pm 0,02^{aC}$	$0,29 \pm 0,01^{aC}$
EL_{200}	$0,21 \pm 0,01^{dA}$	$0,59 \pm 0,00^{cB}$	$1,25 \pm 0,00^{bB}$	$1,97 \pm 0,11^{aA}$
$TBHQ_{100}+EL_{100}$	$0,22 \pm 0,01^{cA}$	$0,25 \pm 0,03^{bcD}$	$0,31 \pm 0,00^{abC}$	$0,35 \pm 0,01^{aC}$
ES_{200}	$0,22 \pm 0,01^{cA}$	$0,49 \pm 0,01^{cC}$	$1,26 \pm 0,00^{bB}$	$1,70 \pm 0,11^{aB}$
$TBHQ_{100}+ES_{100}$	$0,20 \pm 0,02^{cA}$	$0,25 \pm 0,00^{bcD}$	$0,31 \pm 0,00^{abC}$	$0,39 \pm 0,04^{aC}$
$EL_{100}+ES_{100}$	$0,21 \pm 0,02^{dA}$	$0,54 \pm 0,03^{cBC}$	$1,27 \pm 0,00^{bB}$	$1,93 \pm 0,02^{aAB}$
Peróxidos (meq/kg)				
OG	$2,00 \pm 0,01^{dB}$	$53,38 \pm 1,18^{cA}$	$129,58 \pm 0,00^{bA}$	$182,6 \pm 0,10^{aB}$
$TBHQ_{200}$	$2,40 \pm 0,15^{dC}$	$7,29 \pm 0,02^{cBD}$	$10,29 \pm 0,09^{bC}$	$20,31 \pm 0,81^{aE}$
EL_{200}	$2,91 \pm 0,09^{dA}$	$47,04 \pm 0,91^{cB}$	$109,68 \pm 5,10^{bB}$	$198,86 \pm 1,01^{aA}$
$TBHQ_{100}+EL_{100}$	$3,16 \pm 0,31^{cA}$	$5,90 \pm 0,30^{cD}$	$14,00 \pm 1,69^{bC}$	$18,56 \pm 0,70^{aE}$
ES_{200}	$3,26 \pm 0,21^{dA}$	$40,97 \pm 0,30^{cC}$	$111,76 \pm 2,51^{bB}$	$160,61 \pm 4,11^{aD}$
$TBHQ_{100}+ES_{100}$	$2,81 \pm 0,31^{dA}$	$6,01 \pm 0,21^{cD}$	$13,37 \pm 0,20^{bC}$	$19,62 \pm 0,81^{aE}$
$EL_{100}+ES_{100}$	$3,29 \pm 0,12^{dA}$	$44,33 \pm 1,32^{cBC}$	$116,25 \pm 0,29^{bB}$	$171,61 \pm 2,00^{aC}$

OG: óleo de girassol, $TBHQ_{200}$: OG + 200 mg/kg de TBHQ, EL_{200}: OG + 200 mg/kg de extrato liofilizado, $TBHQ_{100}+EL_{100}$: OG + 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de extrato liofilizado, ES_{200}: OG + 200 mg/kg de extrato seco, $TBHQ_{100}+ES_{100}$: OG + 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de extrato seco, $EL_{100}+ES_{100}$: OG + 100 mg/kg de extrato liofilizado + 100 mg/kg de extrato seco.
Médias ± desvios padrões das determinações seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem pelo teste de *Tukey* ($p > 0,05$).

Quando observados os resultados do tratamento ES_{200}, nota-se que houve um aumento significativo de índice de peróxidos ao longo dos dias de estocagem, mas que o resultado foi significativamente menor que o resultado para o OG, demonstrando eficácia do extrato de louro seco em estufa ao longo do período de estocagem. Os resultados apresentados se comparam com os valores encontrados por Angelo e Jorge (2008), que obtiveram 92,15 meq/kg de peróxidos para o óleo de girassol adicionado de 1.600 mg/kg de extrato de coentro em 10 dias de estocagem acelerada em estufa.

A legislação brasileira (BRASIL, 2021) e o *Codex Alimentarius* (2009) estabelecem limite máximo de 10 meq/kg de índice de peróxidos para óleos vegetais refinados. Os valores médios dos índices de peróxidos para os tratamentos:

$TBHQ_{200}$, EL_{100}+$TBHQ_{100}$ e ES_{100}+$TBHQ_{100}$ permaneceram dentro dos padrões estabelecidos pela legislação por até 7 dias de estocagem acelerada em estufa, que corresponde a 7 meses em temperatura ambiente.

A Tabela 7 evidencia que os tratamentos contendo TBHQ ($TBHQ_{200}$, EL_{100}+$TBHQ_{100}$ e ES_{100}+$TBHQ_{100}$) apresentaram índices de *p*-anisidina significativamente menores que os demais tratamentos, demonstrando o efeito antioxidante do composto sintético, além do sinergismo entre os antioxidantes, e que não houve diferença significativa entre eles ($p > 0,05$). O mesmo comportamento é observado em relação ao Totox.

Tabela 7 - Médias do índice de *p*-anisidina e totox para a interação tratamentos x tempos dos óleos submetidos a estocagem em estufa a 60ºC.

Tratamentos	**Tempo de estocagem (dias)**			
	0	**7**	**14**	**21**
***p*-anisidina**				
OG	$13,40 \pm 0,94^{bcA}$	$11,42 \pm 0,92^{cAB}$	$15,35 \pm 0,31^{bAC}$	$18,79 \pm 0,19^{aA}$
$TBHQ_{200}$	$11,37 \pm 1,33^{aA}$	$10,15 \pm 0,84^{aB}$	$13,06 \pm 0,28^{aBC}$	$12,11 \pm 0,07^{aC}$
EL_{200}	$13,77 \pm 1,11^{bA}$	$13,56 \pm 0,33^{bA}$	$15,63 \pm 0,46^{abAC}$	$16,74 \pm 0,34^{aAB}$
$TBHQ_{100}$+EL_{100}	$14,01 \pm 1,08^{aA}$	$9,58 \pm 1,01^{bB}$	$13,27 \pm 0,48^{aABC}$	$11,09 \pm 0,41^{abC}$
ES_{200}	$14,41 \pm 0,38^{aA}$	$13,70 \pm 0,87^{aA}$	$15,71 \pm 0,12^{aA}$	$15,12 \pm 0,87^{aB}$
$TBHQ_{100}$+ES_{100}	$14,03 \pm 0,19^{aA}$	$11,99 \pm 0,29^{bAB}$	$11,12 \pm 0,91^{bB}$	$11,37 \pm 0,08^{bC}$
EL_{100}+ES_{100}	$14,14 \pm 0,89^{aA}$	$12,66 \pm 0,90^{aAB}$	$15,71 \pm 1,27^{aA}$	$15,35 \pm 1,16^{aB}$
Totox				
OG	$17,39 \pm 0,91^{dAB}$	$118,18 \pm 2,42^{cA}$	$274,52 \pm 0,31^{bA}$	$384,00 \pm 0,19^{aB}$
$TBHQ_{200}$	$16,18 \pm 1,76^{dB}$	$24,73 \pm 0,89^{cD}$	$33,69 \pm 0,49^{bC}$	$52,73 \pm 1,58^{aE}$
EL_{200}	$19,59 \pm 0,87^{dAB}$	$107,64 \pm 2,14^{cB}$	$234,98 \pm 9,82^{bB}$	$414,46 \pm 2,31^{aA}$
$TBHQ_{100}$+EL_{100}	$20,34 \pm 1,66^{bAB}$	$21,39 \pm 1,57^{bD}$	$39,73 \pm 3,45^{aC}$	$48,21 \pm 0,96^{aE}$
ES_{200}	$20,92 \pm 0,06^{dA}$	$95,64 \pm 1,54^{cC}$	$239,23 \pm 5,13^{bB}$	$336,34 \pm 7,35^{aD}$
$TBHQ_{100}$+ES_{100}	$19,64 \pm 0,77^{dAB}$	$24,01 \pm 0,62^{cD}$	$37,71 \pm 0,67^{bC}$	$50,60 \pm 1,53^{aE}$
EL_{100}+ES_{100}	$20,71 \pm 0,55^{dA}$	$101,32 \pm 2,82^{cBC}$	$248,21 \pm 1,84^{bB}$	$358,57 \pm 2,84^{aC}$

OG: óleo de girassol, $TBHQ_{200}$: OG + 200 mg/kg de TBHQ, EL_{200}: OG + 200 mg/kg de extrato liofilizado, $TBHQ_{100}$+EL_{100}: OG + 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de extrato liofilizado, ES_{200}: OG + 200 mg/kg de extrato seco, $TBHQ_{100}$+ES_{100}: OG + 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de extrato seco, EL_{100}+ES_{100}: OG + 100 mg/kg de extrato liofilizado + 100 mg/kg de extrato seco.
Médias ± desvios padrões das determinações seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem pelo teste de *Tukey* ($p > 0,05$).

Quanto maior o valor de Totox, menor a estabilidade da amostra contra a rancidez oxidativa. Os tratamentos contendo apenas extrato de louro (EL_{200}, ES_{200} e EL_{100}+ES_{100}), na análise de *p*-anisidina, foram significativamente menores que o OG ao final de 21 dias, porém, quando se observa o EL_{200}, no mesmo período, na análise de oxidação total, tem-se que este tratamento apresentou efeito pró-

oxidante, apresentando valor significativamente maior que o OG e assim demonstrando que contém maior teor de compostos provenientes da oxidação.

Os valores Totox dos tratamentos aumentaram ao longo do período de estocagem em estufa. Sendo que nenhum dos tratamentos apresentou resultado abaixo de 10, conforme referência de indicação de óleo de boa qualidade com maior estabilidade contra oxidação lipídica (CUVELIER; RICHARD; BERSET, 1996). Esta questão está diretamente relacionada ao fato de que o óleo de girassol utilizado nas análises, já apresentava valor de *p*-anisidina acima de 10 no tempo inicial da estocagem.

Segundo Dias, Menis e Jorge (2015), o óleo de soja submetido a teste de estufa acelerada a 60ºC por 20 dias, apresentou de 4,3 a 141,6 de Totox.

Estabilidade oxidativa

A análise de variância para a determinação da estabilidade oxidativa, utilizando os valores obtidos ao longo do período de estocagem acelerada em estufa, está apresentada no Apêndice F. Observa-se que o teste F foi significativo ($p < 0,01$) para os tratamentos, tempos de aquecimento e sua interação. Assim, procedeu-se ao desdobramento da interação, cujos resultados estão representados na Tabela 8.

De acordo com os dados obtidos, pode-se verificar que houve diminuição da estabilidade oxidativa ao longo dos dias, demonstrando degradação dos compostos antioxidantes nas condições em que os tratamentos foram submetidos ao longo do período de estocagem.

O OG apresentou período de indução médio de 5,97 h de estabilidade oxidativa no tempo 0. Este resultado está coerente com o encontrado por Pinheiro e Jorge (2021), onde citam o valor de 5,80 h para o óleo de girassol nas mesmas condições e com Freitas e Jorge (2021) que encontraram uma faixa de 4,56 a 7,75 h em cinco diferentes marcas analisadas. Ainda, segundo estes autores, o óleo de girassol foi o óleo refinado que apresentou menor estabilidade quando comparado aos óleos de soja, canola e milho.

No decorrer da estocagem, pode-se verificar que os tratamentos EL_{200} e ES_{200} não diferiram significativamente do OG, porém, os tratamentos EL_{100}+$TBHQ_{100}$ e ES_{100}+$TBHQ_{100}$ apresentaram maior estabilidade oxidativa nos tempos 0, 7, 14 e 21 quando comparados ao OG, demonstrando sinergismo entre os antioxidantes.

Pinheiro e Jorge (2021) avaliaram o óleo de girassol a 180ºC em um período de 15 horas e encontraram 0,66 h de estabilidade oxidativa. Rocha e Almeida (2014) estudaram os efeitos da temperatura e luminosidade nas características físico-químicas dos óleos de girassol e soja durante armazenamento e constataram menor estabilidade oxidativa do óleo de girassol em relação ao óleo de soja, e que em quatro semanas de estocagem, os tratamentos contendo óleo de girassol com controle de temperatura (temperatura ambiente) e sem exposição à luz, apresentaram 4,68 horas de estabilidade oxidativa, enquanto o óleo de soja, nas mesmas condições apresentou um total de 7,18 horas.

Tabela 8 - Estabilidade oxidativa (h) para a interação de tratamentos x tempos de estocagem em estufa a 60°C.

Tratamentos	**Tempo de estocagem (dias)**			
	0	**7**	**14**	**21**
OG	$5,97 \pm 0,16^{aC}$	$2,56 \pm 0,23^{bC}$	$0,96 \pm 0,03^{cC}$	$0,18 \pm 0,00^{dD}$
$TBHQ_{200}$	$16,56 \pm 0,08^{aA}$	$13,83 \pm 0,30^{bA}$	$11,65 \pm 0,28^{cA}$	$9,44 \pm 0,10^{dA}$
EL_{200}	$5,72 \pm 0,18^{aC}$	$3,24 \pm 0,06^{bC}$	$1,58 \pm 0,16^{cC}$	$0,37 \pm 0,04^{dD}$
$TBHQ_{100}+EL_{100}$	$11,19 \pm 0,10^{aB}$	$9,26 \pm 0,14^{bB}$	$7,72 \pm 0,45^{cB}$	$5,89 \pm 0,00^{dB}$
ES_{200}	$6,09 \pm 0,16^{aC}$	$3,29 \pm 0,31^{bC}$	$1,62 \pm 0,35^{cC}$	$0,50 \pm 0,02^{dD}$
$TBHQ_{100}+ES_{100}$	$11,39 \pm 0,15^{aB}$	$9,44 \pm 0,18^{bB}$	$7,68 \pm 0,09^{cB}$	$5,96 \pm 0,16^{dB}$
$EL_{100}+ES_{100}$	$6,00 \pm 0,11^{aC}$	$3,31 \pm 0,06^{bC}$	$1,73 \pm 0,43^{cC}$	$0,95 \pm 0,16^{cC}$

OG: óleo de girassol, $TBHQ_{200}$: OG + 200 mg/kg de TBHQ, EL_{200}: OG + 200 mg/kg de extrato liofilizado, $TBHQ_{100}+EL_{100}$: OG + 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de extrato liofilizado, ES_{200}: OG + 200 mg/kg de extrato seco, $TBHQ_{100}+ES_{100}$: OG + 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de extrato seco, $EL_{100}+ES_{100}$: OG + 100 mg/kg de extrato liofilizado + 100 mg/kg de extrato seco.
Médias ± desvios padrões das determinações seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem pelo teste de *Tukey* ($p > 0,05$).

Segundo Masuchi *et al.* (2008), a diferença no valor de estabilidade oxidativa, pode estar relacionada ao baixo teor de tocoferóis gama e ômega no óleo de girassol. Em estudo de Grilo *et al*. (2015) foi observada uma redução percentual na concentração de α-tocoferol, superior àquela observada para o γ-tocoferol nos óleos vegetais estudados (canola, girassol, milho e soja), em todos os tempos de armazenamento.

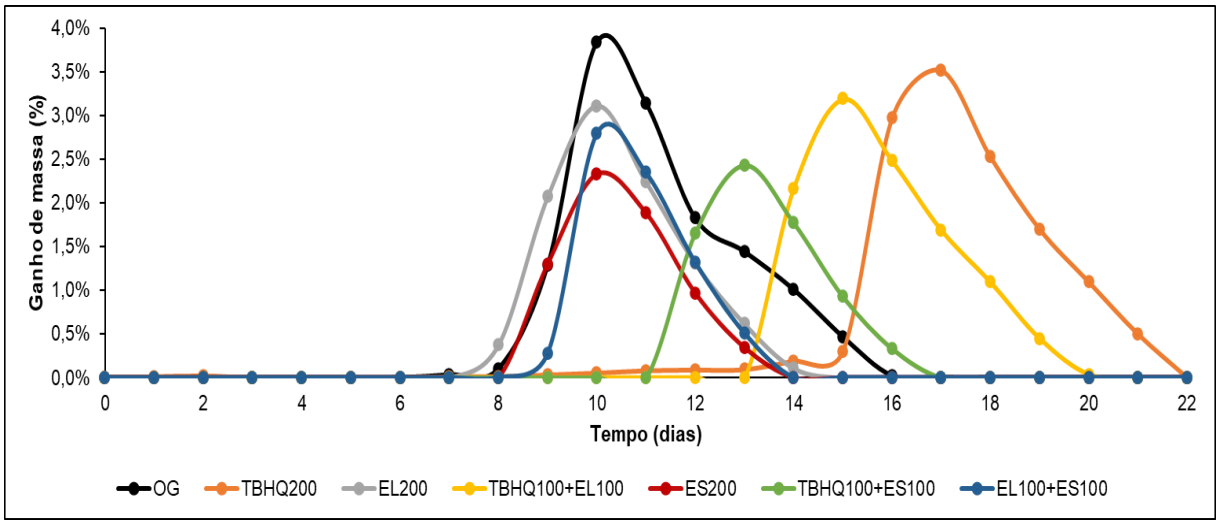
A diferença na estabilidade oxidativa dos óleos também pode estar associada ao grau de insaturação dos ácidos graxos. A presença de elevados teores de ácido linoléico, como é o caso do óleo de girassol, acarreta no aumento da velocidade de reação da oxidação (MASUCHI *et al.*, 2008)

O tratamento $TBHQ_{200}$ foi o que apresentou melhor resultado em relação à estabilidade oxidativa, sugerindo eficiência do antioxidante ao longo do período de estocagem.

Ganho de massa

A análise de variância para a determinação do ganho de massa, utilizando os valores obtidos ao longo do período de estocagem acelerada em estufa, está apresentada no Apêndice F. Observa-se que o teste F foi significativo ($p < 0,01$) para tratamentos, tempos de estocagem e sua interação. Assim, procedeu-se ao desdobramento da interação, cujos resultados estão representados no Apêndice G.

Figura 15 - Ganho de massa dos tratamentos submetidos à estocagem acelerada.



A taxa de oxidação em termos do ganho de massa foi avaliada por meio de pesagem direta dos tratamentos a cada 24 horas durante 22 dias em estocagem em estufa a 60ºC. Na Figura 15, nota-se que houve um aumento repentino da massa seguido de declínio nos tratamentos durante a estocagem. A elevação da massa ocorre dentre os primeiros estágios do processo oxidativo de óleos e gorduras devido à combinação de ácidos graxos com os hidroperóxidos formados (MATTHÄUS; HAASE; UNBEHEND, 2009). O declínio pode ser explicado pelo fato de que os produtos primários da oxidação formados durante o período de estocagem acelerada podem ser degradados em compostos de baixa massa molecular, inclusive substâncias voláteis.

Os tempos requeridos para alcançar 0,5% do aumento de massa para os tratamentos realizados com óleo de girassol foram de 8 dias para o EL_{200}, 9 dias para o OG, ES_{200} e EL_{100}+ES_{100}, 12 dias para ES_{100}+$TBHQ_{100}$, 14 dias para EL_{100}+$TBHQ_{100}$ e 16 dias para $TBHQ_{100}$.

O OG manteve-se estável até o 8° dia, seguido de aumento até o 10° dia, assumindo o máximo de 3,8% de aumento de massa, com posterior decréscimo. Os tratamentos EL_{200}, ES_{200} e EL_{100}+ES_{100}, apresentaram comportamento similar ao OG, assumindo maiores ganhos de massa em 10 dias de estocagem, com 3,1%, 2,3% e 2,8%, respectivamente.

Iqbal e Bhanger (2007) relataram que para um aumento de 0,5% no peso de óleo de girassol adicionado de extratos de alho sob estocagem em estufa a 65ºC, foram necessários 4,05 e 5,0 dias nas concentrações de 250 e 500 mg/kg de extrato, respectivamente. Quando comparado ao antioxidante sintético BHT (200 mg/kg), o tempo foi de 7,14 dias.

O tratamento $TBHQ_{200}$ foi o mais eficiente em relação à porcentagem de massa adquirida, atingindo um máximo de 3,5% de ganho de massa em 17 dias de estocagem, na sequência, os tratamentos EL_{100}+$TBHQ_{100}$ e ES_{100}+$TBHQ_{100}$, adquiriram ganhos de massa de 3,2% e 2,4%, em 15 e 13 dias, respectivamente.

Tocoferóis

A análise de tocoferóis avalia a eficiência do antioxidante durante a estocagem acelerada. As análises de variância para tocoferóis nos tratamentos, utilizando os valores obtidos ao longo do período de estocagem acelerada em estufa, estão apresentadas no Apêndice H. Observa-se que o teste F foi significativo ($p < 0,01$) para os tratamentos, tempos de aquecimento e sua interação. Assim, procedeu-se ao desdobramento da interação, cujos resultados para os óleos estão representados na Tabela 9.

A diminuição das concentrações de α-tocoferol durante o armazenamento ocorreu conforme o esperado, uma vez que o potencial antioxidante da vitamina E atua na proteção dos ácidos graxos insaturados dos óleos vegetais.

Nota-se ainda que o teor encontrado de α-tocoferol, corresponde ao teor total de tocoferóis, demonstrando que não foram detectados os demais isômeros nos tratamentos.

No estudo de Choe e Min (2006) foi observado que a concentração de tocoferóis em óleo de girassol teve uma degradação significativa em diferentes tempos de armazenamento, temperatura e exposição à luz.

Tabela 9 - Médias de tocoferóis para a interação tratamentos x tempos dos óleos submetidos a estocagem em estufa a 60ºC.

Tratamentos	Tempo de estocagem (dias)			
	0	7	14	21
α-tocoferol (mg/kg)				
OG	139,00 ± 0,14^{aF}	136,44 ± 0,04^{bF}	52,39 ± 0,03^{cG}	0,00 ± 0,00^{dG}
$TBHQ_{200}$	160,00 ± 0,11^{aC}	139,21 ± 0,10^{bD}	117,10 ± 0,14^{cC}	111,93 ± 0,11^{dC}
EL_{200}	137,92 ± 0,09^{aG}	132,03 ± 0,03^{bG}	84,71 ± 0,08^{cF}	4,95 ± 0,13^{dF}
$TBHQ_{100}$+EL_{100}	152,17 ± 0,06^{aE}	147,39 ± 0,10^{bB}	144,38 ± 0,02^{cB}	143,99 ± 0,12^{dA}
ES_{200}	164,62 ± 0,14^{aB}	142,58 ± 0,16^{bC}	108,72 ± 0,01^{cD}	32,39 ± 0,05^{dD}
$TBHQ_{100}$+ES_{100}	157,14 ± 0,07^{aD}	137,75 ± 0,08^{cE}	156,72 ± 0,12^{aA}	139,51 ± 0,26^{bB}
EL_{100}+ES_{100}	175,79 ± 0,16^{aA}	149,93 ± 0,08^{bA}	104,82 ± 0,03^{cE}	19,79 ± 0,03^{dE}
Tocoferóis totais (mg/kg)				
OG	139,00 ± 0,14^{aF}	136,44 ± 0,04^{bF}	52,39 ± 0,03^{cG}	0,00 ± 0,00^{dG}
$TBHQ_{200}$	160,00 ± 0,11^{aC}	139,21 ± 0,10^{bD}	117,10 ± 0,14^{cC}	111,93 ± 0,11^{dC}
EL_{200}	137,92 ± 0,09^{aG}	132,03 ± 0,03^{bG}	84,71 ± 0,08^{cF}	4,95 ± 0,13^{dF}
$TBHQ_{100}$+EL_{100}	152,17 ± 0,06^{aE}	147,39 ± 0,10^{bB}	144,38 ± 0,02^{cB}	143,99 ± 0,12^{dA}
ES_{200}	164,62 ± 0,14^{aB}	142,58 ± 0,16^{bC}	108,72 ± 0,01^{cD}	32,39 ± 0,05^{dD}
$TBHQ_{100}$+ES_{100}	157,14 ± 0,07^{aD}	137,75 ± 0,08^{cE}	156,72 ± 0,12^{aA}	139,51 ± 0,26^{bB}
EL_{100}+ES_{100}	175,79 ± 0,16^{aA}	149,93 ± 0,08^{bA}	104,82 ± 0,03^{cE}	19,79 ± 0,03^{dE}
Vitamina E (UI/kg)				
OG	152,92 ± 0,16^{aF}	150,10 ± 0,05^{bF}	57,63 ± 0,03^{cG}	0,00 ± 0,00^{dG}
$TBHQ_{200}$	176,01 ± 0,12^{aC}	153,15 ± 0,11^{bD}	128,82 ± 0,16^{cC}	123,14 ± 0,12^{dC}
EL_{200}	151,72 ± 0,10^{aG}	145,25 ± 0,03^{bG}	93,19 ± 0,09^{cF}	5,45 ± 0,14^{dF}
$TBHQ_{100}$+EL_{100}	167,40 ± 0,06^{aE}	162,15 ± 0,11^{bB}	158,83 ± 0,02^{cB}	158,40 ± 0,13^{dA}
ES_{200}	181,10 ± 0,16^{aB}	156,85 ± 0,18^{bC}	119,60 ± 0,01^{cD}	35,63 ± 0,05^{dD}
$TBHQ_{100}$+ES_{100}	172,87 ± 0,08^{aD}	151,54 ± 0,09^{dE}	172,40 ± 0,13^{aA}	153,47 ± 0,29^{bB}
EL_{100}+ES_{100}	193,39 ± 0,17^{aA}	164,94 ± 0,09^{bA}	115,31 ± 0,03^{cE}	21,77 ± 0,03^{dE}

OG: óleo de girassol, $TBHQ_{200}$: OG + 200 mg/kg de TBHQ, EL_{200}: OG + 200 mg/kg de extrato liofilizado, $TBHQ_{100}$+EL_{100}: OG + 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de extrato liofilizado, ES_{200}: OG + 200 mg/kg de extrato seco, $TBHQ_{100}$+ES_{100}: OG + 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de extrato seco, EL_{100}+ES_{100}: OG + 100 mg/kg de extrato liofilizado + 100 mg/kg de extrato seco.
Médias ± desvios padrões das determinações seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Freitas e Jorge (2021) analisaram diferentes óleos vegetais quanto aos teores de tocoferóis e observaram que o óleo de girassol refinado apresentou menores índices de estabilidade oxidativa em relação aos demais, devido, principalmente, ao fato de o ácido linoleico estar presente neste óleo em quantidade considerável e então propiciar a oxidação. A quantidade muito baixa ou inexistente de γ- e δ-

também contribuíram para menor estabilidade oxidativa do óleo. O mesmo foi observado por Silva *et al*. (2010) ao analisar óleos de soja, milho e girassol refinados. Ausência ou baixo teor dos isômeros γ- e δ- tocoferóis no óleo pode contribuir para a baixa estabilidade oxidativa.

A quantidade de α-tocofoerol revelada para o OG foi mais baixa que o encontrado por Cavalcanti (2020), que detectou um total de 205,54 mg/kg no tempo inicial.

Conforme Tabelas 9 e 10, o tratamento $TBHQ_{100}$+EL_{100} foi o que apresentou maior teor de α-tocoferol ao final de 21 dias de estocagem com 94,6% de retenção, seguido dos tratamentos $TBHQ_{100}$+ES_{100} e $TBHQ_{200}$, com 88,8% e 70%, respectivamente. Nota-se que a combinação de antioxidantes, apresentou maior retenção de tocoferóis que o tratamento contendo apenas TBHQ, demonstrando sinergismo entre os componentes sintético e natural.

Tabela 10 - Teor de α-tocoferol residual (%) do óleo de girassol adicionado de antioxidantes.

Tratamentos	**Tempo de estocagem (dias)**			
	0	**7**	**14**	**21**
OG	100	98,16	37,69	0,00
$TBHQ_{200}$	100	87,01	73,19	69,96
EL_{200}	100	95,73	61,42	3,59
$TBHQ_{100}$+EL_{100}	100	96,86	94,88	94,62
ES_{200}	100	86,61	66,04	19,68
$TBHQ_{100}$+ES_{100}	100	87,66	99,73	88,78
EL_{100}+ES_{100}	100	85,29	59,63	11,26

OG: óleo de girassol, $TBHQ_{200}$: OG + 200 mg/kg de TBHQ, EL_{200}: OG + 200 mg/kg de extrato liofilizado, $TBHQ_{100}$+EL_{100}: OG + 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de extrato liofilizado, ES_{200}: OG + 200 mg/kg de extrato seco, $TBHQ_{100}$+ES_{100}: OG + 100 mg/kg de TBHQ + 100 mg/kg de extrato seco, EL_{100}+ES_{100}: OG + 100 mg/kg de extrato liofilizado + 100 mg/kg de extrato seco.

Aos 14 dias de estocagem, os tratamentos contendo extratos naturais isoladamente reteram mais de 50% dos tocoferóis presentes no óleo, enquanto o OG reteve 37,69%. Ao final de 21 dias, o OG não apresentou quantidade significativa de α-tocoferol, demonstrando degradação do mesmo ao longo dos dias.

Segundo Brewer (2011), a atividade antioxidante de γ-tocoferol é cerca de duas vezes maior que o α-tocoferol, no entanto, diminui à medida que a temperatura aumenta, principalmente acima de 110ºC e ambos perdem sua atividade acima de 150ºC.

Masuchi *et al*. (2008) encontraram de 8 a 50% de perdas de tocoferol para o óleo de girassol e concluíram, que mesmo sendo um componente minoritário, as condições de processamento podem afetar diretamente o teor de tocoferóis.

Os tratamentos contendo apenas extrato de louro, obtiveram resultados melhores na preservação do α-tocoferol quando comparado com OG, sendo que o ES_{200} obteve 19,7% de retenção aos 21 dias e foi significativamente maior que o EL_{200} e EL_{100}+ES_{100}. O mesmo comportamento é observado nas análises de vitamina E.

6. CONCLUSÕES

Mediante as análises realizadas, pode-se concluir que os extratos etanólicos de louro apresentaram considerável teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante comprovada pelas análises de DPPH, FRAP e radical ABTS.

Observou-se aumento dos compostos primários da oxidação nos tratamentos ao longo da estocagem em estufa, sendo que aqueles contendo TBHQ, isoladamente ou combinado com os extratos de louro, foram os que apresentaram menores teores de dienos conjugados e peróxidos quando comparados com o óleo de girassol. Em relação aos compostos secundários, com 21 dias de estocagem acelerada em estufa notou-se menor índice de *p*-anisidina nos tratamentos contendo antioxidante TBHQ. Os tratamentos contendo apenas extratos naturais apresentaram menores valores de oxidação total que o OG até 14 dias de estocagem. Aos 21 dias, os tratamentos com TBHQ demonstraram maior estabilidade.

Entre os extratos liofilizado e seco em estufa, não houve diferença significativa nas determinações analíticas realizadas, com exceção da análise de retenção de tocoferóis, em que o ES apresentou resultados mais satisfatórios que o EL.

A combinação de extratos naturais e antioxidante sintético apresentaram maior percentual de retenção de tocoferóis, sendo significativamente maiores que os tratamentos contendo apenas TBHQ, contendo apenas extratos e o OG, demonstrando sinergismo entre os antioxidantes.

As análises demonstraram efeito sinérgico entre os antioxidantes, tornando possível a substituição parcial do TBHQ por extrato natural no óleo de girassol.

REFERÊNCIAS

ALBAYRAK, S.; AKSOY, A.; SAGDIC, O. Antioxidant and antimicrobial activities of different extracts of some medicinal herbs consumed as tea and spices in Turkey. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v. 36, p. 547-554, 2012.

ALEJO-ARMIJO, A.; ALTAREJOS, J.; SALIDO, S. Phytochemicals and biological activities of Laurel tree (*Laurus nobilis*). **Natural Product Communications**, Columbus, v. 12, n. 5, p. 743-757, 2017.

ANDREO, D.; JORGE, N. Avaliação da capacidade antioxidante do extrato de gengibre (*Gengiber officinale*) adicionado ao óleo de soja em teste de estocagem acelerada. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 2, p. 152-157, 2007.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Avaliação do óleo de girassol adicionado de antioxidantes sob estocagem. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 498-502, 2008.

ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos,** Curitiba, v. 19, n. 2, p. 353-380, 2001.

AOCS. AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY*.* **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society***.* Chicago: AOCS, 2009.

BAILEY, A. E.; **Bailey's industrial oil and fat products**, 5th ed, John Wiley: New York, 1996, vol. 3.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, London, v. 99, p. 191-203, 2006.

BALLEN, S. C.; RIGO, D.; PALIGA, M.; PUTON, B.; CANSIAN, R. L.; PAROUL, N. Determinação do potencial antioxidante (DPPH) e antimicrobiano de extratos vegetais e óleo essencial de louro (*Laurus nobilis*). **Perspectiva**, Erechim, v. 43, n. 163, p. 61-70, 2019.

BANDYOPADHYAY, M.; CHAKRABORTY, R.; RAYCHAUDHURI, U. Antioxidant activity of natural plant sources in dairy dessert (Sandesh) under thermal treatment. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 41, n. 5, p. 816-825, 2008.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4ª Ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BARDEN, L.; DECKER, E. A. Lipid oxidation in low-moisture food: a review. **Food Science and Nutrition**, London, v. 56, n. 15, p. 2467-2482, 2016.

BARON, L. F.; PAZINATTO, R., BARON, C. P. Oxidação de lipídeos e as implicações na nutrição e saúde de animais de produção. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 1-9, 2020.

BARTWAL, A.; MALL, R.; LOHANI, P.; GURU, S. K.; ARORA, S. Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. **Journal Plant Growth Regulation**, Durhan, n. 32, p. 216-232, 2013.

BASANTA, M. F.; RIZZO, S. A.; SZERMAN, N.; VAUDAGNA, S. R.; DESCALZO, A. M.; GERSCHENSON, L. N.; PÉREZA, C. D.; ROJAS, A. M. Plum (*Prunus salicina*) peel and Pulp microparticles as natural antioxidant additives in breast chicken patties. **Elsevier**, Amsterdam, v. 106, p. 1086-1094, 2018.

BELITZ, H. D.; GROSH, W.; SCHIEBERLE, P. Water. In: BELITZ, H. D.; GROSH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. 4 ed. Hamburgo: Springer, 2009, p. 3-5.

BERGER, K. G.; HAMILTON, R. J. **Developments in oils and fats**. Hamilton, R.J., ed.; Champman & Hall: London, 1995, cap 7.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, 123-130, 1999.

BORRMANN, D. **Efeito do déficit hídrico em características químicas e bioquímicas da soja e na degradação da clorofila, com ênfase na formação de metabólitos incolores.** Orientadora: Ursula Marifa Lanfer Marquez, 2009. 125 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2009.

BRASIL. Instrução Normativa nº 87, de 15 de março de 2021. Estabelece a lista de espécies vegetais autorizadas, as designações, a composição de ácidos graxos e os valores máximos de acidez e de índice de peróxidos para óleos e gorduras vegetais.

BRASIL. Resolução RDC nº 23, de 15 de fevereiro de 2005. Aprova “Regulamento Técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos óleos e gorduras - subcategoria creme vegetal e margarinas”.

BREWER, M. S. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 10, p. 221-247, 2011.

BURTON, G. W.; INGOLD, K. U. Vitamin E: application of the principles of phyical organic chemistry to the exploration of its structure and function. **American Chemical Society**, Ontario, n. 19, p. 194-201, 1986.

CARVALHO, A. L. S.; MARTELLI, M. C.; NASCIMENTO, S., C. C.; BRASIL, D. S. B. Óleo de Castanha-do-Brasil: métodos de extração e aplicações na indústria. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 11, n. 4. P. 1-18, 2022.

CARVALHO, L. M.; CARVALHO, H. W. L.; CARVALHO, C. G. P. Yield and photosynthetic atributes of sunflower cultivars grown under supplemental irrigation in the semiarid region of the Brazilian Northeast. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 55, n. 01715, p. 1-9, 2020.

CASTRO, V. R.; FURTADO, M. C. S.; BERMÚDEZ, V. M. S.; SILVA, E. F.; NASCIMENTO, V. L. V. Avaliação da qualidade oleoquímica das sementes de gergelim (*Sesamum indicum*) e girassol (*Helianthus anuus*). **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 10, n. 7, p. 1-10, 2021.

CAVALCANTI, C. F. **Constituintes fenólicos de ervas e especiarias: um estudo das propriedades antioxidantes do efeito nos parâmetros físico-químicos de estabilidade do óleo de girassol (*Helianthus annus L*.).** Orientadora: Antõnia Lúcia de Souza, co-orientador: Hugo Miguel Lisboa Oliveira, 2020. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.

CEAGESP. Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo, Guia CEAGESP: **Louro.** São Paulo, 2021.

CERT, A.; MOREDA, W.; PEREZ-CAMINO, M. C. Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 881, n. 1-2, p. 131-148, 2000.

CHAIYASIT, W.; ELIAS, R. J., JULIAN, D. M., DECKER, E. A. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. **Critical reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 47, n. 3, p. 299-317, 2007.

CHENG, Z.; JEFFREY, M.; LIANGLI, Y. Hight-Throughput Relative DPPH Radical Scavenging Capacity Assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 54, n. 20, p. 7429-7436, 2006.

CHIPAULT, J. H.; MIZUNO, G. R.; HAWKINS, J. M.; LUNDBERG, W. O. The antioxidant properties of natural spices. **Journal of Food Science,** Chicago, v. 17, n. 66, p. 46-55, 1952.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 5, n. 4, p. 169-186, 2006.

CODEX ALIMENTARIUM COMMISSION. **Codex Stan 210-1999: codex standard for named vegetable oils.** Rome, 2009.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento, Brasília, 2022.Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/custos-de-producao/planilhas-de-custo-de-producao/item/16292-serie-historica-custos-girassol-1-e-2-safras-2013-a-2020. Acesso em: 30 maio 2022.

CONFORTI, F.; STATTI, G.; UZUNOV, D.; MENICHINI, F. Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* sbsp*. Piperium* (Ucria) Coutinho seeds. **Pharmaceutical Society of Japan**, Tokyo, v. 29, n. 10, p. 2056-2064, 2006.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1984. p. 686-689.

CORSINI, M. S.; JORGE, N. Alterações oxidativa em óleos de algodão, girassol e palma utilizados em frituras de mandioca palito congelada. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 1, p. 25-34, 2006.

CORTEZ, M. V.; PEROVIC, N. R.; SORIA, E. A.; DEFAGÓ, M. D. Effect of heat and microwave treatments on phenoloic compounds and fatty acids of turmeric (*Curcuma longa L*.) and saffron (*Crocus sativus L.)*. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 23, p. 1-7, 2020.

CUVELIER, M. L.; RICHARD, H.; BERSET, C. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extract of sage and rosemary. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 73, n. 5, p. 645-652, 1996.

DALL'ACQUA, S.; CERVELLATI, R.; SPERONI, E.; COSTA, S.; GUERRA, M. C.; STELLA, L.; GRECO, E.; INNOCENTI, G. Phytochemical composition and antioxidante activity of *Laurus nobilis* L. leaf infusion. **Journal of Medicinal Food**, Larchmont, v. 12, n. 4, p. 869-876, 2009.

DERGAL, S.B. **Química de los alimentos.** 4. ed. México: Pearson Educación de México, 2006.

DIAS, L. S.; MENIS, M. E. C.; JORGE, N. Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extracts on the oxidative stability and sensory acceptability of soybean oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 95, n. 10, p. 2021-2027, 2015.

DIAS, M. I.; BARROS, L. DUEÑAS, M.; ALVES, R. C.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I. C. F. R. Nutritional and antioxidant contributions of *Laurus nobilis* L. leaves: Would be more suitable a wild or a cultivated sample?. **Food Chemistry**, London, v. 156, p. 339-346, 2014.

DIJKSTRA, A. J. **Vegetable oils: Composition and analysis**. In: SMITHERS, G. (Ed). Reference module in food science. 1 ed. Amsterdam: Elsevier, 2016. p. 357-386.

DOBROSLAVIĆ, E.; GAROFULIĆ, I. E.; ZORIĆ, Z.; PEDISIĆ, S.; DRAGOVIĆ-UZELAC, V. Polyphenolic characterization and antioxidant capacity of *Laurus nobilis* L. leaf extracts obtained by green and conventional extraction techniques. **Processes**, Chicago, v. 9, n. 10, p. 1-18, 2021.

DUARTE, M. R.; OLIVEIRA, G. C. Macro and microscopic characters of the bay leaf (*Laurus nobilis* L., Lauraceae). **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2006.

EMAM, A. M.; MOHAMED, M. A.; DIAB, Y. M.; MEGALLY, N. Y. Isolation and structure elucidation of antioxidant compounds from leaves of *Laurus nobilis* and *Emex spinosus*. **Drug Discovery & Therapeutics,** Tokyo, v. 4, n. 3, p. 202-207, 2010.

EVANS, C. D.; LIST, G. R.; MOSER, H. A.; COWAN, J. C. Long-term storage of soybean and cotton salad oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 50, n. 28, 218-222, 1973.

FALLER, A. L.; FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 43, n. 2, p. 211-218, 2009.

FARHOOSH, R.; EINAFSHAR, S.; SHARAYEI, P. The effect of commercial refining steps on the rancidity measures of soybean and canola oils. **Food Chemistry**, London, v. 115, n. 3, p. 933-938, 2009.

FELLENBERG, M. A.; CARLOS, F.; PEÑA, I.; IBÁÑEZ, R. A.; VARGAS-BELLO-PÉREZ, E. Oxidative quality and color variation during refrigeration (4ºC) of rainbow trout fillets marinated with different natural antioxidants from oregano, quillaia and rosemary. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 29, p. 43-54, 2020.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FRANKEL, E. N. In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. **Trends in Food Science & Technology**, California, v. 4, n. 7, p. 220-225, 1993.

FREIRE, P. C. M.; MANCINI-FILHO, J.; FERREIRA, T. A. P. C. Principais alterações físico-químicas em óleos e gorduras submetidos ao processo de fritura por imersão: regulamentação e efeitos na saúde. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 26, n. 3, 353-368, 2013.

FREITAS, I. R. **Caracterização físico-química e avaliação dos compostos bioativos de óleos brutos e refinados de soja, canola, milho e girassol.** Orientadora: Neuza Jorge, 2015. 154 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2015.

FREITAS, I. R.; JORGE, N. Avaliação dos compostos bioativos de óleos brutos de soja, canola, milho e girassol. In: Carlos Alberto Martins Cordeiro, Evaldo Martins da Silva, Norma Suely Evangelista-Barreto. (Org.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos: pesquisa e práticas contemporâneas** - Volume 2. 1ª ed. Guarujá-SP: Editora Científica Digital, 2021, v. 2, p. 193-210.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperna*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.

GERTZ, C.; KOCHHAR, S. P. A new method to determine oxidative stability of vegetable fats and oils at simulated frying temperature. **Oléagineux Corps Gras Lipides**, Montrouge, v. 8, n. 1, p. 82-88, 2001.

GORDON, M. H. The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In: HUDSON, B. J. F. (Ed.). **Food antioxidants**. London: Elsevier Applied Science, 1990. p. 1-18.

GRILO, E. C.; COSTA, P. N.; GURGEL, C. S. S.; BEZERRA, D. F.; BELLOT, P. E. N. R.; DIMENSTEIN, R. Influence of the storage time on the concentration of alpha-tocopherol and gamma-tocopherol in vegetable oils. **Revista Instituto Adolfo Lutz**,

São Paulo, v. 74, n. 3, p. 216-224, 2015.

GUINAZI, M.; MILAGRES, R. C. R. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; CHAVES, J. B. P. Tocoferois e tocotrienois em óleos vegetais e ovos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 8, p. 2098-2103, 2009.

GÜLÇIN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology,** Berlin, v. 86, n. 3, p. 345-391, 2012.

GUNSTONE, F. D. **Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses**. 2 ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2011, p. 376.

HADORN, H.; ZTIRCHER, K. (1974). Zur bestimmung der oxydationstabilitãt von olen und fetten. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, Rundschau, v. 70, n. 2, p. 57-65, 1974.

HATANO, T.; KAGAWA, H.; YASUHARA, T.; OKUDA, T. Two news flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 36, n. 6, p. 2090-2097, 1988.

HELENO, S. A.; BARROS, L.; SOUSA, M. J.; MARTIN, A.; FERREIRA, I. C. F. R. Tocopherols composition of Portuguese wild mushrooms with antioxidant capacity. **Food Chemistry**, London, v. 119, n. 4, p. 1443-1450, 2010.

HIROMOTO, P. J.; UMEDA, W. M.; JORGE, N. Antioxidant activity of phenolic compounds in ethanolic extract of *Hibiscus sabdariffa* L. on oxidative stability of soybean oil. **Current Bioactive Compounds**, Sharjah, v. 17, n. 10, p. 15-21, 2021.

INAN, Ö.; ÖZCAN, M. M.; JUHAIMI, F. Y. A. Antioxidant effect of mint, laurel and myrtle leaves essential oils on pomegranate kernel, poppy, grape and linseed oils. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 27, p. 151-154, 2012.

IQBAL, S.; BHANGER, M. I. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 1, p. 246-254, 2007.

JORGE, N.; SOARES, B. B. P.; LUNARDI, V. M.; MALACRIDA, C. R. Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho e soja em frituras. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 6, p. 947-951, 2005.

JORGE, T. S.; POLACHINI, T. C.; DIAS, L. S.; JORGE, N.; ROMERO, J. T. Physicochemical and rheological characterization of avocado oils. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 39, n. 4, p. 390-400, 2015.

KHODJA, Y. K.; DAHMOUNE, F.; BACHIR, M.; MADANI, K.; KHETTAL, B. Conventional method and microwave drying kinetics of *Laurus nobilis* leaves: effetcts on phenolic compounds and antioxidant activity. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 23, n. 2019214, 2020.

KORKMAZ, F.; ARSLAN, A.; BARAN, A. Effect of treatment with sunflower oil and in comnination with pomegranate and plum sauce on the chemical, microbiological and

sensory properties of marinated Carp fillets (*Cyprinus carpio*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 51, n. 4, p. 1-9, 2021.

KUMAR, N. Oxidative stability of biodiesel: causes, effects and prevention. **Fuel**, Belgium, v. 190, p. 328-350, 2017.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LEANDRO, R. I.; GOMES, P. L.; SANTOS, V. J. N.; MOREIRA, E. F.; MENEZES, C. W. G.; FILHO, A. G. Desenvolvimento vegetativo do girassol submetido a níveis de boro. **EMBRAPA Soja**, Londrina, v. 21, n. 395, p. 2176-2937, 2017.

LEANDRO, R. I.; MENEZES, C. W. G.; GOMES, A; GOMES, P. L.; PACHECO, D. D.; CARVALHO, C. G. P. Sunflower subjected to boron doses in the semi-arid from Northern Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias,** Recife, v.15, n. 3, p.1-7, 2020

LEE, E. J.; AHN, D. U. Production of volatiles from fatty acids and oils by irradiation. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 1, p. 70-75, 2003.

LI, H.; JIANG, Y.; WONG, C.; CHEN, F. Evaluation of two methods for the extraction of antioxidants from medicinal plants. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 388, n. 2, p. 483-488, 2007.

LUCENA, D. M.; AMÂNCIO, G. C. S.; MORAIS, H. A. Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de extratos de louro (*Laurus nobilis L.).* **Revista Sociedade Científica**, Pelotas, v. 3, n. 8, p. 1-19, 2020.

MASOOD. S.; REHMAN, A.; IHSAN, M. A.; SHAHZAD, K.; SABIR, M.; ALAM, S.; AHMED, W.; SHAH, Z. H.; ALGHABARI, F.; MEHMOOD, A.; CHUNG, G. Antioxidant potencial and α-glucosidase inhibitory activity of onion (*Allium cepa* L.) peel and bulb extracts. **Brazilian Journal of Biology**, Rio de Janeiro, v. 83, n. 247168, p. 1678-4375, 2021.

MASUCHI, M. H.; CELEGHINI, R. M. S.; GONÇALVES, L. A. G; GRIMALDI, R. Quantificação de TBHQ (terc butil hidroquinina) e avaliação da estabilidade oxidativa em óleos de girassol comerciais. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1053-1057, 2008.

MATTHÄUS, B.; HAASE, N. U.; UNBEHEND, G. Chemical and sensory characteristics of products fried in high-oleic, low-linolenic rapeseed oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 86, n. 8, p. 799-808, 2009.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MITTERER-DALTOÉ, M.; BORDIM, J.; LISE, C.; BREDA, L.; CASAGRANDE, M.; LIMA, V. Consumer awareness of food antioxidants. Synthetic *vs*. natural. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 41, n. 1, p. 208-212, 2021.

MØLLER, J. K. S.; MADSEN, H. L.; AALTONEN, T.; SKIBSTED, L. H. Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water-extractable antioxidants. **Food Chemistry**, London, v. 64, n. 2, p. 215-219, 1998.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B., COSTA, S. M. O.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Seropédica. v. 19, n. 1B, p. 315-320, 2009.

MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L.; KUSKOSKI, E. **Introdução à ciência de alimentos**. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2002. 255p

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NÚŇEZ, M., J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, London, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.

MSSILLOU, I.; AGOUR, A.; GHOUIZI, A.; HAMAMOUCH, N.; LYOUSSI, B.; DERWICH, E. Effects os essencial oil from *Laurus nobilis* L. flowers growing in Marocco. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 2020, p. 1-8, 2020.

MUNDER, S.; ARGYROPOULOS, D. MULLER, J. Class-based physical properties of air-classified sunflower seeds and kernels. **Biosystems Engineering**, New York, v. 164, p. 124-134, 2017.

NAYAK, A. BHUSHAN, B.; ROSALES, A.; TURIENZA, R.; CORTINA, J. L. Valorisation potential of Cabernet grape pomace for the recovery of polyphenols: process intensification, optimisation and study of kinetics. **Food and Bioproducts Processing**, Rugby, v. 109, p. 74-85, 2018.

NORA, B.; IYNDA, R.; HENCHIRI, C. Analysis of bioactive minor compounds in three olive oils from varieties of olive tree Eastern Algerian (Bouricha, Limli and Blanquette). **Journal of Natural Remedies**, Bangalore, v. 16, n. 4, p.153-164, 2016.

OKARTER, N.; LIU, C.-S.; SORRELLS, M. E.; LIU, R. H. Phytochemical content and antioxidant activity of six diverse varieties of whole wheat. **Food Chemistry**, London, v. 119, n. 1, p. 249-257, 2010.

OKTAY, M.; GÜLÇIN, I.; KÜFREVIOĞLU, O. I. Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. **Swiss Society of Food Science and Technology**, Lebensm, v. 36, p. 263-271, 2003.

OLIVEIRA, M. F.; VIEIRA, O. V. Extração de óleo de girassol utilizando miniprensa. **EMBRAPA Soja**, Londrina, v. 1, n. 237, p. 1-27, 2004.

OLIVEIRA, M. S.; DORS, G. C.; SOUZA-SOARES, L. A.; BADIALE-FURLONG, E. Atividade antioxidante e antifúngica de extratos vegetais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 267-275, 2007.

ORDOUDI, S. A.; PAPAPOSTOLOU, M.; NENADIS, N.; MANTZOURIDOU, F. T.; TSIMIDOU, M. Z. Bay laurel (*Laurus nobilis* L.) essential oil as a food preservative source: chemistry, quality control, activity assessment, and applications to olive industry products. **Foods**, Basel, v. 11, n. 752, p. 1-24, 2022.

OUCHIKH, O.; CHAHED, T.; KSOURI, R.; TAARIT, M. B.; FALEH, H.; ABDELLY, C.; KCHOUK, M. E.; MARZOUK, B. The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 24, n. 1, p. 103-110, 2011.

PAPARELLA, A.; NAWADE, B.; SHALTIEL-HARPAZ, L. IBDAH, M. A review os the botany, volatile composition, biochemical and molecular aspects, and traditional uses of *Laurus nobilis*. **Plants**, Basel, v. 11, n. 9, p. 1-24, 2022.

PEREIRA, L. C. **Caracterização química de folhas e atividade antioxidante de extratos de *Laurus* sp**. Orientadoras: Beatriz Oliveira e Ligia Ribeiro Salgueiro Silva Couto, 2014. 78 f. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2014.

PEREZ, E. E.; CARELLI, A. A.; CRAPISTE, H. G. Chemical characterization of oil and meals from wild sunflower (*Helianthus petiolaris Nutt)*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 81, n. 3, p. 245-249, 2004.

PINELO, M.; RODRÍGUEZ, A. R.; SINEIRO, J.; SEÑORÁNS, F. J.; REGLERO, G.; NÚÑEZ, M. J. Supercritical fluid and solid-liquid extraction of phenolic antioxidants from grape pomace: a comparative study. **European Food Research and Technology**, Berlin, 226., n. 1, p. 199-205, 2007.

PINHEIRO, A. A. **Avaliação da qualidade físico-química de óleos compostos por soja, girassol médio oleico e coco sob elevadas temperaturas**. Orientadora: Neuza Jorge, 2019. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São José do Rio Preto, 2019.

PINHEIRO, A. A.; JORGE, N. Physicochemical evaluation of oil blends of *Glycine max* L., *Helianthus annus* L. and *Cocos nucifera* L. under thermoxidation. **Acta Brasiliensis**, Campina Grande, v. 5, p. 51-56, 2021.

PITARO, S. P.; FIORANI, L. V.; JORGE, N. Potencial antioxidante dos extratos de manjericão (*Ocimum basilicum* Lamiacear) e orégano (*Origanum vulgare* Lamiaceae) em óleo de soja. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 686-691, 2012.

PIZARRO, C.; ESTEBAN-DÍEZ, I.; RODRÍGUEZ-TECEDOR, S.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M. Determination of the peroxide value in extra virgin olive oils through the application of the stepwise orthogonalisation of predictors to mid-infrared spectra. **Food Control**, Surrey, v. 34, n. 1, p. 158-167, 2013.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of *Brassica* vegetables. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 40, n. 1, p. 1-11, 2007.

POKORNY, J. Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic

antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 109, n. 6, p. 629-642, 2007.

PRADAL, D.; VAUCHEL, P.; DECOSSIN, S.; DHULSTER, P.; DIMITROV, K. Kinetics of ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from food by-products: extraction and energy consumption optimization. **Ultrasonics Sonochemistry**, Oxford, v. 32, p. 137-146, 2016.

PROENÇA, C. A.; RIBEIRO, J. A.; ROQUE, O. R. (Eds.). **Plantas aromáticas em Portugal: caracterização e utilizações**. 2ª Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2009.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RAMOS, C.; TEIXEIRA, B.; BATISTA, I.; MATOS, O.; SERRANO, C.; NENG, N. R.; NOGUEIRA, J. M. F.; NUNES, M. L.; MARQUES, A. Antioxidant and antibacterial activity of essential oil and extracts of bay laurel *Laurus nobilis* Linnaeus (Lauraceae) from Portugal. **Natural Product Research**, Abingdon, v. 26, n. 6, p. 518-529, 2012.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RIVE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cátion decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

RIBEIRO, P. F. F. A. C. **Processo de liofilização de produtos alimentares perecíveis.** Orientadores Antônio Manuel Matos Guerra e Francisco Manuel Gonçalves dos Santos, 2012. 117 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica). Instituto Superior de Engenharia de Lisboa. Lisboa, 2012.

ROCHA, N. C.; ALMEIDA, F. D. L. Efeitos da temperatura e da luminosidade nas características físico-químicas dos óleos de soja e de girassol durante o armazenamento. **Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, Fortaleza, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2014.

ROHOD, R. V.; GARCIA, E. R. M.; LARA, J. A. F. Natural extracts marination in Chicken breast fillets. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 53, n. 2, p. 1-11, 2023.

ROMANI, V. P.; MARTINS, V. G.; SOARES, L. A. S. Oxidação lipídica e compostos fenólicos como antioxidantes em embalagens ativas para alimentos. **Vetor**, Rio Grande, v. 27, n. 1, p. 38-56, 2017.

SANTOS, D. N. **Extração com dióxido de carbono supercrítico e estudo da composição dos extratos de semesnte de Pitanga (*Eugenia iniflora L.)*** Orientadora: Alessandra Lopes de Oliveira, 2012. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

SCHAICH, K. M.; ESKIN, M.; SHAHIDI, F.; ZHONG, Y.; ESKIN, N. A. M. Lipid oxidation. *In*: **Biochemistry of foods**. 3 ed. London: Elsevier, 2013. p. 419-47.

SEAPA. Secretaria de Estado de Agricultua, pecuária e abastecimento. **Agricultura**, Belo Horizonte, 2021.

SHAHIDI F. **Bailey's industrial oil & fats products**. 6 ed. Mew York: John Wiley & Sons, p. 3616, 2005.

SHIMANO, M. Y. H. **Ação antioxidante de extratos de especiarias e suas misturas binárias e temárias sobre a estabilidade oxidativa de óleo de soja.** Orientadora: Thais Maria Ferreira de Souza Vieira, 2012. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

SHIRAHIGUE, L. D.; CECCATO-ANTONINI, S. R. Resíduos agroindustriais como fontes de compostos bioativos para indústris de alimentos e fermentação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 50, n. 4, p. 1-17, 2020.

SILVA, E. M.; SILVA, E. J. F.; OLIVEIRA, R. B.; SILVA, A. F. Prospecção no âmbito da produção de antioxidantes naturais para a inserção no mercado alimentício. **Cadernos de Prospecção**, Salvador, v. 15, n. 1, p. 245-260, 2022.

SILVA, E. S.; SOARES, F. M.; BARROS, J. R.; CONSTANT, P. B. L. Conservação de alimentos pelo uso de aditivos: uma revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 37, n. 2, p. 18-29, 2019.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SILVA, J. S.; ZILLY, A.; SILVA, R. M. M.; LIBRELOTTO, C. S.; FERREIRA, H. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo de girassol: Respaldo para a enfermagem. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 10, n. 9, p. 1-6, 2021.

SILVA, L. M. **Determinação da estabilidade de óleos e de compostos com actividade anti-aterosclerótica do azeite durante o processamento de alimentos**. Orientadora: Fátima Paiva, 2008. 144 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto, 2008.

SILVA, L.; PINTO, J.; CARROLA, J.; PAIVA-MARTINS, F. Oxidative stability of olive oil after food processing and comparison with other vegetable oils. **Food Chemistry**, London, v. 121, n. 4, p.1177-1187, 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI JR, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture,** Davis, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOARES, S. E. Phenolic acids as antioxidants. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A.; KARLOVITS, G.; DIANOCZKI, C.; RECSEG, K.; SZŁYK, E. Comparison of two analytical methods for assessing antioxidante capacity of rapeseed and olive oils. **Journal of The American Oil Chemists´Society**,

Chicago, v. 85, n. 2, p. 141-149, 2008.

TAKEMOTO, E.; TEIXEIRA FILHO, J.; GODOY, H. T.,Validation of methodology for the simultaneous determination of synthetic antioxidants in vegetables oils, margarine and vegetables hydrogenated fats by HPLC/UV. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 1189-1194, 2009.

TAROQ, A.; KAMARI, F.; AOUAM, I.; ATKI, Y., LYOUSSI, B.; ABDELLAOUI, A. Antioxidant activities and total phenolic and flavonoid content variations of leaf extracts of *Laurus nobilis l*. from marrocco. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, Marrocco, v. 11, n. 12, p. 0974-2441, 2018.

TENA, N.; LOBO-PRIETO, A.; APARICIO, R. S.; GONZALEZ, D. **Storage and preservation of fats and oils**. Reference module in food science. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 605-618.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. Orientador: Severino Matias de Alencar, 2010. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

UEDA, K. M. **Extração de compostos fenólicos provenientes de folhas de uvaia *Eugenia pyriformis Cabess*.) empregando solventes eutéticos profundos (DES).** Orientador Marcos R. Mafra, coorientadora: Fabiane Oliveira Farias, 2020. 86 f. Dissertação (Pós-graduação em Engenharia de Alimentos), Setor de Tecnologia – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2020.

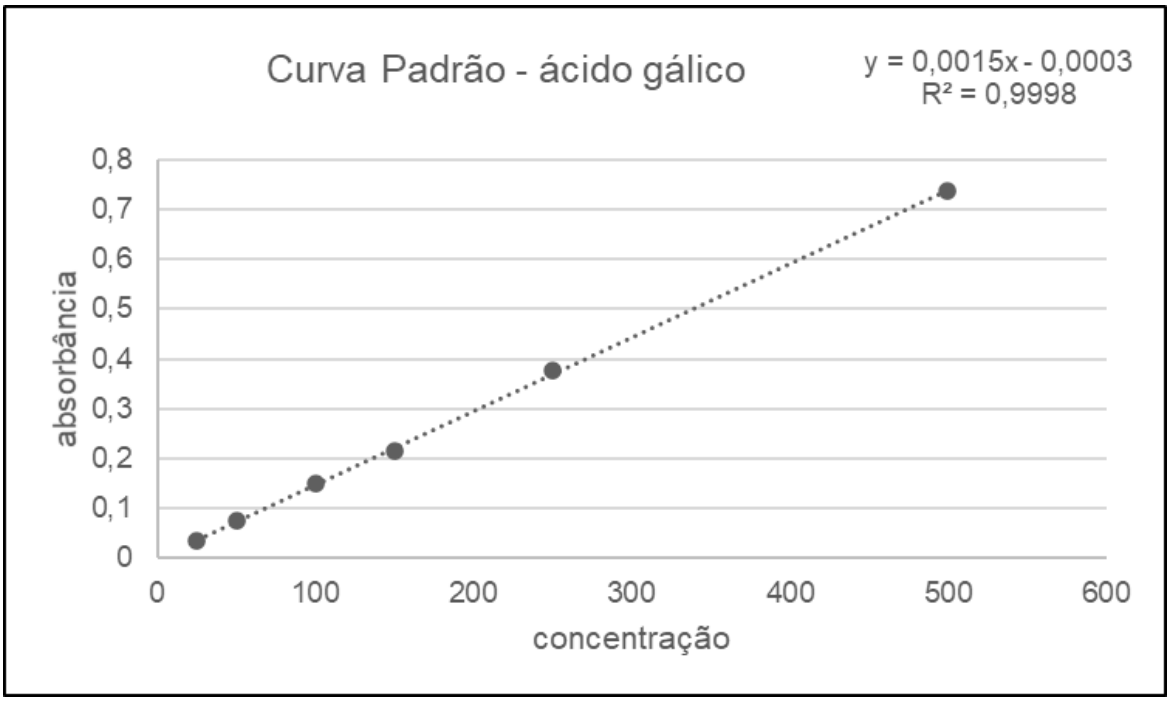
VAZ, J. S.; DEBONI, F.; AZEVEDO, M. J.; GROSS, J. L.; ZELMANOVITZ, T. Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.19, n. 4, p. 489-500, 2006.

VINHA, A. F., SOARES, M. O., CASTRO, A., SANTOS, A., OLIVEIRA, M. B. P. P., MACHADO, M. Phytochemical characterization and radical scavenging activity of aqueous extracts of medicinal plants from Portugal. **European Journal of Medicinal Plants**, London, v. 2, n. 4, p. 335-347, 2012.

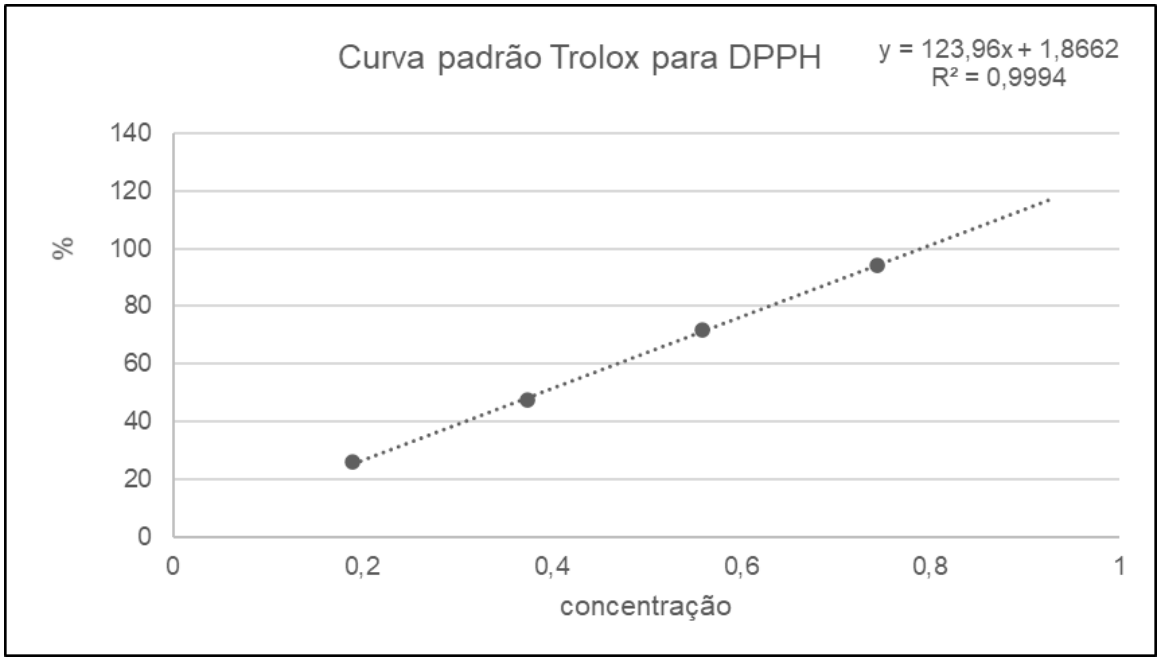
WIJNGAAR, H. H.; RÖßLE, C.; BRUNTON, N. A survey of Irish fruit and vegetable waste and by-products as a source of polyphenolic antioxidants. **Food Chemistry**, London, v. 116, n. 1, p. 202-207, 2009.

ZHELJAZKOV, V. D.; VICK, B. A.; BALDWIN, B. S.; BUEHRING, N.; COKER, C. Oil productivity and composition of sunflower as a function of hybrid and planting date. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 33, n. 2, p. 537-543, 2010.

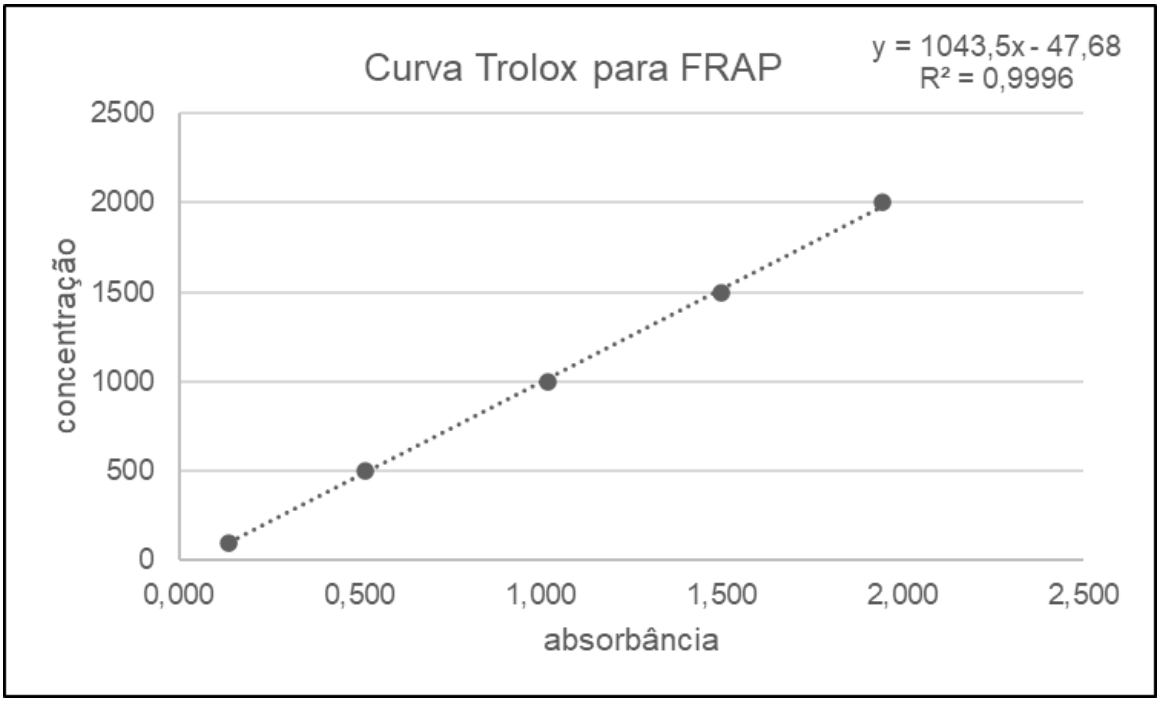
APÊNDICE A - Curva padrão de ácido gálico para análise de compostos fenólicos.



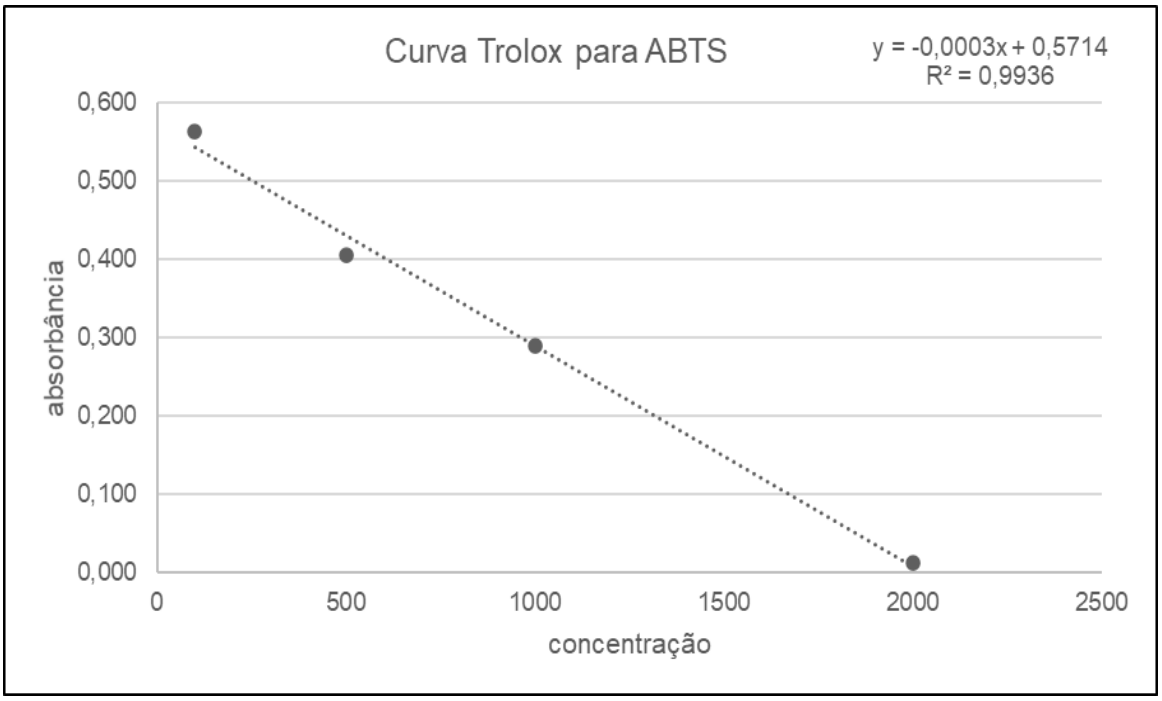
APÊNDICE B - Curva padrão Trolox para análise de DPPH•



APÊNDICE C - Curva padrão Trolox para análise de FRAP



APÊNDICE D - Curva padrão Trolox para análise de ABTS



APÊNDICE E - Análises de variância para as determinações de rendimento, compostos fenólicos, DPPH (AA%), DPPH, FRAP, ABTS.

Análises	Causas de Variação	G. L.	Quadrados médios
Rendimento	Tratamentos	2	0,0000^{ns}
	Resíduo	3	0,0000
	Desvio Padrão		0,00
	Coeficiente de variação (%)		5,04
Compostos fenolicos	Tratamentos	2	0,1594**
	Resíduo	3	0,0037
	Desvio Padrão		0,06
	Coeficiente de variação (%)		3,09
DPPH (AA%)	Tratamentos	2	524,9400**
	Resíduo	3	4,9200
	Desvio Padrão		2,22
	Coeficiente de variação (%)		4,19
DPPH	Tratamentos	2	3,5733**
	Resíduo	3	0,0190
	Desvio Padrão		0,14
	Coeficiente de variação (%)		4,34
FRAP	Tratamentos	2	30,7760**
	Resíduo	3	0,4860
	Desvio Padrão		0,70
	Coeficiente de variação (%)		4,30
ABTS	Tratamentos	2	12,1050**
	Resíduo	3	0,3647
	Desvio Padrão		0,60
	Coeficiente de variação (%)		5,30

^{ns}não significativo.
**significativo ($p < 0,01$).

APÊNDICE F - Análises de variância para clorofila, índice de dienos conjugados, peróxidos, *p*-anisidina, Totox, estabilidade oxidativa e ganho de massa dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa.

Análises	Causas de Variação	G. L.	Quadrados médios
Clorofila	Tratamentos	6	528,4340**
	Resíduo	14	0,01
	Desvio Padrão		0,07
	Coeficiente de variação (%)		0,41
Dienos conjugados	Tratamentos	6	1,2341**
	Tempos	3	2,7924**
	Tratamentos x tempos	18	0,2705**
	Resíduo	28	0,0019
	Desvio Padrão		0,11
	Coeficiente de variação (%)		5,43
Índice de peróxidos	Tratamentos	6	13728,6000**
	Tempos	3	31280,9000**
	Tratamentos x tempos	18	2878,7000**
	Resíduo	28	4,2000
	Desvio Padrão		1,80
	Coeficiente de variação (%)		2,05
p-anisidina	Tratamentos	6	18,0400**
	Tempos	3	18,7000**
	Tratamentos x tempos	18	4,2800**
	Resíduo	28	0,57000
	Desvio Padrão		0,75
	Coeficiente de variação (%)		4,77
Totox	Tratamentos	6	55145,9000**
	Tempos	3	127373,1000**
	Tratamentos x tempos	18	11855,4000**
	Resíduo	28	8,7000
	Desvio Padrão		2,96
	Coeficiente de variação (%)		1,69
Estabilidade oxidativa	Tratamentos	6	136,6850**
	Tempos	3	83,2780**
	Tratamentos x tempos	18	0,3180**
	Resíduo	28	0,0410
	Desvio Padrão		0,20
	Coeficiente de variação (%)		5,38
Ganho de massa	Tratamentos	6	0,5381**
	Tempos	7	4,6950**
	Tratamentos x tempos	42	1,8860**
	Resíduo	56	0,1476
	Desvio Padrão		0,00
	Coeficiente de variação (%)		26,62

**significativo ($p < 0,01$).

APÊNDICE G - Ganho de massa (%) para a interação tratamentos x tempos de estocagem em estufa a 60°C.

Tratamentos	Tempo de estocagem (dias)							
	8	10	12	14	16	18	20	22
OG	$0,2 \pm 0,2^{cA}$	$3,8 \pm 0,3^{aA}$	$1,8 \pm 0,0^{bA}$	$1,0 \pm 0,6^{bcABC}$	$0,2 \pm 0,3^{cB}$	$0,0 \pm 0,0^{cC}$	$0,0 \pm 0,0^{cB}$	$0,0 \pm 0,0^{cA}$
$TBHQ_{200}$	$0,0 \pm 0,0^{cA}$	$0,1 \pm 0,0^{cC}$	$0,1 \pm 0,0^{cA}$	$0,2 \pm 0,0^{cBC}$	$3,0 \pm 0,4^{aA}$	$2,5 \pm 0,2^{aA}$	$1,1 \pm 0,2^{bA}$	$0,0 \pm 0,0^{cA}$
EL_{200}	$0,6 \pm 0,8^{bA}$	$3,1 \pm 0,2^{aAB}$	$1,3 \pm 0,4^{bA}$	$0,2 \pm 0,3^{bBC}$	$0,0 \pm 0,0^{bB}$	$0,0 \pm 0,0^{bC}$	$0,0 \pm 0,0^{bB}$	$0,0 \pm 0,0^{bA}$
$TBHQ_{100}+EL_{100}$	$0,0 \pm 0,0^{cA}$	$0,0 \pm 0,0^{cC}$	$0,0 \pm 0,0^{cA}$	$2,2 \pm 0,1^{aA}$	$2,5 \pm 0,0^{aA}$	$1,1 \pm 0,2^{bB}$	$0,1 \pm 0,1^{cB}$	$0,0 \pm 0,0^{cA}$
ES_{200}	$0,0 \pm 0,0^{bA}$	$2,3 \pm 0,7^{aB}$	$1,0 \pm 0,1^{bA}$	$0,0 \pm 0,0^{bC}$	$0,0 \pm 0,0^{bB}$	$0,0 \pm 0,0^{bC}$	$0,0 \pm 0,0^{bB}$	$0,0 \pm 0,0^{bA}$
$TBHQ_{100}+ES_{100}$	$0,0 \pm 0,0^{aA}$	$0,0 \pm 0,0^{aC}$	$1,6 \pm 2,0^{aA}$	$1,8 \pm 0,9^{aAB}$	$0,4 \pm 0,6^{aB}$	$0,0 \pm 0,0^{aC}$	$0,0 \pm 0,0^{aB}$	$0,0 \pm 0,0^{aA}$
$EL_{100}+ES_{100}$	$0,0 \pm 0,0^{cA}$	$2,8 \pm 0,1^{aAB}$	$1,3 \pm 0,8^{bA}$	$0,2 \pm 0,3^{bcBC}$	$0,0 \pm 0,0^{cB}$	$0,0 \pm 0,0^{cC}$	$0,0 \pm 0,0^{cB}$	$0,0 \pm 0,0^{cA}$

Médias das determinações seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem pelo teste de *Tukey* ($p > 0,05$).

APÊNDICE H - Análises de variância para tocoferóis dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa.

Tocoferóis	Causas de Variação	G. L.	Quadrados médios
α-tocoferol (mg/kg)	Tratamentos	6	5435,0000**
	Tempos	3	22478,2000**
	Tratamentos x tempos	18	1930,4000**
	Resíduo	28	0,0000
	Desvio Padrão		0,11
	Coeficiente de variação (%)		0,07
Tocoferol total (mg/kg)	Tratamentos	6	5435,000**
	Tempos	3	22478,2000**
	Tratamentos x tempos	18	1930,4000**
	Resíduo	28	0,0000
	Desvio Padrão		0,11
	Coeficiente de variação (%)		0,07
Vitamina E (UI/kg)	Tratamentos	6	6577,5000**
	Tempos	3	27204,4000**
	Tratamentos x tempos	18	2336,3000**
	Resíduo	28	0,0000
	Desvio Padrão		0,12
	Coeficiente de variação (%)		0,07

**significativo ($p < 0,01$).