



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

Liara Silva Dias

Efeito da matéria insaponificável do óleo de palma (*Elaeis guineensis*) na estabilidade oxidativa de óleo de soja sob estocagem acelerada em estufa

São José do Rio Preto
2015

Liara Silva Dias

Efeito da matéria insaponificável do óleo de palma (*Elaeis guineensis*) na estabilidade oxidativa de óleo de soja 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, Área de Concentração - Ciência e Tecnologia 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.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Neuza Jorge

São José do Rio Preto
2015

Dias, Liara Silva.

Efeito da matéria insaponificável do óleo de palma (*Elaeis guineensis*) na estabilidade oxidativa de óleo de soja sob estocagem acelerada em estufa / Liara Silva Dias. -- São José do Rio Preto, 2015
109 f. : il., tabs.

Orientador: Neuza Jorge

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Letras e Ciências
Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Óleos e gorduras - Análise. 3. Óleo de palmeira. 4. Dendê. 5. Compostos bioativos. 6. Antioxidantes.
I. Jorge, Neuza. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 664.34

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Liara Silva Dias

Efeito da matéria insaponificável do óleo de palma (*Elaeis guineensis*) na estabilidade oxidativa de óleo de soja 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, Área de Concentração - Ciência e Tecnologia 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.

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Neuza Jorge
UNESP – São José do Rio Preto
Orientadora

Prof. Dr. Odair Zenebon
Aposentado IAL – Instituto Adolfo Lutz

Prof^a. Dr^a. Agdamar Affini Suffredini
UNIRP – Centro Universitário de Rio Preto

São José do Rio Preto
30 de março de 2015

“A paz que você reclama e tenta encontrar...
depende de você.
A compreensão que você reivindica a cada passo...
depende de você.
A bondade que você admira nas pessoas...
e sonha possuir...
depende de você.
O diálogo, base de toda convivência...
depende de você.
A abertura que é o caminho para a renovação...
depende de você.
A realização que você julga essencial...
depende de você.
O amor que você quer encontrar no outro...
depende de você.
Pondere:
Queixar-se ou produzir, atrapalhar ou servir,
desprezar ou valorizar,
revoltar-se ou colaborar,
adoecer ou curar-se,
rebaixar-se ou abrir-se,
estacionar ou progredir é uma questão de escolha.
Depende de você.”

(Autor desconhecido)

*A Deus,
à minha mãe Célia
à minha querida avó Clélia (in memoriam),
por ter sido meu exemplo de vida;
pelo carinho, apoio e interseção
de onde quer que ela esteja,
à minha família
e ao Dyego, meu amor,*

dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, e por sua presença em cada momento de felicidade, luta e dor. A Ele, toda a honra, a Glória e o louvor, hoje e para sempre;

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Neuza Jorge, pela contribuição em minha formação acadêmica;

Aos colegas da Pós-Graduação e às companheiras de laboratório, Aline Gomes, Ana Carolina da Silva, Carolina Veronezi, Danusa Cassiano, Irene Freitas, Mara Lina Rodrigues, Tainara Costa, Taísa Prieto e Tayane Siqueira, pela amizade, companheirismo e por todo o auxílio que me prestaram;

A todos os professores do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, pelo carinho, dedicação e amizade;

Ao técnico do Laboratório de Óleos e Gorduras, Luiz Carlos Camolezi, pelo auxílio na extração do óleo de palma, e por sua dedicação, paciência e amizade;

À FAPESP, pela concessão da bolsa de estudos (processo nº. 2013/18169-1);

À Patrícia Lage de Moraes, da empresa Agropalma e à Camila Lima, da empresa Biopalma, pelo auxílio na coleta e envio dos frutos da palma;

Ao meu noivo, e amor da minha vida, Dyego Donizete Faceto Miguel, pela paciência, incentivo e apoio incondicionais, e pela compreensão nos meus, muitos, momentos de ausência e dificuldade;

À minha querida mãe, Célia Maria Silva Oliveira, pelo exemplo de mãe, e mulher forte e batalhadora, que sempre lutou pela minha educação e pelo meu sucesso pessoal e profissional, por estar ao meu lado em todos os momentos;

Aos meus irmãos, Bárbara, Davi e Luiza, por serem a alegria da minha vida;

À toda minha família, e aos meu amigos, que sempre me apoiaram;

A todos, que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da matéria insaponificável do óleo de palma, comparada com o α -tocoferol, na estabilidade oxidativa de óleo de soja sob estocagem acelerada em estufa. O óleo da polpa dos frutos da palma (*Elaeis guineensis*), maduros e desidratados, foi extraído por prensagem a frio e avaliado quanto às suas características químicas, propriedades bioativas e ação antioxidante. A matéria insaponificável foi obtida por meio da saponificação com KOH 50% e lavagem para retirada dos sabões formados. Os antioxidantes naturais, α -tocoferol comercial (T) e a matéria insaponificável do óleo de palma (M), foram aplicados ao óleo de soja na concentração de 200 mg/kg. O óleo de soja refinado (OSR) foi obtido do comércio local, e purificado (OSP) por percolação em coluna aberta contendo alumina, para eliminar interferentes. Os tratamentos: OSR, OSRT, OSRM, OSP, OSPT e OSPM foram submetidos à estocagem acelerada em estufa (60 °C/20 dias) e avaliados quanto à sua qualidade físico-química e retenção de compostos bioativos. As características químicas e propriedades bioativas do óleo de palma estavam em conformidade com a literatura e com a legislação, além de ter apresentado boa capacidade antioxidante. O óleo de soja purificado sofreu maior degradação do que o óleo de soja refinado, devido à retirada de seus antioxidantes naturais durante o processo da purificação. A adição da matéria insaponificável auxiliou na preservação da qualidade físico-química dos óleos de soja refinado e purificado, reduzindo a formação de peróxidos e dienos conjugados. Foi capaz de fornecer carotenoides totais e preservou parte dos tocoferóis e fitosteróis. Concluiu-se que a matéria insaponificável do óleo de palma foi capaz de retardar o aparecimento de produtos de degradação no óleo de soja, impedindo parcialmente a deterioração dos compostos bioativos presentes.

Palavras-chave: Antioxidantes naturais. Matéria insaponificável. Óleo de palma. Estabilidade oxidativa. Propriedades químicas e bioativas.

ABSTRACT

*The aim of this study was to evaluate the effect of palm oil unsaponifiable matter, compared to α -tocopherol, on oxidative stability of soybean oil under accelerated storage in oven. The oil from the palm fruits pulp (*Elaeis Guineensis*), mature and dehydrated, was extracted by cold pressing and evaluated as to their chemical characteristics, bioactive properties and antioxidant action. The unsaponifiable matter was obtained by saponification with 50% KOH, and washing to remove the soap formed. Natural antioxidants, commercial α -tocopherol (T), and the unsaponifiable matter of palm oil (M) were applied to soybean oil at a concentration of 200 mg/kg. Refined soybean oil (OSR) was obtained from local businesses, and purified (OSP) alumina column to remove interferents. Treatments: OSR, OSRT, OSRM, OSP, OSPT and OSPM were subjected to accelerated storage in oven (60 °C/20 days) and evaluated for their physicochemical quality and retention of bioactive compounds. The chemical and bioactive properties of palm oil were in line with the literature and the legislation, besides showing good antioxidant capacity. The purified soybean oil suffered more degradation than refined soybean oil due to the removal of the natural antioxidants during the purification process. The addition of unsaponifiable matter helped the preservation of the physicochemical quality of refined and purified soybean oils, reducing the formation of peroxides and conjugated dienes. It was able to provide carotenoids and preserved portion of phytosterols and tocopherols. It was found that the unsaponifiable matter of palm oil was able to retard the appearance of degradation products in soybean oil, partially preventing the deterioration of bioactive compounds.*

Keywords: Natural Antioxidants. Unsaponifiable matter. Palm oil. Oxidative stability. Chemical and bioactive properties.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	14
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	15
1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	19
2.1. Objetivo geral	19
2.2. Objetivos específicos	19
3. REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1. Lipídios	20
3.2. Óleos e gorduras	21
3.3. Óleo de soja	24
3.3.1. Propriedades físico-químicas e composição	25
3.3.2. Extração e refino	27
3.4. Óleo de palma	28
3.4.1. Produção mundial	31
3.4.2. Propriedades físico-químicas e composição	31
3.5. Oxidação lipídica	34
3.5.1. Alteração hidrolítica	34
3.5.2. Degradação enzimática	35
3.5.3. Fotoxidação	35
3.5.4. Autoxidação	35
3.5.5. Medida da alteração de óleos e gorduras	37
3.6. Estocagem acelerada em estufa	38
3.7. Antioxidantes	39
3.7.1. Mecanismos de ação	39
3.7.2. Classificação química	40
3.7.3. Medida da atividade antioxidante	42
3.8. Estabilidade oxidativa	44
3.9. Matéria insaponificável de óleos vegetais	45
4. MATERIAL E MÉTODOS	53

4.1.	Material	53
4.1.1.	Coleta e preparo dos frutos	53
4.1.2.	Obtenção do óleo de palma	53
4.1.3.	Obtenção da matéria insaponificável	54
4.1.4.	Óleo de soja	54
4.1.5.	Antioxidante comercial	54
4.2.	Estocagem acelerada em estufa	54
4.3.	Métodos	55
4.3.1.	Ácidos graxos livres	55
4.3.2.	Peróxidos	55
4.3.3.	Dienos conjugados	55
4.3.4.	Ganho de massa	55
4.3.5.	Estabilidade oxidativa	56
4.3.6.	Perfil de ácidos graxos	56
4.3.7.	Composição teórica de triacilgliceróis	57
4.3.8.	Carotenoides totais	57
4.3.9.	Compostos fenólicos totais	57
4.3.10.	Perfil de tocoferóis	57
4.3.11.	Perfil de fitosteróis	58
4.3.12.	Atividade antioxidante do óleo de palma	59
4.4.	Análise estatística	61
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
5.1.	Óleo de palma	62
5.1.1.	Características químicas	62
5.1.2.	Compostos bioativos	65
5.1.3.	Atividade antioxidante	67
5.2.	Óleo de soja	69
5.2.1.	Qualidade físico-química	69
5.2.2.	Compostos bioativos	78
6.	CONCLUSÃO	86
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
	APÊNDICES	98

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura de lipídios polares	20
Figura 2.	Ácidos graxos <i>cis</i> e <i>trans</i> , e duplas ligações isoladas e conjugadas	21
Figura 3.	Reação de esterificação, formação do triacilglicerol	22
Figura 4.	a) Características morfológicas da palmeira, b) cacho de frutos, c) fruto da palma maduro e d) fruto cortado ao meio ...	30
Figura 5.	Mecanismo da oxidação lipídica exemplificado em etapas	36
Figura 6.	Mecanismo de ação de antioxidantes primários	40
Figura 7.	Estrutura química de antioxidantes sintéticos	41
Figura 8.	Estabilização do radical livre DPPH [•]	43
Figura 9.	Estabilização do radical ABTS ^{•+} por um antioxidante (AA), e sua formação pela reação com persulfato de potássio	44
Figura 10.	Redução do complexo [Fe(TPTZ) ₂] ³⁺	44
Figura 11.	Estrutura química dos principais carotenoides presentes em óleos vegetais	47
Figura 12.	Estrutura química dos tocóis	49
Figura 13.	Mecanismo de ação antioxidante do tocoferol	50
Figura 14.	Estrutura química dos principais esteróis presentes em óleos vegetais	51
Figura 15.	Curva cinética da atividade antioxidante do óleo de palma, para o sistema β-caroteno/ácido linoleico	68
Figura 16.	Ganho de massa (%) para os tratamentos submetidos à estocagem acelerada em estufa (60 °C/20 dias)	73
Figura 17.	Teores de ácidos graxos (AG). (a) saturados, b) monoinsaturados e c) poli-insaturados dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias)	77
Figura 18.	Conteúdos de carotenoides totais (µg/g) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias)	79
Figura 19.	Retenção (%) dos isômeros de tocoferol. a) α-tocoferol, b) γ-tocoferol, c) δ-tocoferol, d) total de tocoferóis, e) vitamina E e	82

f) vitamina E expressa como α -tocoferol dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias)

Figura 20.

Retenção (%) dos isômeros de fitosterol, a) Campesterol, b) β -sitosterol e c) fitosteróis totais dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Teor lipídico de oleaginosas utilizadas nas indústrias de alimentos	24
Tabela 2.	Propriedades físico-químicas do óleo de soja bruto	26
Tabela 3.	Composição em triacilgliceróis e ácidos graxos do óleo de soja	27
Tabela 4.	Composição de óleo de soja bruto vs. refinado	28
Tabela 5.	Propriedades físico-químicas do óleo de palma	31
Tabela 6.	Composição em triacilgliceróis e ácidos graxos do óleo de palma	32
Tabela 7.	Composição típica dos principais compostos bioativos do óleo de palma bruto	33
Tabela 8.	Conteúdo máximo de matéria insaponificável de alguns óleos vegetais	46
Tabela 9.	Características químicas do óleo de palma	62
Tabela 10.	Composição de ácidos graxos e triacilgliceróis do óleo de palma	64
Tabela 11.	Teores de compostos bioativos do óleo de palma	65
Tabela 12.	Atividade antioxidante (AA) do óleo de palma	67
Tabela 13.	Índices de peróxidos (meq/kg) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias)	70
Tabela 14.	Conteúdos de dienos conjugados (%) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias)	72
Tabela 15.	Índices de estabilidade oxidativa (horas) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias)	75
Tabela 16.	Conteúdos de compostos fenólicos totais (mg/g) para os tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias)	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

$^1\text{O}_2$	Oxigênio singlete
$^3\text{O}_2$	Oxigênio triplete
A	Absorvância
A $^\bullet$	Radical antioxidante
AA	Atividade antioxidante
AG	Ácido graxo
AAPH	<i>2,2-azino-bis-(3- methylpropianamide dihydrochloride)</i>
ABTS $^{+\bullet}$	Radical catiônico <i>2,2- azino-bis-(3- ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid)</i>
AH	Antioxidante com um átomo de hidrogênio
ANVISA	Agência nacional de vigilância sanitária
AOCS	<i>American oil chemists' society</i>
AOM	<i>Active oxygen method</i> (Método do oxigênio ativo)
BHA	Butil-hidroxianisol
BHT	Butil-hidroxitolueno
CFT	Compostos fenólicos totais
CG	Cromatografia gasosa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CT	Carotenoides totais
DAD	Detector de arranjo de diodos
DC	Dienos conjugados
DPPH $^\bullet$	Radical livre <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
EDTA	Ácido etileno diamino tetra acético
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
EPA	Ácido eicosapentaenoico
FID	<i>Flame ionization detection</i> (Detector por ionização de chama)
FRAP	<i>Ferric-reducing antioxidant power</i> (Poder oxidante pela redução do Fe $^{3+}$)
GM	Ganho de massa
GP	Galato de propila
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IDA	Ingestão diária aceitável

IP	Índice de peróxidos
ITAL	Instituto de Tecnologia de Alimentos
LDLc	Fração de colesterol de lipoproteína de baixa densidade
MI	Matéria insaponificável
Ns	Não significativo
OSI	<i>Oxidative Stability Instrument</i>
OSP	Óleo de soja refinado comercial purificado por percolação em alumina (Al ₂ O ₃)
OSPM	Óleo de soja purificado adicionado da matéria insaponificável do óleo de palma
OSPT	Óleo de soja purificado adicionado de α-tocoferol
OSR	Óleo de soja refinado comercial
OSRM	Óleo de soja refinado adicionado da matéria insaponificável do óleo de palma
OSRT	Óleo de soja refinado adicionado de α-tocoferol
R [•]	Radical livre
RH	Ácido graxo insaturado
ROO [•]	Radical peróxido
ROOH	Hidroperóxido
RTX	Restek
TAG	Triacilglicerol
TBHQ	Terc-butil-hidroquinona
TPTZ	2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazina
UV	Ultravioleta
UV/vis	Ultravioleta/visível
v/v	Volume/volume

1. INTRODUÇÃO

Os óleos vegetais apresentam elevado grau de insaturação devido à presença de ácidos graxos mono e poli-insaturados em sua composição, fato que caracteriza seu baixo ponto de fusão e sua alta susceptibilidade a processos oxidativos, os quais irão ocasionar a degradação dos lipídios e a consequente formação de odor, sabor e viscosidade desagradáveis ao paladar humano.

Além da qualidade sensorial, as qualidades nutricional e funcional também são afetadas pela autooxidação, principalmente pela perda de ácidos graxos essenciais, carotenoides, tocoferóis, tocotrienóis e de fitosteróis, e pela formação de substâncias tóxicas. Para minimizar esta deterioração dos óleos vegetais, deve-se evitar o contato com o oxigênio atmosférico, utilizar baixas temperaturas e diminuir a incidência de luz. Outra forma de controlar a oxidação se dá por meio da utilização de compostos com capacidade de desacelerar os processos oxidativos e hidrolíticos, os antioxidantes, de origem sintética ou natural.

Os antioxidantes sintéticos são compostos desenvolvidos em laboratório para aplicação em alimentos com o objetivo de aumentar sua vida de prateleira. Por muitos anos, eles têm sido largamente utilizados como aditivos alimentícios. Porém, estudos têm demonstrado que o uso contínuo destes compostos pode acarretar um efeito tóxico e também carcinogênico ao organismo humano.

Devido a este fato, pesquisadores têm buscado cada vez mais extrair antioxidantes naturais de fontes vegetais para substituir os sintéticos e preservar a saúde do consumidor. Estes compostos presentes em alimentos de origem vegetal podem ser de origem fenólica ou polifenólica, tocoferóis e tocotrienóis, vitaminas, enzimas e carotenoides; atuam na estabilização dos radicais livres e são os responsáveis pelas propriedades preventivas de doenças.

Os tocóis, substâncias precursoras da vitamina E, classificam-se em tocoferóis e tocotrienóis, e são os antioxidantes naturais mais estudados e aplicados em alimentos para prevenir alterações oxidativas. Também exercem função antioxidante em organismos vivos, e existem na forma de quatro isômeros ativos: α -, β -, γ , e δ -tocóis. Dentre os tocoferóis, o de maior atividade *in vitro* é o δ -tocoferol; *in vivo*, o mais ativo é o α -tocoferol, por possuir maior atividade de vitamina E. O α -

tocoferol, além de ser um constituinte natural de alguns alimentos, também pode ser extraído e comercializado para aplicação em outros produtos alimentícios sem perda da sua função antioxidante. O tocotrienol mais ativo é o γ -tocotrienol, possui a maior atividade antioxidante dentre os seus isômeros, além de seu poder anticarcinogênico. A maior fonte de tocotrienóis é o óleo de palma bruto, o que o torna um alimento com alegações de funcionalidade, e a sua adição à dieta pode prevenir doenças e impedir o envelhecimento celular.

Recentemente, a matéria insaponificável de óleos vegetais tem sido alvo de pesquisas científicas e das indústrias, por conter substâncias com poder antioxidante tais como carotenoides, hidrocarbonetos, tocóis, esteróis, álcoois terpênicos e outros compostos fenólicos, capazes de retardar o processo oxidativo em alimentos. Além disso, os componentes da matéria insaponificável apresentam capacidade bioativa, podendo atuar na prevenção do envelhecimento celular, e de doenças cardiovasculares e degenerativas.

Desta forma, o azeite de dendê, muito difundido na culinária baiana, tornou-se alvo deste trabalho por possuir matéria insaponificável rica em fitosteróis, tocoferóis, tocotrienóis e carotenoides, compostos bioativos com excelentes propriedades antioxidantes. Considerando-se o elevado consumo de óleo de soja no Brasil, utilizado principalmente no preparo de alimentos, o interesse em preservar seus compostos bioativos e a tendência pelo uso de antioxidantes naturais, fez-se necessário o estudo do potencial antioxidante da matéria insaponificável do óleo de palma comparada com o α -tocoferol comercial, quando adicionada em óleo de soja submetido à estocagem acelerada em estufa.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da matéria insaponificável do óleo de palma, comparada com o α -tocoferol comercial, na estabilidade oxidativa de óleo de soja sob estocagem acelerada em estufa.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar o óleo da polpa dos frutos da palma, extraído por prensagem a frio, quanto à sua composição química, presença de compostos bioativos e atividade antioxidante para avaliar seu potencial como antioxidante natural;
- Avaliar a estabilidade oxidativa dos óleos de soja refinado e purificado adicionados da matéria insaponificável do óleo de palma em comparação com o α -tocoferol comercial, submetido ao teste acelerado em estufa, por meio das suas propriedades bioativas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

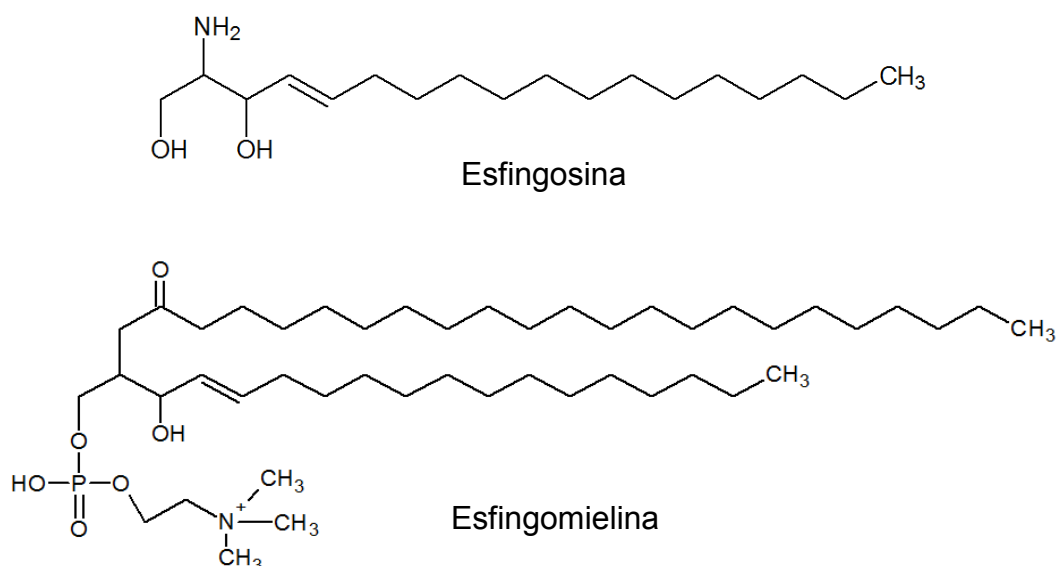
3.1. Lipídios

Os lipídios formam uma das três principais classes de macronutrientes, ao lado das proteínas e dos carboidratos. Entretanto, possuem uma característica incomum, que os diferencia dos demais constituintes dos alimentos: a insolubilidade em água e solubilidade em solventes orgânicos (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

Eles podem ser classificados em lipídios simples, ou insaponificáveis, como os ácidos graxos livres, esteróis, carotenoides, monoterpênicos e tocoferóis; e em saponificáveis, dentre eles citam-se os mono, di e triacilgliceróis, e os fosfo e glicolipídios (OWUSU-APENTEN, 2004).

Outra abordagem bastante usual classifica os lipídios em relação à polaridade de suas moléculas, os polares possuem característica anfifílica devido à presença de uma cabeça polar, hidrofílica e uma cauda apolar, lipofílica, em sua estrutura (Figura 1) e são exemplificados pelos fosfolipídios. Os apolares são representados pelos ácidos graxos livres, mono, di e triacilgliceróis. As distinções em suas estruturas moleculares ocasionam propriedades físico-químicas e funcionais diferentes (DEMAN, 2013).

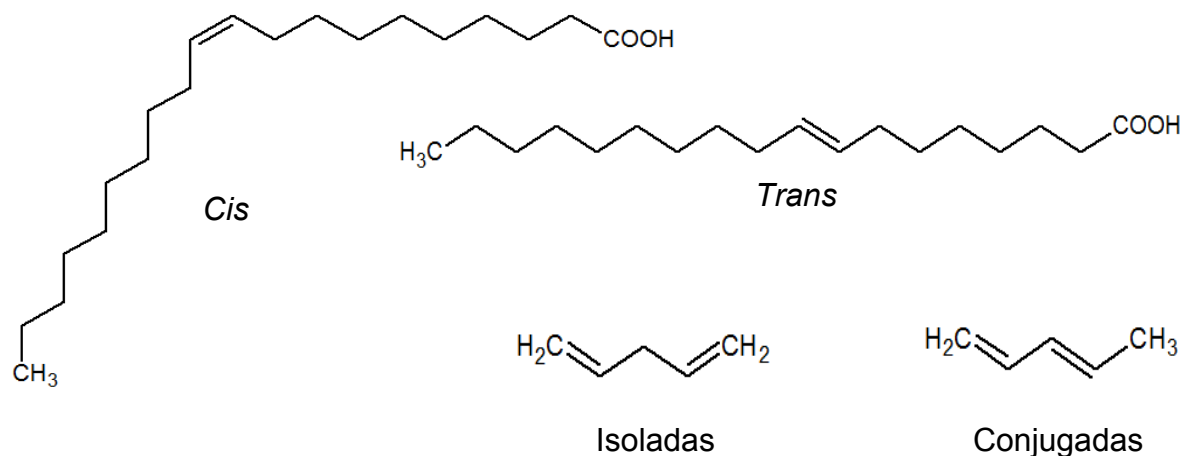
Figura 1. Estrutura de lipídios polares.



Os principais componentes dos lipídios são os ácidos graxos, compostos constituídos por uma cadeia alifática e um grupo ácido carboxílico. Ácidos graxos de ocorrência natural possuem, em sua maioria, número par de carbonos, devido ao processo biológico de alongamento da cadeia, que se dá pela adição de dois carbonos por vez. No entanto, existem ácidos graxos com quantidade ímpar de átomos de carbono em lipídios de origem microbiana e animal. A presença de uma ou mais duplas ligações na cadeia lipídica torna o ácido graxo insaturado, caso contrário, ele é saturado (MCCLEMENTS; DECKER, 2008).

A configuração natural em moléculas de ácidos graxos insaturados é a posição *cis*, em que os átomos de carbono estão do mesmo lado da ligação dupla. Em ácidos graxos poli-insaturados, as duplas ligações são separadas por um grupo metileno. Contudo, as moléculas podem sofrer mudanças em sua conformação pela ação de diversos fatores intrínsecos e extrínsecos, os quais dão origem à posição *trans*, com carbonos em lados opostos; e a duplas ligações conjugadas (Figura 2) (AKOH; MIN, 2008).

Figura 2. Ácidos graxos *cis* e *trans*, e duplas ligações isoladas e conjugadas.



3.2. Óleos e gorduras

Os óleos e as gorduras são utilizados há muito tempo, por diversos povos antigos, como os arianos na Índia, que ofereciam manteiga para seus deuses, ou como os hindus, que ungiam seus corpos com óleo antes do banho. O uso em preparações alimentícias também era feito, tanto para a conservação, quanto para o cozimento dos alimentos (CHAKRABARTY, 2009).

São de extrema importância para a nutrição humana, cada grama de óleo ou gordura ingerida contribui com 9 kcal, e funcionam como reserva energética para o organismo (MERRIL; WATT 1973). Representam ainda boas fontes de vitaminas lipossolúveis – A, D, E e K, ácidos graxos essenciais – ômega 3 e 6, e esteróis. Além de contribuírem para o aumento da palatabilidade, proporcionando sabor, aroma, e textura agradáveis aos alimentos (HO et al., 2013).

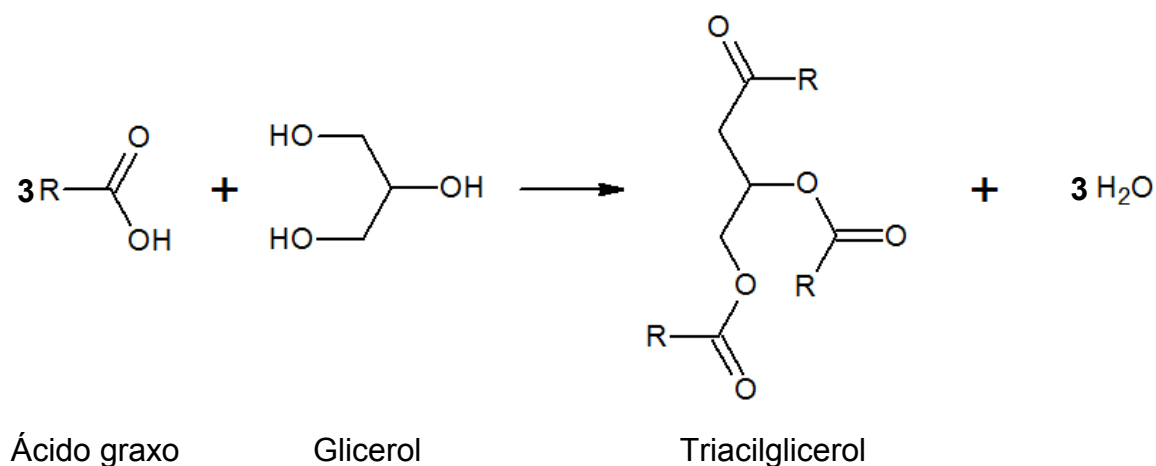
Por outro lado, o consumo excessivo de alimentos ricos em lipídios pode acarretar problemas na saúde do indivíduo, como obesidade, hipertensão, surgimento de doenças cardiovasculares e câncer (PRZYBYLSKI; MCDONALD, 1995).

Os alimentos lipídicos podem ser óleos ou gorduras, e são diferenciados por seu estado físico à temperatura ambiente, sendo os primeiros, líquidos, e os últimos, sólidos. Existem algumas gorduras vegetais que recebem a denominação de manteigas, como a manteiga de cacau e a de babaçu. A nomenclatura azeite é utilizada para óleos provenientes da polpa de frutos como o abacate, a oliva e o dendê (SHAHIDI, 2005).

Este fato se deve ao ponto de fusão do composto lipídico, o qual possui relação direta com a quantidade de duplas ligações nas moléculas de ácidos graxos insaturados, com o teor destes no composto lipídico e com o tamanho da cadeia carbônica (LAWSON, 1995).

Óleos e gorduras são majoritariamente constituídos por triacilgliceróis, compostos formados pela esterificação de uma molécula de glicerol com três moléculas de ácido graxo, como exemplifica a Figura 3.

Figura 3. Reação de esterificação, formação do triacilglicerol.



Os componentes minoritários dos óleos e gorduras são os fosfolipídios, glicolipídios, esteróis, carotenoides, tocoferóis, tocotrienóis e esqualeno. Reações de degradação, principalmente a hidrólise, ocasionam o rompimento das ligações éster, e formam di, monoacilgliceróis e ácidos graxos livres, os quais também são constituintes da fração minoritária das matérias graxas (GUNSTONE; HARWOOD, 2012).

Devido à elevada quantidade de duplas ligações, os óleos vegetais são susceptíveis à degradação por agentes físicos, químicos e microbiológicos, por isso, neles estão naturalmente presentes compostos com ação protetora que impedem sua alteração (OETTERER; REGITANO-D'ARCE; SPOTO, 2006).

As principais matérias-primas para obtenção de óleo são babaçu, gergelim, palma/palmiste, amendoim, canola, sementes de girassol, oliva, algodão, soja e milho. Seus teores lipídicos estão dispostos na Tabela 1. Recentes pesquisas têm buscado fontes alternativas para obtenção de óleo com qualidade nutricional e tecnológica, dentre estas fontes estão as sementes de frutos convencionais (MALACRIDA; JORGE, 2013; VERONEZI; JORGE, 2012), de frutos exóticos (DIAS, LUZIA, JORGE, 2013; LUZIA; JORGE, 2013) e de castanhas e nozes (COSTA-SINGH; JORGE, 2012).

O aumento da consciência da população em relação à alimentação saudável vem diminuindo o consumo de gorduras de origem animal e elevando a ingestão de óleos vegetais. Em 2009, no Brasil, cada pessoa consumiu 7,1 kg de óleos vegetais (IBGE, 2009).

O consumo mundial total atingiu cerca de 100 milhões de toneladas, representando um aumento de 62,5% em relação ao consumo registrado no ano 2000. Dessa forma, a demanda na produção de óleos vegetais também está crescendo. Desde 2000, a produção mundial de óleos vegetais sofreu uma elevação de cerca de 80%, com aproximadamente 130 milhões de toneladas produzidas (ROSILLO-CALLE; PELKMANS; WALTER, 2009).

As principais matérias-primas utilizadas na produção de óleos são a soja, o óleo mais consumido no mundo, e a palma, representando, respectivamente, 22,6 e 18% do total de óleo produzido mundialmente (PRABHAKARAN NAIR, 2010).

Tabela 1. Teor lipídico de oleaginosas utilizadas nas indústrias de alimentos.

Oleaginosa	Teor lipídico (%)
Babaçu	65 – 68
Gergelim	50 – 55
Palma	45 – 50
Palmiste	45 – 50
Amendoim	45 – 50
Canola	40 – 45
Semente de girassol	35 – 45
Oliva	25 – 30
Algodão	18 – 20
Soja	18 – 20
Milho	3 – 5

Fontes: Chakrabarty, 2009; Gunstone, 2002.

3.3. Óleo de soja

A soja é um dos cultivos mais antigos conhecidos pelo homem, e surgiu na China, há cerca de 4500 anos. A espécie selvagem *Glycine soja* é um ancestral da espécie cultivada atualmente em todo o mundo, a *Glycine max*. A distribuição desta espécie primitiva é limitada a China, Japão, Coreia, extremo oriente da Rússia e leste da Ásia. Era conhecida como “Shu”, nome que pode ser encontrado em antigos livros chineses. O primeiro indício da palavra “soja” foi encontrado em ossos e cascos de tartarugas pertencentes às dinastias Yin e Shang (SINGH, 2010).

O primeiro cultivo de soja no Brasil data de 1882, na Bahia. Em 1908, imigrantes japoneses trouxeram sementes de soja em sua bagagem. Em 1920 colonizadores trouxeram sementes de soja para o Rio Grande do Sul e se tornaram os primeiros agricultores de soja do sul do país. Sua expansão ocorreu por volta dos anos 70, por interesse da indústria de alimentos e pela demanda internacional (SHURTLEFF; AOYAGI, 2009).

Desde então, seu mercado cresceu, de forma que a projeção para a produção mundial em 2014 chegou a 284 milhões de toneladas de grãos de soja e 44,6 milhões de toneladas de óleo de soja. O Brasil é o maior produtor de soja do

mundo, com produção projetada de, aproximadamente, 88 milhões de toneladas de soja para 2014. No mesmo ano, serão produzidos, no Brasil, 7,1 milhões de toneladas de óleo de soja, ficando atrás dos Estados Unidos, apenas (USDA, 2014a).

O grão de soja seco possui elevado teor de proteína, em torno de 40%, razão pela qual é utilizado como fonte de proteínas por indivíduos com alergia ou intolerância a proteínas de origem animal, e por vegetarianos. Este cereal também fornece considerável aporte de carboidratos e minerais, aproximadamente 34 e 5%, respectivamente. A fração lipídica corresponde a 20%, porção de interesse para as indústrias de extração e refino de óleo (SHURTLEFF; AOYAGI, 2013). Este grão é o único, dentre as sementes de oleaginosas, que possui um teor lipídico relativamente baixo, em relação ao teor de proteínas (ERICKSON; WIEDERMANN, 1990).

Devido à presença de compostos funcionais em sua composição, a soja é considerada um alimento com alegações de funcionalidade, cuja ingestão proporciona benefícios à saúde e também a prevenção de doenças. Este grão pode atuar no tratamento da hipertensão devido à sua elevada concentração de potássio, e prevenir o câncer de mama, a osteoporose, e doenças cardiovasculares devido à presença de isoflavonas. Seu conteúdo de tocoferóis e de lecitina pode prevenir o aparecimento das doenças de Alzheimer e de Parkinson, e sua composição de fitosteróis é capaz de reduzir os níveis de lipoproteína de colesterol de baixa densidade (LDLc) (KUMAR; RANI; CHAUHAN, 2010).

3.3.1. Propriedades físico-químicas e composição

O óleo de soja bruto possui coloração amarelo-escura, elevadas viscosidade e turbidez, fatores que se devem à presença de pigmentos naturais, substâncias emulsificantes e impurezas. Trata-se de um óleo resistente à cristalização em temperaturas de refrigeração, e dessa forma, ideal para saladas (Tabela 2). Entretanto, é altamente susceptível a reações oxidativas por ser poli-insaturado (O'BRIEN, 2010).

Os triacilgliceróis representam de 95 a 97% do óleo de soja bruto, os demais componentes são 1,5 a 2,5% de fosfolipídios, 1,6% de matéria insaponificável e traços de metais (HAMMOND et al., 2005).

Na composição de triacilgliceróis do óleo de soja, prevalecem compostos contendo dois ou mais ácidos graxos insaturados (Tabela 3). Moléculas de ácido

palmitico e ácido esteárico possuem maior afinidade pela posição n-1 dos triacilgliceróis, do que pela n-2; o ácido linoleico apresenta forte associação com a posição n-2; enquanto que o ácido oleico é indiferente. Esta conformação permite maior proteção contra o ataque de espécies reativas causadoras da degradação oxidativa (WEISS, 1983).

Tabela 2. Propriedades físico-químicas do óleo de soja bruto.

Característica	Valores
Densidade, 25 °C	0,917 – 0,921
Índice de refração, 25 °C	1,470 – 1,476
Índice de iodo (g I ₂ /100 g)	123 – 139
Índice de saponificação (mg KOH/g)	189 – 195
Matéria insaponificável (%)	0,6 – 1,6
Ponto de fusão (°C)	(-20) – (-23)
<i>Cold test</i> (h)	25
Estabilidade oxidativa, 110 °C, 20 L/h (h)	2,2 – 3,3

Fonte: O'Brien, 2010.

É um óleo altamente insaturado, cujos ácidos graxos mono e poli-insaturados, em conjunto, constituem mais de 80% da fração lipídica, sendo que, os ácidos linoleico e linolênico representam, respectiva e aproximadamente, 53 e 8% do total de ácidos graxos (Tabela 3). Embora sejam ácidos graxos essenciais, de extrema importância nutricional, eles tornam o óleo mais susceptível a alterações degradativas, diminuindo a estabilidade frente à oxidação (WANG, 2011).

Os compostos minoritários presentes no óleo de soja são constituídos por ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis, resultantes de reações de degradação; fosfolipídios, utilizados para produção de lecitina, um subproduto do refino do óleo de soja; e fitosteróis e tocoferóis, compostos responsáveis pelo forte odor do óleo de soja bruto, comercializados como o subproduto de maior valor agregado (CLARK, 1996).

Dentre os compostos minoritários, a matéria insaponificável é formada pelas substâncias que contêm ação bioativa: os fitosteróis e tocoferóis. A primeira classe de componentes representa de 235 e 405 mg/100 g da fração lipídica, e é composta pelos isômeros β -sitosterol – 53%, campesterol – 29%, e estigmasterol – 18%. A

segunda, consiste dos precursores da vitamina E, estão presentes em quantidades da ordem de 1370 mg/kg, e sua composição é formada por 10% do isômero α -tocoferol, 1% do β -, 64% do γ -, e 25% do δ - tocoferol. Estes componentes estão presentes no óleo de soja com o objetivo de atuar como antioxidantes, protegendo os ácidos graxos insaturados (GUNSTONE; HARWOOD, 2012).

Tabela 3. Composição em triacilgliceróis e ácidos graxos do óleo de soja.

Triacilgliceróis	%
Trissaturado (SSS)	< 0,1
Monoinsaturado (SIS)	6,6 – 9,6
Monoinsaturado (SSI)	5,2 – 9,3
Di-insaturado (SII)	14,0 – 34,2
Tri-insaturado (III)	55,2 – 80,3
Ácidos graxos	%
Palmítico (16:0)	8 – 13,3
Esteárico (18:0)	2,4 – 5,4
Oleico (18:1)	17,7 – 26,1
Linoleico (18:2)	49,8 – 57,1
Linolênico (18:3)	5,5 – 9,5
Outros	< 1

Outros: mirístico (14:0); palmitoleico (16:1); araquídico (20:0); behênico (22:0).
S: ácido graxo saturado; I: ácido graxo insaturado.

Fontes: Gunstone; Harwood, 2012; O'Brien, 2010.

3.3.2. Extração e refino

O tipo de extração mais comum no mundo todo, para produção de óleo de soja, emprega o n-hexano como solvente. E pode ser desenvolvida em extratores contínuos ou semicontínuos, nos quais a oleaginosa entra em contato com o solvente diversas vezes, para uma extração completa, de forma que, ao final do processo, o farelo contenha o mínimo de óleo. A miscela, mistura de solvente e óleo, passa por destilação à vácuo para obtenção do óleo e recuperação do solvente (FELLOWS, 2009).

O produto desta operação é o óleo bruto, sua qualidade físico-química depende de diversos fatores, como estágio de maturação, injúrias, conservação

microbiológica e tipo de preparo da matéria-prima, além de tipo/controle de variáveis durante a extração. Contém compostos emulsificantes e pigmentos naturais, e é rico em antioxidantes naturais (ERICKSON; WIEDERMANN, 1990).

Para a correção da qualidade do óleo, é realizado o processo de refino, o qual consiste em remover compostos responsáveis pela cor, viscosidade, sabor e odor indesejáveis ao paladar humano, e também aqueles que acometem a qualidade físico-química do óleo. Entretanto, este processo também elimina as substâncias com propriedades bioativas, ação antioxidante e vitamínica, tornando o óleo altamente susceptível ao processo de oxidação (Tabela 4), sendo necessária sua reposição pela aplicação de aditivos com ação antioxidante (RASOR; DUNCAN, 2014).

Dentre estes compostos bioativos, são também eliminados os tocoferóis, os antioxidantes naturais mais importantes para o óleo de soja. Eles estão presentes para proteger os ácidos graxos poli-insaturados, linoleico e α -linolênico, do ataque dos radicais livres e da consequente peroxidação lipídica (LUSAS, 2010).

Tabela 4. Composição de óleo de soja bruto x refinado.

Componentes	Bruto	Refinado
Triacilgliceróis (%)	95 – 97	> 99
Fosfolipídios (%)	1,5 – 2,5	0,003 – 0,045
Ácidos graxos livres (%)	0,3 – 0,7	< 0,05
Matéria insaponificável (%)	1,6	0,3
Fitosteróis (%)	0,33	0,13
Tocoferóis (%)	0,15 – 0,21	0,11 – 0,18
Hidrocarbonetos (esqualeno) (%)	0,014	0,01
Metais-traço (mg/kg)		
Ferro	1 – 3	0,1 – 0,3
Cobre	0,03 – 0,05	0,02 – 0,06

Fonte: Pryde, 1980.

3.4. Óleo de palma

As palmeiras são pertencentes à família *Arecaceae*, podem possuir formação arbórea ou arbustiva; as maiores alcançam até 60 metros, e as menores

medem, no mínimo, 25 centímetros. Sua diversidade morfológica é muito grande, e suas folhas, troncos, frutos e sementes são extremamente variáveis. São plantas nativas da região dos trópicos, presentes em florestas tropicais, semidecíduas, montanhosas, próximas a rios ou ainda em desertos, onde costumam ser predominantes na vegetação. É uma das maiores famílias de plantas, tanto em extensão territorial, quanto em abundância. No Brasil, existem em torno de 39 gêneros que se distribuem em 119 espécies (JOHNSON; IUCN/SSC, 1996).

A palmeira de dendê, ou dendezeiro, pode atingir 15 a 30 metros de altura, com 35 a 60 folhas de até 16 metros de comprimento dispostas em uma haste vascular, é típica de solos úmidos e ricos em nutrientes, comuns em florestas tropicais, e cada árvore pode durar até 300 anos. São produzidas cerca de 600 a 1500 flores amarelas, as quais produzem frutos que crescem e amadurecem durante 6 meses, cada cacho maduro pesa entre 5 a 50 kg e possui entre centenas e milhares de frutos. Os frutos são compostos por uma amêndoa dura, envolvida por uma casca (endocarpo) recoberta por uma camada carnosa (mesocarpo), esta polpa possui em torno de 49% de óleo, e a amêndoa, cerca de 50%. O tipo mais comum de fruto é o *nigrescens*, o qual possui coloração violeta a preta antes do amadurecimento, vermelha quando maduro e mesocarpo de cor amarelo intensa, e é rico em carotenoides (Figura 4). Outro tipo é o *virescens*, de cor verde; o *albescens* é o menos comum, e apresenta baixo teor de carotenos no mesocarpo (CORLEY; TINKER, 2008).

O óleo de palma é obtido a partir do mesocarpo do fruto do dendê. É o segundo mais consumido no mundo, depois do óleo de soja. Em temperatura ambiente (25 °C), o óleo de palma se divide em duas frações, uma sólida, a estearina, rica em ácido esteárico, e uma fração líquida, a oleína, rica em ácido oleico. Possui sabor característico, intenso, e coloração avermelhada, pode ser utilizado para fins alimentícios ou para produção de sabões, detergentes, resinas, biodiesel, entre outros produtos (BERGER, 2003).

Em estudo de *blends* de azeite de oliva com óleo de palma refinado, De Leonardis e Macciola (2012) verificaram que a estabilidade oxidativa (Rancimat, 130 °C, fluxo de 20 L/h) é diretamente proporcional à porcentagem de azeite de dendê. Dessa forma, a maior estabilidade encontrada foi a do óleo de palma puro, com aproximadamente 7,5 h, fato que possibilita sua utilização em processos de fritura de alimentos com segurança.

Figura 4. a) Características morfológicas da palmeira, b) cacho de frutos, c) fruto da palma maduro e d) fruto cortado ao meio.

a)



b)



c)



d)



Entretanto, os valores de estabilidade oxidativa do óleo de palma bruto podem ser considerados baixos se comparados com outros óleos vegetais. Isto se deve aos fosfatídeos presentes em concentrações de até 15 mg/kg em óleos de palma de boa qualidade físico-química. A remoção desses compostos durante as etapas de degomagem e branqueamento no refino é capaz de elevar a estabilidade do óleo de palma (ZIN, 2006).

Embora seu teor de matéria insaponificável não seja elevado, 1,2%, sua qualidade em composição de fitosteróis (300 a 700 mg/kg), tocoferóis e tocotrienóis (150 a 1500 mg/kg), e carotenoides (500 a 2000 mg/kg) (CODEX ALIMENTARIUS, 2009) conferem elevada atividade antioxidante, com valores variando entre 98,2 e 128,7 μmol de Trolox/100 g (SZYDŁOWSKA-CZERNIAK et al., 2011), o que faz motivar a aplicação da matéria insaponificável deste óleo como antioxidante natural.

3.4.1. Produção mundial

O óleo de palma é uma das maiores *commodities* do mundo, sua produção é dominada por Malásia e Indonésia, cujo mercado domina entre 80 e 85% da produção mundial (ROSILLO-CALLE; PELKMANS; WALTER, 2009).

Para a Malásia, a área de plantação de palmeiras de dendê possui estimativa de crescimento para 4,8 milhões de hectares do ano de 2014 para 2015, com 2,55 milhões de equivalentes de hectares totalmente amadurecidos. Pelo menos 20 dos principais produtos da palma estão disponíveis na Malásia, e seu principal importador é o Paquistão, com uma aquisição anual de 9.230 toneladas (PRABHAKARAN NAIR, 2010; USDA, 2014b).

3.4.2. Propriedades físico-químicas e composição

O óleo de palma bruto possui sabor e aroma agradáveis, e pode ser denominado óleo de palma vermelho, devido aos seus pigmentos naturais, cuja coloração é o vermelho intenso em estado líquido e o alaranjado quando sólido. Após o refino, o óleo passa a ser denominado óleo de palma branco, devido à coloração branca apresentada quando em estado sólido, no estado líquido sua cor é amarelo claro (MARANGONI; NARINE, 2002). Suas propriedades físico-químicas são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Propriedades físico-químicas do óleo de palma.

Característica	Valores
Densidade, 25 °C	0,891
Índice de refração, 25 °C	1,453 – 1,459
Índice de iodo	46 – 60
Índice de saponificação (mg KOH/g)	196 – 209
Acidez (mg KOH/g)	2 – 15
Matéria insaponificável (%)	0,3 – 1,2
Ponto de fusão (°C)	27 – 50

Fonte: Nagaraj, 2009.

Em temperatura ambiente, observa-se uma separação de fases no óleo de palma, sendo uma líquida, menos densa, e outra sólida. Este fenômeno ocorre devido aos teores equivalentes de ácidos graxos saturados e insaturados (Tabela 6),

e que permite o processo de fracionamento, resultando em oleína, a fração líquida, e estearina, a sólida (RAJAH, 2014).

Embora o teor de ácidos graxos essenciais do óleo de palma não seja elevado, a presença destes compostos auxilia o metabolismo humano na prevenção da aterosclerose e consequentes doenças do sistema cardiovascular (VAN DER VOSSSEN; MKAMILO, 2007).

Tabela 6. Composição em triacilgliceróis e ácidos graxos do óleo de palma.

Triacilgliceróis	%
Trissaturado (SSS)	6,4
Monoinsaturado (SIS)	44,7
Di-insaturado (SII)	37,7
Tri-insaturado (III)	6,5
Diacilgliceróis (DAG)	4,9
Ácidos graxos	%
Palmítico (16:0)	44,1
Esteárico (18:0)	4,4
Oleico (18:1)	39,0
Linoleico (18:2)	10,6
Linolênico (18:3)	0,3
Outros	1,6

Outros: mirístico (14:0); palmitoleico (16:1); araquídico (20:0); behênico (22:0).
S: ácido graxo saturado; I: ácido graxo insaturado.

Fonte: Gunstone; Harwood, 2012.

O óleo de palma é uma das maiores fontes alimentares de β -caroteno (Tabela 7), sendo capaz de combater a deficiência de vitamina A da população. Consiste em melhor fonte de pró-vitamina A do que cenouras, não somente pelo conteúdo em β -caroteno, mas também por ser um óleo. Os carotenos são lipossolúveis, e necessitam de um substrato lipídico para serem eficientemente convertidos em vitamina A (FIFE, 2007).

O óleo de palma é rico em γ -tocotrienol, ao contrário de outras fontes vegetais, que apresentam elevados teores de α -tocoferol, e por este fato é relatado como o único óleo comestível capaz de fornecer tocotrienóis à dieta. Este tocotrienol

é o composto de maior atividade antioxidante dentre os isômeros de tocotrienóis, confere estabilidade oxidativa ao óleo e atua também em células humanas. Estudos (NESARETNAM et al. 1998; SCHAUSS; ENDRES; CLEWELL, 2012) têm demonstrado sua eficácia na prevenção de doenças cardiovasculares e de alguns tipos de câncer.

Tabela 7. Composição típica dos principais compostos bioativos do óleo de palma bruto.

Carotenoides	%
α-caroteno	36,2
β-caroteno	54,4
γ-caroteno	3,3
Licopeno	3,8
Xantofilas	2,2
Tocóis	%
α-tocoferol	21
α-tocotrienol	23
γ-tocotrienol	45
δ-tocotrienol	11
Total (mg/kg)	600 – 1000
Fitosteróis	%
Colesterol	2,7 – 13
Campesterol	46,4 – 150
Estigmasterol	26,3 – 65,7
β-sitosterol	120 – 369,5
Total	210 – 620

Fontes: Gunstone, 2002; Nagaraj, 2009.

O óleo de palma contém em torno de 600 a 1.000 mg/kg de vitamina E, 25% deste conteúdo está presente na forma de tocoferóis, e 75% na forma de tocotrienóis (Tabela 7). Os tocoferóis e tocotrienóis são os precursores da vitamina E, o mais poderoso antioxidante, capaz de promover benefícios à saúde pela eliminação dos radicais livres do corpo humano, provenientes do metabolismo

celular (FIFE, 2007).

A composição de fitosteróis do óleo de palma apresenta mais de 60% de β -sitosterol (Tabela 7), o esteroide majoritário na maioria dos óleos vegetais. E, devido ao aporte de esteróis vegetais presentes, a ingestão do óleo de palma promove benefícios à saúde pela redução dos níveis de colesterol no sangue, e dos níveis séricos de LDLc (NAGARAJ, 2009).

3.5. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é causada por agentes microbiológicos, físicos e químicos, como ataques de bactérias e fungos, ação da luz e do calor, do oxigênio atmosférico, e de enzimas. Estes últimos fatores atuam como catalisadores das reações de degradação lipídica, a qual acarreta o surgimento de características desagradáveis ao paladar e prejudiciais à saúde do ser humano. Os óleos alterados possuem menor teor de vitaminas lipossolúveis, ácidos graxos essenciais, além de serem formados compostos tóxicos e substâncias de coloração, aroma e sabor desagradáveis (MCCLEMENTS; DECKER, 2008). Existem diferentes mecanismos de ação responsáveis pela ocorrência da oxidação lipídica, os quais são elucidados abaixo.

3.5.1. Alteração hidrolítica

A alteração hidrolítica pode ser desencadeada por enzimas presentes nos frutos e sementes de oleaginosas, as quais são ativadas por processo de corte, fatiamento ou trituração, por elevadas temperaturas utilizadas no processamento e pelo contato com a água do alimento em frituras por imersão (POKORNÝ, 1999). As principais enzimas envolvidas neste tipo de alteração são as lipases, sua ação é propiciada por ambientes levemente ácidos em temperaturas próximas a 37 °C (WANG; HAMMOND, 2010).

Os produtos de degradação mais importantes formados pelas reações hidrolíticas são di e monoacilgliceróis, ácidos graxos livres e glicerol, resultantes da quebra das ligações éster dos triacilgliceróis. As mudanças ocasionadas por esta alteração podem ser identificadas pela elevação da acidez, ou em casos de maior deterioração, diminuição do ponto de fumaça (NICHOLS; JORDAN; KERR, 2011).

3.5.2. Degradação enzimática

As enzimas, em especial as lipoxigenases, são responsáveis por catalisar reações de adição de átomos de oxigênio em moléculas de ácidos graxos poli-insaturados. Esta adição forma peróxidos e hidroperóxidos, compostos altamente reativos, que irão reagir formando novos produtos de degradação (SMITH; MURPHY, 2008).

3.5.3. Fotoxidação

A luz atua como catalisador de reações de retirada de hidrogênio dos ácidos graxos poli-insaturados, influenciando na degradação de hidroperóxidos e favorecendo a formação de radicais livres, esta reação é acelerada na presença de agentes fotossensibilizadores, como os diferentes pigmentos vegetais: clorofila, heme proteínas e riboflavina. A energia luminosa também age sobre os átomos de oxigênio, transformando oxigênio tripleto ($^3\text{O}_2$) em oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$), espécie 500 vezes mais reativa que a primeira, a qual acelera o processo oxidativo, tornando a fotoxidação cerca de 1500 vezes mais rápida que a autoxidação (MÁRQUEZ-RUIZ; HOLGADO; VELASCO, 2014).

3.5.4. Autoxidação

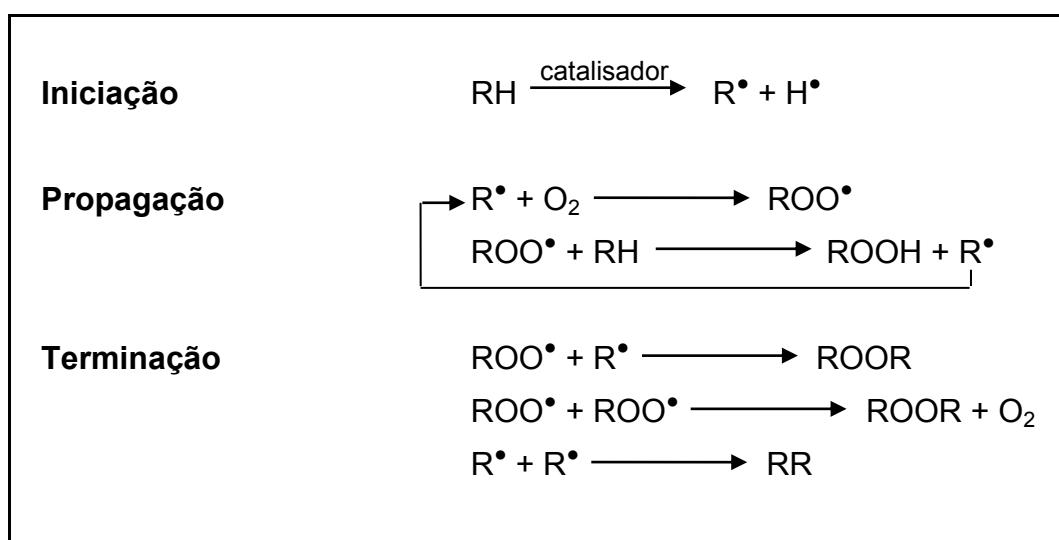
Do ponto de vista da qualidade, a autoxidação é a reação mais importante em óleos e gorduras. Trata-se de um processo oxidativo irreversível, uma vez iniciado. Sua ocorrência se dá quando uma molécula de oxigênio reage com um ácido graxo insaturado, o processo é formado por um conjunto de reações que levam à formação de compostos sensorialmente indesejáveis, além de ter seu valor nutricional reduzido (FARHOOSH; PAZHOUHANMEHR, 2009). Farmer, Koch e Sutton (1943) propuseram reações associadas, divididas em três etapas (Figura 5), para explicar o mecanismo da autoxidação.

A primeira etapa consiste na iniciação, em que os ácidos graxos poli-insaturados sofrem a reação de quebra da ligação com um átomo de hidrogênio, favorecida por luz e calor. Este composto se torna um radical livre, substância altamente reativa devido à presença de um elétron desemparelhado, cuja ação desencadeia a reação oxidativa (KOŁAKOWSKA; BARTOSZ, 2014).

A Segunda etapa é a propagação, caracterizada pela intensa interação entre os radicais livres e as moléculas de oxigênio atmosférico. Como produto desta

reação surgem os radicais peróxido, que irão reagir com outro ácido graxo para formar uma molécula de hidroperóxido e mais um radical livre, elemento que irá alimentar a reação em cadeia. A quantidade de ácidos graxos insaturados presentes é o fator limitante, a oxidação ocorre até que todas as cadeias hidrocarbonadas insaturadas se tornem radicais livres e, posteriormente, produtos de degradação (FRANKEL, 2005).

Figura 5. Mecanismo da oxidação lipídica exemplificado em etapas.



RH: ácido graxo insaturado; R[•]: radical livre; ROO[•]: radical peróxido; ROOH: hidroperóxido; ROOR e RR: produtos de degradação estáveis; Catalisador: luz, calor, metais.

Fonte: Farmer; Koch; Sutton, 1943.

A terceira etapa é denominada terminação, nesta fase da reação, diminui o consumo de oxigênio, e os radicais livres passam a interagir entre si, formando compostos secundários de degradação, produtos estáveis, causadores dos odores e sabores inaceitáveis. Eles podem ser aldeídos e cetonas (KAMAL-ELDIN; POKORNÝ, 2008).

Para inibir a oxidação de óleos vegetais deve-se evitar o contato com o oxigênio atmosférico, utilizar baixas temperaturas, diminuir a incidência de luz e remover traços de metais. Outra forma de controlar a oxidação se dá por meio da utilização de compostos com capacidade de desacelerar os processos oxidativos e hidrolíticos, os antioxidantes (SHAHIDI, ZHONG, 2005).

3.5.5. Medida da alteração de óleos e gorduras

Diversos métodos podem ser utilizados para quantificar os compostos de

degradação dos lipídios, e possibilitam verificar o grau de decomposição do óleo.

Os índices de ácidos graxos livres e acidez estão relacionados com a hidrólise parcial dos triacilgliceróis, reação responsável por liberar ácidos graxos para o meio, e elevar, dessa forma, a acidez do óleo. Sua medida é realizada por titulação, e o ponto final desta análise é de difícil avaliação em amostras com coloração intensa ou em emulsões. Para tais situações, pode ser utilizado um titulador potenciométrico, o qual detecta o ponto final da titulação por meio de um eletrodo. Não existe uma relação entre o teor de ácidos graxos livres e a qualidade dos óleos, pois estas cadeias hidrocarbonadas são facilmente convertidas a produtos de degradação secundária, que são, em sua maioria, voláteis (GUPTA; WARNER; WHITE, 2004).

O índice de peróxidos é um indicativo da reação de autooxidação, os peróxidos e hidroperóxidos são compostos primários de degradação, isto é, são formados nas etapas iniciais da oxidação, são altamente instáveis e sofrem cisão formando compostos secundários de degradação, de menor peso molecular. Por isso, este índice não evidencia a qualidade do óleo, um produto em avançado estado de alteração pode apresentar baixo teor de peróxidos devido à decomposição destas substâncias (MEDINA-MEZA; BARNABA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2014).

Outro índice que permite avaliar a formação de compostos de degradação primários é o teor de ácidos dienoicos e trienoicos conjugados, gerados pela mudança na localização das duplas ligações, após o ataque de radicais livres em hidrogênios do grupo metileno que separavam as insaturações nestes compostos. Este método pode ser utilizado como índice da estabilidade de lipídios, juntamente com o índice de peróxidos ou individualmente (KIOKIAS et al., 2010).

Compostos secundários de degradação podem ser quantificados por análises como índice de *p*-anisidina, o qual quantifica aldeídos formados nos estágios mais avançados, principalmente 2-alquenol e 2,4-alquenodiol, em lipídios de origem vegetal e animal (WHITE, 1995).

A análise cromatográfica em coluna aberta é utilizada para quantificação de compostos polares totais. Estes produtos são caracterizados por possuírem maior polaridade que os triacilgliceróis, e baixa volatilidade. Sua formação ocorre sob elevadas temperaturas, em torno de 180 °C, como as utilizadas em processos de fritura de alimentos, na presença de oxigênio e umidade (MÁRQUEZ-RUIZ, 2009).

3.6. Estocagem acelerada em estufa

Para determinar a vida de prateleira de óleos e gorduras, os produtos são mantidos em condições semelhantes às de armazenagem em estabelecimentos comerciais, e são realizados testes periódicos que quantificam os compostos de degradação e analisam a qualidade sensorial. Entretanto, esta determinação pode durar um longo período de tempo e despende muito recurso financeiro (MAN, 2004).

Em alternativa ao método de estocagem em temperatura ambiente, a vida de prateleira de óleos e gorduras pode ser predita por meio da estocagem acelerada em estufa. Esta análise permite simular as alterações oxidativas sofridas pela amostra durante seu *shelf life*, em menor tempo, por meio da elevação da temperatura para em torno de 60 a 70 °C, e de aeração forçada, para aceleração dos processos oxidativos (ANTONIASSI, 2001). Em estudo sobre a estabilidade de óleo de canola durante a vida de prateleira, Malcolmson (1994) constatou que as alterações sensoriais sofridas em um dia de estocagem acelerada em estufa equivalem às sofridas em um mês de estocagem sob temperatura ambiente.

Este teste também possibilita verificar a susceptibilidade dos óleos à oxidação, e determina-se o final do processo quando as características sensoriais do lipídio apresentam elevada alteração. Coletam-se, periodicamente, as amostras e avalia-se o grau de oxidação por meio de análises de quantificação de compostos primários e secundários de oxidação, além de análises sensoriais (MIZRAHI, 2004).

Lee e Choe (2012) avaliaram a formação de compostos *off-flavor* em óleo de gergelim tostado durante o teste acelerado em estufa. Foi utilizada a temperatura de 70 °C, e o teste teve duração de 30 dias. Os compostos hexanal, heptanal e 1-pentanol foram formados após uma semana sob as condições de oxidação acelerada, e houve aumento na concentração de todos os compostos *off-flavor* presentes no óleo.

A estocagem em estufa é o método mais usado para avaliar a eficiência de antioxidantes sobre a estabilidade de óleos. A substância antioxidante é aplicada à amostra de óleo, e submetida às condições de oxidação acelerada. Realizam-se análise sensorial, índice de peróxidos, dienos e trienos conjugados para avaliar a capacidade do aditivo em manter/aumentar a estabilidade oxidativa do óleo analisado (ELLIS; MAN, 2000).

Silva e Jorge (2012) aplicaram extrato de cogumelo (*Agaricus blazei*) em óleo de soja e verificaram inibição de, aproximadamente, 88% da produção de peróxidos e 63% da formação de ácidos dienoicos conjugados após 20 dias de estocagem acelerada a 60 °C.

3.7. Antioxidantes

Antioxidantes são substâncias que, presentes em baixas concentrações, são capazes de interromper a reação em cadeia da oxidação, protegendo o alimento da degradação oxidativa. Em organismos vivos, os antioxidantes combatem os radicais livres impedindo o envelhecimento celular e a ocorrência de doenças crônico-degenerativas. São compostos aromáticos com uma ou mais hidroxilas, doadoras de átomos de hidrogênio para estabilização dos radicais livres (PACKER, 2001).

Para impedir que o produto sofra intensa oxidação durante a vida prateleira, as indústrias de óleos vegetais repõem o conteúdo de antioxidantes perdido durante o processo de refino para conservar o óleo por mais tempo, mantendo-o com as mesmas características sensoriais e físico-químicas até o fim do prazo de validade declarado no rótulo da embalagem. Porém, para que possa ser utilizada pelas indústrias de alimentos, a substância deve atender a alguns pré-requisitos, tais como atoxicidade, elevada eficácia em baixas concentrações, e resistência ao processamento do alimento no qual será aplicada (VENSKUTONIS, 2013).

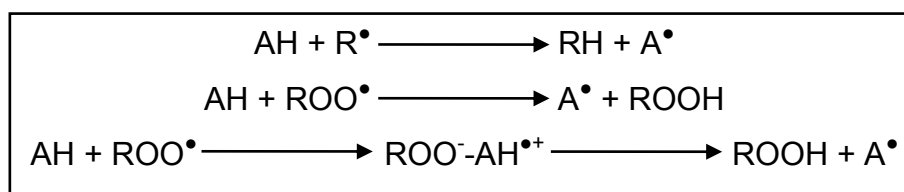
3.7.1. Mecanismo de ação

De acordo com seu mecanismo de ação, os antioxidantes podem ser classificados em primários ou secundários. Os antioxidantes primários são moléculas doadoras de átomos de hidrogênio, capazes de estabilizar ou inativar radicais livres e interromper a reação oxidativa durante as fases de iniciação ou propagação (BERDHAL; NAHAS; BARREN, 2010). O mecanismo de ação dos antioxidantes primários é ilustrado pela Figura 6. Atuam por este mecanismo de ação os antioxidantes: TBHQ – terc-butil-hidroquinona, BHA – butil-hidroxianisol, BHT – butil-hidroxitolueno, GP – galato de propila e os tocoferóis.

Os antioxidantes secundários atuam de forma diferente do que os primários, em vez de interromper ou desacelerar a reação oxidativa, seus diversos caminhos de reação impedem que a reação aconteça por desativação de catalisadores,

substrato e espécie reativa. Podem apresentar ação quelante, caracterizada pela capacidade de complexar íons metálicos catalisadores da oxidação. São exemplificados pelo ácido cítrico e pelo EDTA – ácido etileno diamino tetra acético (JADHAV et al., 1995).

Figura 6. Mecanismo de ação de antioxidantes primários.



AH: antioxidante; R[•] e ROO[•]: radicais livres; A[•]: radical estável.

Fonte: Charles, 2012.

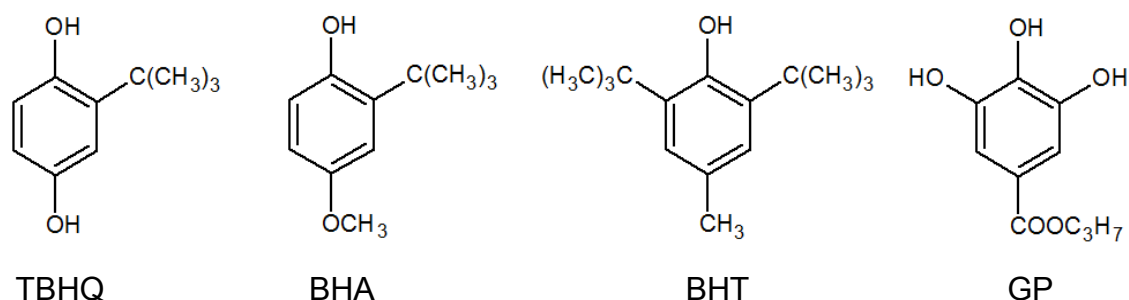
O segundo mecanismo de ação de antioxidantes secundários consiste no sequestro de oxigênio do meio, o mais conhecido dentre estes compostos é o ácido ascórbico, que reage com o oxigênio e forma ácido desidroascórbico, esta reação elimina o oxigênio livre, impedindo a autoxidação, outros exemplos deste tipo de agentes são o palmitato de ascorbila e o ácido eritórbico (PANGLOSSI, 2006).

Outra forma de ação se dá pela decomposição dos hidroperóxidos e formação de produtos estáveis, como exemplo, podem ser citados os fosfolipídios. Os absorvedores de radiação ultravioleta impedem que a energia luminosa catalise a conversão do oxigênio triplete a singlete. Por fim, existem antioxidantes capazes de regenerar os antioxidantes primários a fim de que possam combater a reação oxidativa (JOMOVA; VALKO, 2013).

3.7.2. Classificação química

Quanto à sua origem, os antioxidantes podem ser classificados em sintéticos ou naturais. Os antioxidantes sintéticos são os aditivos mais disseminados nas indústrias de óleos e gorduras e de alimentos gordurosos. São adicionados aos produtos alimentícios para prevenir a oxidação durante a vida de prateleira, e possuem, em sua maioria, estrutura fenólica, como o TBHQ, o BHA, o BHT e o GP, cujas estruturas químicas são elucidadas pela Figura 7 (GORDON, 2004).

Figura 7. Estrutura química de antioxidantes sintéticos.



O TBHQ é comumente utilizado em produtos de origem animal, embora também possua aplicação em produtos vegetais. Possui excelente estabilidade frente à oxidação em temperatura ambiente, porém, em temperaturas elevadas, como as utilizadas em fritura de alimentos, sofre decomposição e perde atividade. O BHA e o BHT são os antioxidantes mais utilizados para preservação tanto de alimentos quanto de produtos derivados do petróleo (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

Embora seja relatada boa eficiência como antioxidantes, estudos revelam atividade carcinogênica em BHA e BHT. Com isto, a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (*European Food Safety Authority* – EFSA) reavaliou a ingestão diária aceitável (IDA) do BHA e do BHT entre os anos de 2011 e 2012, e restabeleceu os valores para 0,25 e 1 mg/kg de peso/dia, respectivamente (EFSA, 2011; 2012). Em 2004, a EFSA publicou um parecer científico afirmando não existirem provas científicas a respeito da carcinogenicidade do TBHQ em humanos e esclarecendo dados conflitantes anteriores (EFSA, 2004).

A legislação internacional (CODEX ALIMENTARIUS, 2009) prevê como concentração máxima permitida de aplicação do TBHQ, BHA, BHT e GP como aditivos alimentares, os valores de 120, 175, 75 e 100 mg/kg, respectivamente. Para o Brasil, o ministério da saúde permite até 200 mg/kg de TBHQ e BHA, e 100 mg/kg de BHT e GP (BRASIL, 2005).

Devido a estes conflitos em relação à toxicidade dos antioxidantes sintéticos, pesquisadores encontraram como alternativa ao uso destes compostos, a aplicação de antioxidantes extraídos de fontes naturais. Nesse âmbito, estão sendo desenvolvidas pesquisas com fontes vegetais para avaliar sua atividade antioxidante e a viabilidade de sua aplicação em alimentos. Já foram avaliadas oleorresinas

vegetais (JORGE; DEL RÉ, 2013), extratos de especiarias e de sementes de frutas (CASAROTTI; JORGE, 2014; LUZIA; JORGE, 2013; VERONEZI; COSTA; JORGE, 2014).

Os antioxidantes naturais estão presentes em diversos alimentos, principalmente os de origem vegetal. Os compostos com propriedades bioativas, capazes de atuar como antioxidantes são os tocoferóis, compostos fenólicos, carotenoides e alguns ácidos orgânicos como o ascórbico e o cítrico (TERRY, 2011).

A vantagem no uso de antioxidantes naturais, em detrimento da aplicação dos sintéticos, se encontra nos benefícios à saúde que estes aditivos promovem. Além de combaterem os radicais livres presentes no alimento, eles também são capazes de inibir a oxidação celular, retardando o envelhecimento das células e o surgimento de doenças imunomodulatórias, tais como o câncer, e doença de Alzheimer (CICHON, 2002).

O consumo de oxigênio pelas células possui efeito paradoxal, pois, por um lado exerce importância vital, mas por outro, ocasiona o estresse oxidativo celular, capaz de alterar globalmente o metabolismo celular. Por isso, o organismo humano produz antioxidantes próprios para combater este processo, além de ser necessária a ingestão de alimentos ricos em antioxidantes para compensar o desequilíbrio metabólico celular (SHILS; SHIKE, 2006).

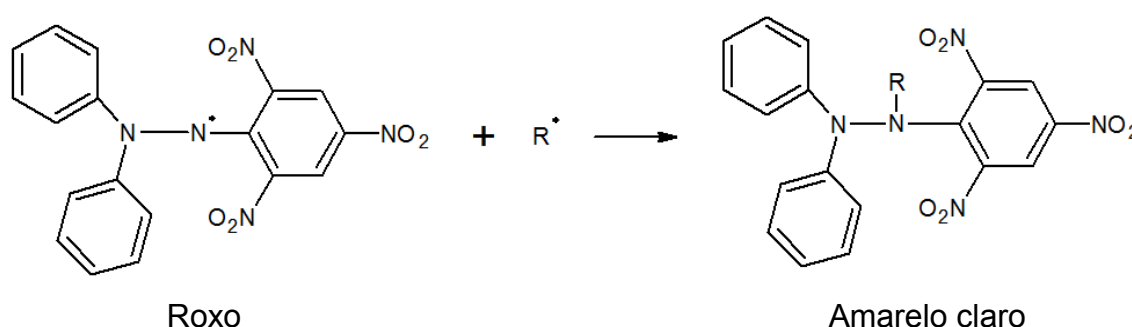
3.7.3. Medida da atividade antioxidante

A atividade antioxidante de um composto é determinada pela sua capacidade em retardar o processo oxidativo por meio da inativação de radicais livres, doação de elétron de átomos de hidrogênio, complexação de íons metálicos ou interação com o oxigênio molecular e/ou dissolvido no meio. Quando duas substâncias dotadas de capacidade antioxidante interagem uma com a outra, evidenciando melhor ação antioxidante do que a verificada em cada uma, isoladamente, tem-se o sinergismo, este efeito pode ocorrer entre antioxidantes sintéticos e naturais (BENZIE; CHOI, 2014).

A maioria dos métodos empregados para determinar o potencial antioxidante de um alimento se baseia em medições colorimétricas, por meio de espectrofotometria na região do visível, em que a descoloração da amostra está diretamente relacionada ao aumento da atividade antioxidante, e é resultante do sequestro dos radicais livres adicionados (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

O método do sequestro do radical DPPH[•] avalia a capacidade da amostra em interagir diretamente com este radical estável provocando decaimento da absorvância mensurada a 517 nm. O radical, quando livre, possui coloração roxa, que sofre mudança para amarelo claro quando o radical se liga a um átomo de hidrogênio estabilizando-se (Figura 8). O DPPH[•] é o radical sintético mais comum empregado no estudo da atividade sequestrante de radicais livres, dos compostos fenólicos (CHENG; MOORE; YU, 2006).

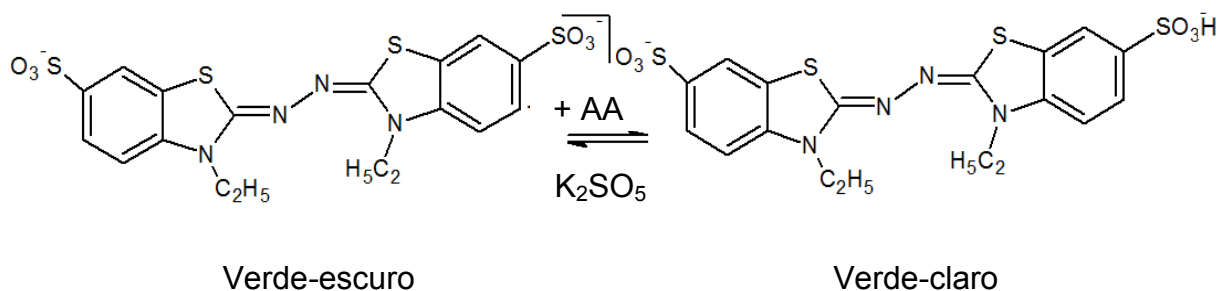
Figura 8. Estabilização do radical livre DPPH[•].



O radical catiônico ABTS^{•+} é formado pela reação do ABTS com persulfato de potássio durante 16 horas, resultando em uma coloração característica azul-esverdeada, com absorção máxima na faixa de 734 nm. Após a doação de um átomo de hidrogênio do antioxidante para o radical, este é reduzido à sua forma não-radical, que é incolor, provocando o decaimento da absorvância (Figura 9). O resultado é expresso em porcentagem de inibição do ABTS^{•+}, em comparação com o decaimento da absorvância provocado por um padrão, geralmente o Trolox, antioxidante sintético de estrutura semelhante à do tocoferol (EREL, 2004).

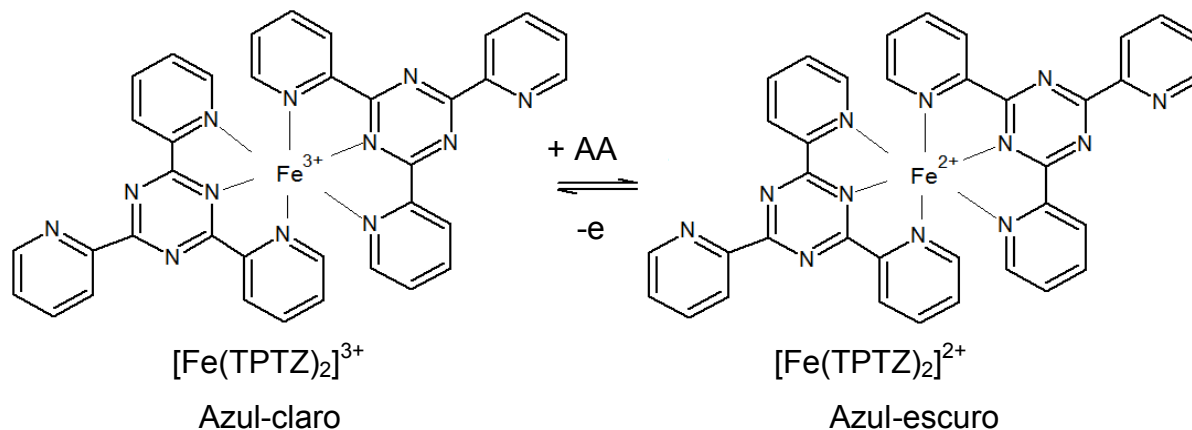
O método do sistema β -caroteno/ácido linoleico se baseia no princípio de que o ácido linoleico é poli-insaturado, e é oxidado por espécies reativas de oxigênio, produzidas no processo de oxigenação da água. Os produtos de degradação formados iniciam a oxidação do β -caroteno, e conduz à sua consequente descoloração. O antioxidante atua impedindo a peroxidação do ácido linoleico, diminuindo o grau de descoloração do β -caroteno. A atividade é medida a 470 nm (ALAM; BRISTI; RAFIQUZZAMAN, 2013).

Figura 9. Estabilização do radical $ABTS^{+\bullet}$ por um antioxidante (AA), e sua formação pela reação com persulfato de potássio.



O *ferric reducing antioxidant power* (FRAP) é um método que mensura a capacidade de redução do composto bis(tripiridil triazina)Fe(III) $[Fe(TPTZ)_2]^{3+}$ para o ferroso $[Fe(TPTZ)_2]^{2+}$, em meio ácido. A espécie oxidante Fe^{3+} é utilizada em excesso estequiométrico, e o antioxidante provoca mudança de coloração, do azul claro para o azul-escuro, ao reduzir o composto (Figura 10). Medida realizada a 593 nm (BENZIE; STRAIN, 1996).

Figura 10. Redução do complexo $[Fe(TPTZ)_2]^{3+}$.



3.8. Estabilidade oxidativa

Métodos para determinação da estabilidade oxidativa surgiram pela necessidade de prever a vida de prateleira de lipídios, nos quais a reação de oxidação é acelerada para obtenção de resultado em menor tempo. Sua medição é feita pelo período de indução: tempo necessário para que o óleo atinja nível de rancidez detectável, ou aumento exponencial da taxa oxidativa. Este índice é influenciado pelo conteúdo de ácidos graxos saturados e insaturados, presença de

antioxidantes endógenos (naturais) ou adicionados, sejam eles naturais ou sintéticos e, ainda, pela interferência de agentes fotossensibilizadores ou pró-oxidantes (KILCAST; SUBRAMANIAM, 2000).

Existem diversos métodos acelerados, utilizados para considerar o final da reação. O método Cd 12-57 da AOCS (2009) consiste no método do oxigênio ativo (*active oxygen method* – AOM), em que 20 g de óleo são colocados em estufa a 98 °C, e amostras de 1 g são retiradas periodicamente e analisadas quanto ao índice de peróxidos. O período de indução é determinado pelo tempo necessário para que o óleo atinja índice de peróxidos igual a 100 meq/kg.

O índice de estabilidade oxidativa, método Cd 12b-92 (AOCS, 2009), é um substituinte automatizado do AOM, e pode ser conduzido em dois equipamentos, o Rancimat e o *Oxidative Stability Instrument* (OSI). Neste método, de 3 a 5 g de óleo são mantidos em temperatura constante, podem ser utilizadas temperaturas entre 80 e 140 °C. Um fluxo de ar constante é injetado na amostra para promover a oxidação acelerada, e os compostos voláteis formados são arrastados e borbulhados em água deionizada, fazendo com que a sua condutividade aumente. O período de indução é determinado pelo tempo necessário para provocar um aumento exponencial da condutividade da água (TALBOT, 2011).

As vantagens deste método são sua reprodutibilidade, por se tratar de um equipamento automático; e o seu baixo custo de análise, devido a não necessitar de reagentes químicos. Por outro lado, os custos para a aquisição e a manutenção do equipamento são elevados, além do período de indução variar muito de um autor para outro, devido a diferenças nas condições de análise utilizadas, como fluxo de ar, temperatura e quantidade de amostra (VELASCO; DOBARGANES; MÁRQUEZ-RUIZ, 2000).

3.9. Matéria insaponificável de óleos vegetais

A matéria insaponificável é constituída pelos compostos minoritários dos óleos e gorduras, e é definida como o conjunto de produtos contidos em um óleo ou gordura, obtida por meio de saponificação com um álcali, extração com solvente orgânico e posterior lavagem com água para remoção dos sais de ácidos graxos (sabões) formados (FONTANEL, 2013).

Esta fração contém, em sua composição, hidrocarbonetos, carotenoides, tocoferóis e esteróis, compostos responsáveis pelas propriedades bioativas de um

óleo, por apresentarem capacidade antioxidante. Alguns compostos indesejáveis para a qualidade do óleo também compõem a fração insaponificável, como óleos minerais, pesticidas e outras impurezas. Cada classe de compostos é representada por um número de componentes responsáveis por características indicativas da identidade do óleo (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

Óleos brutos, em especial os obtidos por prensagem a frio, possuem longa vida de prateleira sem necessidade da adição de antioxidantes, devido ao arraste da matéria insaponificável e seus compostos bioativos durante o processo de extração. Entretanto, este conjunto de compostos representa uma pequena porcentagem do óleo (Tabela 8), sendo constituída majoritariamente por fitoesteróis, 70% (HERNANDEZ; KAMAL-ELDIN, 2013).

Tabela 8. Conteúdo máximo de matéria insaponificável de alguns óleos vegetais.

Óleo	MI (%)
Algodão	1,5
Canola	2,0
Gergelim	2,0
Girassol	1,5
Milho	2,8
Palma	1,2
Soja	1,5

Fonte: Codex Alimentarius, 2009.

Devido à ação de seus componentes, a matéria insaponificável, e ainda, suas frações isoladas, são capazes de retardar a oxidação (FARHOOSH; TAVASSOLI-KAFRANI; SHARIF, 2011), bem como a formação de compostos polares em óleos submetidos a elevadas temperaturas, como as utilizadas em frituras de alimentos (FARHOOSH; TAVASSOLI-KAFRANI, 2010).

Os constituintes mais importantes da matéria insaponificável com suas estruturas, funções e ação antioxidante são elucidadas a seguir.

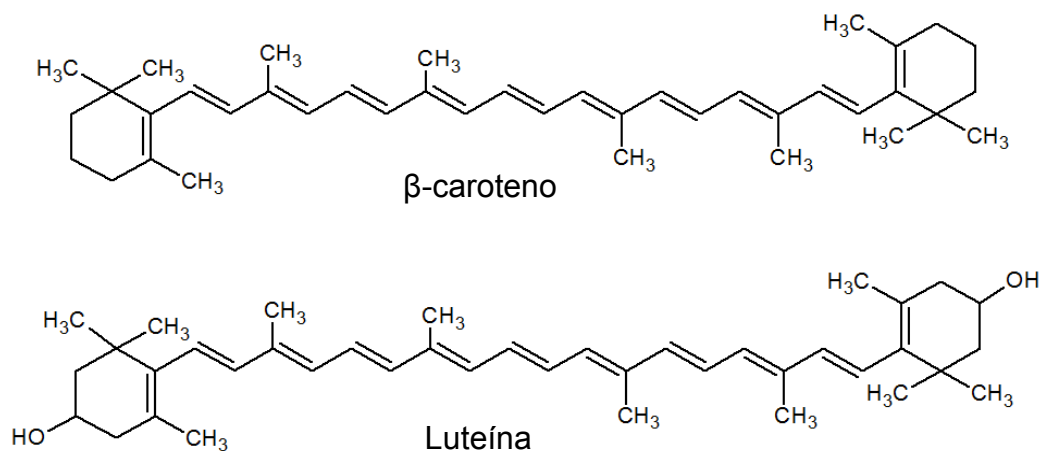
- Carotenoides

Os carotenoides são um grupo de pigmentos naturais presentes em

vegetais, sua coloração varia entre o amarelo e o vermelho. Em plantas verdes e frutos imaturos, são mascarados pelas clorofilas. Existem mais de 700 carotenoides isolados de fontes naturais, destes, cerca de 500 tiveram suas estruturas estudadas até o momento. São constituídos de um tetraterpeno formado por 40 carbonos, com oito unidades isoprenoides de cinco carbonos cada. A molécula possui entre 9 e 15 insaturações em um sistema conjugado que permite a absorção de radiação eletromagnética na região visível do espectro. Este sistema de duplas ligações conjugadas é o responsável pela função de estabilização destes pigmentos (BRITTON; LIAAEN-JENSEN; PFANDER, 2004; POPOVA; ANDREEVA, 2013).

Esta classe de compostos pode ser dividida em dois subgrupos: os carotenos, apolares, e as xantofilas, as quais diferem dos primeiros pela presença de, pelo menos, um átomo de oxigênio em sua molécula. A Figura 11 ilustra a estrutura química de um caroteno, o β -caroteno, e de uma xantofila, a luteína.

Figura 11. Estrutura química dos principais carotenoides presentes em óleos vegetais.



Nos vegetais, os carotenoides estão localizados em organelas fotossintéticas, associados a outros compostos isoprenoides como os tocoferóis e as clorofilas, e desempenha diversas funções fisiológicas como absorção de luz, fotoproteção, transferência e sequestro de elétrons, além de funções estruturais. Outra importante função dos carotenoides em organismos fotossintéticos é a de pigmento acessório, suas moléculas captam a luz em frequências que as clorofilas não são capazes de absorver e transferem para as clorofilas por meio do mecanismo singlet-singlet, ampliando assim a região espectral da luz solar utilizada

(POPOVA; ANDREEVA, 2013).

Os carotenoides apresentam ação de desativação do oxigênio singlete, a forma mais reativa do oxigênio, ou como sequestradores de radicais peroxila, reduzindo a incidência de doenças degenerativas no organismo por diminuir o efeito oxidativo em lipídios e no material genético. Porém, estes compostos possuem atividade ótima apenas em níveis muito baixos de oxigênio, em altos níveis ocorre a destruição dos carotenos (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

O licopeno possui atividade antioxidante e impede a formação de radicais livres no organismo por reação com peróxidos e oxigênio, retardando o envelhecimento. É muito conhecido por prevenir o aparecimento do câncer de próstata (DELLA LUCIA et al., 2008).

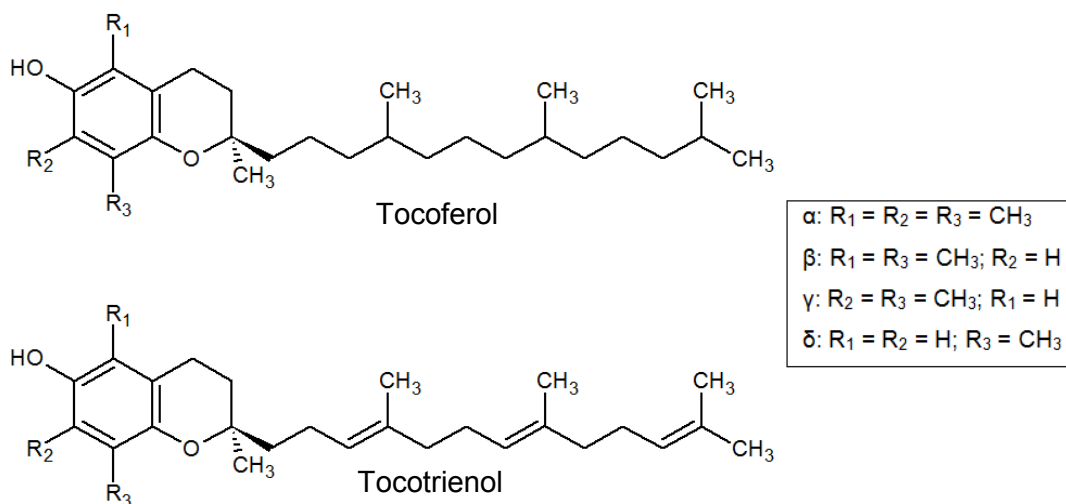
Além de combaterem os radicais livres, os carotenoides também fornecem precursores para a biossíntese de vitamina A (all-trans-retinol). Sua geração no organismo se inicia a partir da ingestão de carotenoides, por meio dos anéis β - não modificados. O mais eficiente dentre os carotenoides é o β -caroteno, devido à sua capacidade de formar duas moléculas de retinol pela presença de dois anéis β -ionona não hidroxilados em sua estrutura. O α -caroteno e a β -criptoxantina também possuem potencial de pró-vitamina A, mas originam apenas uma molécula de vitamina A (CUTTRISS et al., 2011).

A ingestão de quantidade insuficiente de carotenoides causa deficiência de vitamina A no organismo, responsável por retardo no crescimento, cegueira noturna e aumento da susceptibilidade a doenças infecciosas. As quantidades de vitamina A diárias recomendadas para crianças e para adultos são, respectivamente, 300-600 e 900-1300 μg , o que é equivalente à ingestão de 3 a 6 mg de β -caroteno por dia (SIZER; WHITNEY; PICHÉ, 2012). Este aporte deve ser adquirido pela ingestão cinco ou mais porções diárias de frutas e vegetais.

- Tocóis

Os tocóis estão naturalmente presentes na maioria dos óleos vegetais, são substâncias lipossolúveis, precursoras da vitamina E, e classificadas em dois grandes grupos: os tocoferóis e os tocotrienóis, os quais se diferem pelas insaturações em sua cadeia alifática. Cada classe de compostos apresenta quatro isômeros, α -, β -, γ - e δ -. A Figura 12 elucida a estrutura química dos tocoferóis e tocotrienóis (BARCIA et al., 2010).

Figura 12. Estrutura química dos tocóis.

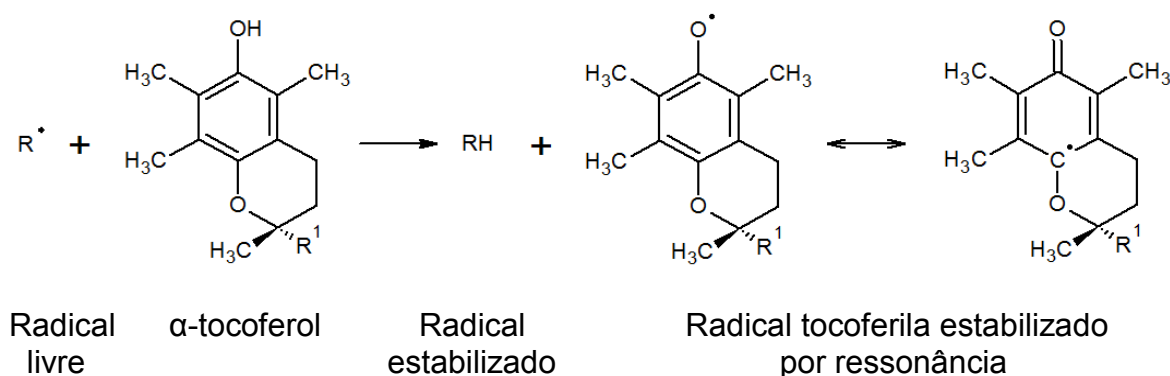


Podem ser encontrados em óleo de algodão, palma, coco, canola, amendoim, entre outros. Porém, o óleo de milho é o mais rico nestes compostos. O conteúdo de tocoferóis presente em um óleo vegetal está diretamente ligado ao processo de obtenção e transformação deste; óleos refinados têm 80% de seu conteúdo vitamínico reduzido (GUINAZI et al., 2009).

São potentes antioxidantes naturais, amplamente utilizados como protetores dos óleos contra a oxidação lipídica, sua ação antioxidante consiste na capacidade de doação de seus hidrogênios fenólicos a radicais livres para estabilizá-los, tornando-se os radicais tocoferila, os quais se estabilizam por ressonância, para impedir a continuidade da reação em cadeia (Figura 13). Podem ser produzidos por síntese e comercializados para aplicação em alimentos, como aditivo. O *Codex Alimentarius Commission* (2009), prevê a concentração máxima de 300 mg/kg para adição de α -tocoferol em óleos vegetais; já para legislação nacional, o valor é de 500 mg/kg (BRASIL, 2005).

Além da sua atividade antioxidante no alimento, os tocoferóis possuem atividade pró-vitamínica E. Dentre os isômeros, o α -tocoferol possui a maior atividade de vitamina E no organismo. Devido à seletividade de proteínas de transferência de tocoferol do fígado, as moléculas de α -tocoferol são metabolizadas e os demais isômeros são eliminados. O α -tocoferol atua inibindo o envelhecimento celular e, conseqüentemente, prevenindo doenças (BELLOCK, 2007).

Figura 13. Mecanismo de ação antioxidante do tocoferol.



Entretanto, quando aplicado em grandes quantidades, a partir de 600 mg/kg, submetido a variações de temperatura e interação entre hidroperóxidos e radicais α -tocoferoxila, o α -tocoferol pode deixar de atuar como antioxidante e acelerar o processo oxidativo por meio de seus radicais α -tocoferila e α -tocoferoxila (CHAPMAN; KIM; MIN, 2009), tanto nos alimentos, como no organismo humano. Os radicais podem capturar o hidrogênio de outras moléculas e células, causando quebras cromossômicas do DNA e surgimento de peróxidos lipídicos nas moléculas de DNA. Além de serem susceptíveis à luz, ao calor e ao oxigênio, não sendo capazes de proteger óleos aquecidos e/ou utilizados para fritura de alimentos (FENECH, 2002).

Com o intuito de analisar a ação pró-oxidante dos tocoferóis, Jung e Min (1992) aplicaram os isômeros α , γ e δ -tocoferol oxidados em óleo de soja purificado, submetido a estocagem em 55 °C, em diferentes concentrações. Verificou-se que o aumento da concentração dos isômeros oxidados elevou o índice de peróxidos, além de se concluir que o α -tocoferol possui a maior atividade pró-oxidante.

- Fitosteróis

Os esteróis são um tipo de esteroides, hormônios lipofílicos presentes na composição das membranas celulares, responsáveis pela regulação da fluidez da membrana de animais e vegetais em diferentes temperaturas. Os fitosteróis são esteróis de origem vegetal com função análoga e estrutura química semelhante à do colesterol, nos animais (Figura 14). São divididos em esteróis e estanóis, e diferem-se pelas insaturações presentes nas moléculas do segundo grupo. Apresentam os isômeros brassicasterol, campesterol, estigmasterol, sitosterol e avenasterol. O isômero mais abundante em óleos vegetais é o β -sitosterol (DELLAPENA; MÈNE-

aditivos em seus produtos para repor e/ou acrescentar fitosteróis aos produtos alimentícios com o intuito de melhorar a qualidade dos alimentos ingeridos pelos consumidores. O creme vegetal enriquecido com ésteres de fitosteróis, desenvolvido por Rodrigues et al. (2004), evidenciou maior resistência ao calor, em comparação com o produto convencional, e obteve boa aceitação sensorial.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. Coleta e preparo dos frutos

Os frutos da palmeira de dendê (*Elaeis guineensis*) foram provenientes da cidade de Tailândia, PA, Brasil, latitude S 02° 31' 31.3", longitude W 048° 47' 46.0", média da umidade relativa do ar 90,1%, temperatura média na plantação 26,4 °C, pluviosidade média de 252,1 mm/ano (ano base 2013), colhidos entre os meses de dezembro de 2013 e março de 2014. A coleta dos frutos foi realizada por colaboradores, com o auxílio de sachos, para palmeiras menores, e foices, para palmeiras maiores. Após este processo, os cachos com os frutos caíram ao chão, foram recolhidos por tratores de coleta e levados ao container da empresa. Para o transporte, os frutos foram retirados dos cachos. As amostras foram enviadas congeladas, em sacos plásticos dentro de caixas de papelão, via correios. Os frutos chegaram ao laboratório com 21,57% de umidade, foram selecionados, retirando-se aqueles que apresentavam injúrias, sinais de podridão e/ou ataque por insetos ou outros animais, lavados, secos com toalhas de papel e armazenados a -18 °C até o momento da extração de óleo. Imediatamente antes desse processo, os frutos foram secos por 24 h a 40 °C em estufa com circulação de ar forçada para redução da umidade até valores abaixo de 10%, o teor obtido foi de 5,97%. Após a secagem, as polpas foram separadas manualmente das amêndoas com o auxílio de uma faca inox, e homogeneizadas.

4.1.2. Obtenção do óleo de palma

A polpa seca apresentava, inicialmente, 65,71% de lipídios, método Ba 3-38 AOCS, 2009. O óleo foi obtido por prensagem a frio, em prensa hidráulica de aço inox com capacidade para 15 toneladas de pressão, modelo TE – 098 (Tecnal, Piracicaba, Brasil), obteve-se o rendimento de 20,32%. Utilizou-se papel de filtro com sulfato de sódio anidro para a filtragem, frasco âmbar para acondicionamento, e nitrogênio gasoso para a inertização. O frasco foi lacrado e armazenado a -18 °C até o momento das análises.

4.1.3. Obtenção da matéria insaponificável

A matéria insaponificável do óleo de palma foi quantificada de acordo com o método oficial Ca 6b-53 AOCS (2009). Após a extração, o solvente foi removido sob pressão reduzida a 40 °C. Para aplicação no óleo de soja, após obtenção, a matéria insaponificável foi armazenada a -18 °C até o momento das análises, e utilizada na concentração de 200 mg/kg.

4.1.4. Óleo de soja

O óleo de soja refinado foi adquirido no comércio local, sem a adição de antioxidantes sintéticos e ácido cítrico, em embalagens de 900 mL. A purificação do óleo de soja refinado comercial com alumina foi realizada de acordo com o método descrito por Steel (2002), sendo a alumina ativada em estufa a 180 °C por 2 horas. O processo foi realizado respeitando-se a proporção de 150 g de óleo de soja refinado comercial para 75 g de alumina (Al_2O_3). Utilizou-se coluna aberta de 2 cm de diâmetro para fins cromatográficos, empregando-se areia do mar tratada e um tampão de algodão para reter o conteúdo. A amostra percolou a alumina por duas vezes com o auxílio de uma bomba de vácuo, ficando retidas as impurezas e os compostos bioativos contidos no óleo; o produto da segunda passagem foi utilizado para o preparo dos tratamentos que foram submetidos à estocagem acelerada em estufa.

4.1.5. Antioxidante comercial

O antioxidante α -tocoferol, em sua forma comercial, foi fornecido pela empresa GNTLab, marca Sigma Aldrich, 96% de pureza. Foi adicionado ao óleo de soja na concentração de 200 mg/kg.

4.2. Estocagem acelerada em estufa

O teste acelerado em estufa foi realizado para os tratamentos: óleo de soja refinado (OSR), óleo de soja refinado + α -tocoferol (OSRT), óleo de soja refinado + matéria insaponificável (OSRM), óleo de soja purificado (OSP), óleo de soja purificado + α -tocoferol (OSPT) e óleo de soja purificado + matéria insaponificável (OSPM). Os tratamentos foram mantidos em estufa aquecida a 60 °C por 20 dias, utilizando-se béqueres de 100 mL contendo 60 mL de amostra com relação

superfície/volume de 0,3/cm. Todas as amostras, em diferentes intervalos de tempo (0, 5, 10, 15 e 20 dias), foram recolhidas, inertizadas com nitrogênio gasoso e armazenadas à -18 °C até o momento das análises.

4.3. Métodos

4.3.1. Ácidos graxos livres

O teor de ácidos graxos livres indica o nível de decomposição dos triacilgliceróis presentes no óleo. Este índice foi determinado pelo método Ca 5a-40 da AOCS (2009), expresso em % de ácido palmítico. A determinação foi realizada com a utilização de titulador potenciométrico modelo 794 Basic Titrino (Metrohm, Herisau, Suíça).

4.3.2. Peróxidos

O índice de peróxidos determina todas as substâncias que oxidam o iodeto de potássio (KI), em miliequivalentes de oxigênio ativo por quilograma de matéria graxa. Estas substâncias são geralmente consideradas como peróxidos ou outros produtos similares da oxidação de gorduras. Este índice foi determinado segundo a norma Cd 8-53 da AOCS (2009), com utilização de titulador potenciométrico modelo 794 Basic Titrino (Metrohm, Herisau, Suíça), a qual mede o iodo produzido a partir da reação do iodeto de potássio com os peróxidos.

4.3.3. Dienos conjugados

O método determinou dienos conjugados presentes na matéria graxa, expressos como porcentagem de ácidos dienoicos conjugados, após leitura da absorvância a 233 nm em espectrofotômetro UV/vis modelo UV Mini 1240 (Shimadzu, Kyoto, Japão). Para esta determinação foi utilizado o método Ti 1a-64 AOCS (2009).

4.3.4. 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 30 dias. O índice de estabilidade é definido como o tempo requerido para um aumento de

massa de 0,5% (IQBAL; BHANGER, 2007).

4.3.5. Estabilidade oxidativa

A medida da estabilidade oxidativa foi conduzida conforme método proposto pela metodologia Cd 12b-92 AOCS (2009) que utiliza o equipamento Rancimat (Metrohm Ltd., Herisau, Suíça), e se baseia na determinação da condutividade elétrica dos produtos voláteis de degradação. A determinação foi realizada a 110 °C, 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. O período de indução foi expresso em horas.

4.3.6. Perfil de ácidos graxos

Foi realizada a análise de perfil de ácidos graxos dos tratamentos já citados para verificar a possível alteração dos ácidos graxos presentes no óleo de soja após o período de estocagem. Com o objetivo de avaliar se a presença da matéria insaponificável e do α -tocoferol é capaz de impedir a modificação dos ácidos graxos. A composição de ácidos graxos foi determinada por meio dos ésteres metílicos dos ácidos graxos presentes nos óleos segundo procedimento descrito pela Ce 2-66 da AOCS (2009). Para a determinação dos ácidos graxos foi utilizado o método Ce 1-62 da AOCS (2009) com adaptações. A análise foi realizada em cromatógrafo gasoso modelo GC 3900 (Varian, Walnut Creek, USA) com detector de ionização de chama, injetor split e amostrador automático. Condições de análise: coluna capilar de sílica fundida CP-Sil 88 (Varian, Walnut Creek, USA) de 60 m de comprimento, com diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 0,20 μ m. A programação de temperatura da coluna foi iniciada em 90 °C por 4 minutos, aquecida a 10 °C/min até 195 °C e mantida em isoterma durante 16 min. As temperaturas utilizadas no injetor e no detector foram 230 e 250 °C, respectivamente. O gás de arraste foi o hidrogênio com velocidade linear de 30 mL/min. Os ácidos graxos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção de padrões puros de ésteres metílicos de ácidos graxos com os componentes separados das amostras e a quantificação foi feita por normalização de área. Foi utilizada como padrão uma mistura composta de 5 ésteres metílicos de ácidos graxos FAME MIX GLC-10 (Supelco, Bellefonte, USA), C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, com pureza entre 99,1 e 99,9%. Os resultados foram expressos como g/100 g de óleo.

4.3.7. Composição teórica de triacilgliceróis

A composição provável de triacilgliceróis do óleo de palma foi determinada pelo uso do programa computacional desenvolvido por Antoniosi Filho, Mendes e Lanças (1995), a partir da composição de ácidos graxos da amostra.

4.3.8. Carotenoides totais

Para a obtenção do teor de carotenoides totais do óleo de palma e do óleo de soja foi utilizada a metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (1999) para extração dos carotenoides. A quantificação dos carotenoides totais expressos em β -caroteno/g foi determinada no comprimento de onda de absorção máxima e valor de A de 2592, em éter de petróleo. Foi utilizado o espectrofotômetro modelo UV Mini 1240 (Shimadzu, Kyoto, Japão).

4.3.9. Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram quantificados colorimetricamente pelo método de Folin-Ciocalteu. Este método é o mais utilizado para a determinação de compostos fenólicos totais em alimentos e se baseia na redução dos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico em solução alcalina. A cor azul produzida pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos compostos fenólicos é medida por espectrofotometria (SINGLETON; ROSSI, 1965). Neste procedimento, os compostos fenólicos do óleo de palma e do óleo de soja foram extraídos utilizando metanol, de acordo com Parry et al. (2005); 100 μ L desta solução foram adicionados de 500 μ L do reagente Folin-Ciocalteu, 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 absorvância foi determinada a 765 nm em espectrofotômetro UV/vis modelo UV Mini 1240 (Shimadzu, Kyoto, Japão). Para a quantificação, foi feita uma curva analítica utilizando ácido gálico em concentrações de 0 a 500 mg/L, a equação da reta obtida por regressão linear foi $y = 0,0017x + 0,0185$, e coeficiente de determinação de 0,9992. Os teores de compostos fenólicos totais foram expressos como miligrama de equivalente em ácido gálico por grama de óleo (mg EAG/g).

4.3.10. Perfil de tocoferóis

Para a análise cromatográfica de tocoferóis, segundo o método AOCS Ce 8-89 (2009), foi utilizado o cromatógrafo líquido de alta eficiência, modelo Pro Star

210-263 (Varian, Walnut Creek, USA), equipado com detector de fluorescência. De acordo com as condições da análise, foi utilizada a coluna de aço inox empacotada com sílica Microsorb 100 Si (Varian, Walnut Creek, USA) 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 puros. A quantificação de cada isômero foi realizada por padronização externa com base nas áreas dos picos, utilizando padrões de α -, β -, γ - e δ -tocoferol (Supelco, Bellefonte, USA) com grau de pureza de 99,9, 98,0, 99,4 e 99,6%, respectivamente. Os teores de tocoferóis individuais foram expressos como mg/kg.

4.3.11. Perfil de fitosteróis

Os conteúdos de fitosteróis foram determinados por cromatografia gasosa após saponificação prévia das amostras. A saponificação prévia das amostras foi realizada conforme Duchateau et al. (2002). Pesou-se aproximadamente 0,8 g de óleo em um tubo de ensaio com rosca e tampa, adicionou-se 100 µL do padrão interno β -colestanol e 1 mL de solução alcoólica de hidróxido de potássio. Em seguida, homogeneizou-se em vortex a solução por 10 segundos e colocou-se em banho-maria a 70°C por 50 min, homogeneizando a cada 5 min em vortex. Após, adicionou-se 1 mL de água destilada e 5 mL de n-hexano. Agitou-se vigorosamente, e transferiu-se a camada orgânica para outro tubo de ensaio contendo sulfato de sódio anidro. Esta operação foi repetida mais duas vezes com 5 e 4 mL de n-hexano. As fases orgânicas foram combinadas, homogeneizadas e deixadas em repouso até ficar límpida. Durante todo o procedimento, o tubo de ensaio foi coberto com papel alumínio para evitar a degradação dos isômeros de fitosteróis pela ação da luz. Para as determinações dos teores de fitosteróis foi utilizado o método Ch 6-91 da AOCS (2009) com adaptações. As análises foram realizadas em cromatógrafo a gás marca Shimadzu, modelo CG 2010-Plus, equipado com detector de ionização de chama, injetor split e amostrador automático. Os compostos foram separados em coluna capilar de sílica fundida (Restek RTX 5) de 30 m de comprimento, com diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 0,25 µm. A programação de temperatura da coluna foi iniciada em 300°C e mantida em isoterma durante 12 min. As temperaturas utilizadas no injetor e no detector foram 280 e 320°C,

respectivamente. As amostras foram injetadas no volume de 1 µL, adotando-se a razão de divisão de 50:1. O gás de arraste foi o hidrogênio com velocidade linear de 40 mL/min. Os fitosteróis foram identificados por comparação com o tempo de retenção dos padrões puros analisados nas mesmas condições das amostras. A quantificação de cada isômero foi realizada por padronização interna (β -colestanol = 5 α -cholestano-3 β -ol, grau de pureza de 95% em terc-butil-metil-éter, na concentração de 3 mg/mL) com base nas áreas dos picos, utilizando padrões de colesterol, campesterol, estigmasterol, β -sitosterol e estigmastanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) com grau de pureza de 99, 99, 95, 98 e 97,4%, respectivamente. Os teores de fitosteróis individuais foram expressos como mg por 100 g de óleo (mg/100 g).

4.3.12. Atividade antioxidante do óleo de palma

- Método do radical livre DPPH[•] (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)

A capacidade antioxidante determinada pelo método do radical livre DPPH[•] conforme metodologia descrita por Kalantzakis et al. (2006) consistiu na utilização de uma solução de DPPH[•] em acetato de etila na concentração de 40 µg/mL. Após o tempo de reação de 30 minutos no escuro, a absorvância foi lida a 517 nm em espectrofotômetro UV/vis modelo UV Mini 1240 (Shimadzu, Kyoto, Japão). Foram feitos um branco para a amostra, sem adição da solução de DPPH[•], e um controle, sem adição de amostra. O resultado foi expresso em porcentagem, e calculado de acordo com a fórmula a seguir:

$$AA (\%) = \frac{Abs_{controle} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})}{Abs_{controle}} \times 100$$

Onde:

AA = atividade antioxidante em porcentagem;

$Abs_{controle}$ = absorvância do controle a 517 nm;

$Abs_{amostra}$ = absorvância da amostra a 517 nm;

Abs_{branco} = absorvância do branco a 517 nm;

- Método do radical livre ABTS^{•+}

A atividade antioxidante total por meio do método de captura do radical livre ABTS^{•+} foi determinada segundo metodologia descrita por Re et al. (1999). O radical ABTS^{•+} foi formado pela reação da solução de ABTS a 7 mmol/L com a solução de

persulfato de potássio a 140 mmol/L, que foi mantida no escuro por 16 horas. A leitura das amostras foi realizada a 734 nm, em espectrofotômetro UV/vis modelo UV Mini 1240 (Shimadzu, Kyoto, Japão), após 6 minutos de reação. Para quantificação, foi gerada uma curva de calibração utilizando Trolox como padrão, em concentrações de 50 a 2.000 mmol/L, cuja equação da reta obtida foi $y = -0,0003x + 0,6761$ com coeficiente de determinação de 0,9979 e o resultado expresso em $\mu\text{mol Trolox}/100 \text{ g}$;

- Sistema β -caroteno/ácido linoleico

Consiste no método de descoloramento do β -caroteno descrito por Marco (1968) e modificado por Miller (1971). Este método se baseia na descoloração do β -caroteno induzida pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoleico. Uma alíquota da solução de β -caroteno (0,2 mg/mL em clorofórmio) foi misturada ao ácido linoleico e ao Tween 40, sendo o clorofórmio, em seguida, completamente evaporado com nitrogênio gasoso. Após adição de 100 mL de água deionizada incorporada com oxigênio, alíquotas de 5,0 mL da emulsão β -caroteno/ácido linoleico foram misturadas a 0,5 mL da solução da amostra de óleo em etanol. A absorvância a 470 nm foi monitorada em espectrofotômetro UV/vis modelo UV Mini 1240 (Shimadzu, Kyoto, Japão), a cada 15 minutos, durante 2 horas com os tubos mantidos em banho-maria a 50 °C. Durante as leituras, um branco foi preparado substituindo-se a amostra por 0,5 mL de etanol. A atividade antioxidante foi calculada em termos do percentual de inibição (%), relativa ao controle, de acordo com a equação a seguir:

$$\text{Inibição (\%)} = \frac{(TDc - TDa)}{TDc} \times 100$$

Onde:

TD = taxa de degradação = diferença entre a Absorvância no tempo zero e no tempo de 120 min;

TDc = taxa de degradação do branco;

TDa = taxa de degradação da amostra.

O cálculo do fator cinético foi feito a partir do gráfico da curva cinética da taxa de degradação *versus* tempo. A partir da curva do controle e da curva referente

à amostra foram calculados os valores de F1 e F2 por meio da equação:

$$F = tg_a/tg_b$$

Onde:

tg_a = tangente da curva cinética da amostra;

tg_b = tangente da curva cinética do branco;

Foi considerado como valor referente às tangentes o coeficiente resultante da divisão entre o cateto oposto (obtido pela diferença entre as absorvâncias dentro do tempo avaliado) e cateto adjacente (obtido pela diferença entre os tempos). O valor de F1 foi calculado no intervalo de 15 a 45 min enquanto o valor de F2, de 75 a 105 min, quanto mais próximos de zero forem os fatores maior é a eficiência do antioxidante.

- Método da redução do ferro (FRAP)

A atividade antioxidante foi determinada pela redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe^{3+} segundo metodologia descrita por Szydłowska-Czerniak et al. (2008), empregando mistura de tampão acetato a 300 mM, solução 10 mmol/L de TPTZ em 40 mM de ácido clorídrico e 20 mmol/L de solução aquosa de cloreto férrico. Esse sistema foi mantido, aproximadamente, a 37 °C por 30 minutos e a absorvância foi medida a 593 nm em espectrofotômetro UV/vis modelo UV Mini 1240 (Shimadzu, Kyoto, Japão). Para a quantificação, foi gerada uma curva de calibração utilizando Trolox como padrão, em concentrações de 50 a 2.000 mmol/L, a atividade antioxidante foi calculada substituindo-se o valor de absorvância lido na equação da reta obtida ($y = 0,0016x - 0,0207$, $R^2 = 0,9990$) e o resultado foi expresso em μmol de Trolox/100 g.

4.4. Análise estatística

O trabalho foi realizado em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado, cujos resultados, obtidos das determinações analíticas, em triplicata, foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 5% de probabilidade, por meio do programa ASSISTAT, versão 7.7.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Óleo de palma

5.1.1. Características químicas

Os resultados das características químicas do óleo de palma avaliadas encontram-se na Tabela 9. O teor de ácidos graxos livres (1,38%) obtido para o óleo de palma avaliado, permite comparar sua qualidade à do óleo de palma bruto de qualidade *premium* analisado por Zulkurnain et al. (2012), cuja porcentagem encontrada foi de 1,34%.

Tabela 9. Características químicas do óleo de palma.

Parâmetro	Valores
Ácidos graxos livres (% ácido palmítico)	1,38 ± 0,05
Peróxidos (meq/kg)	3,86 ± 0,03
Matéria insaponificável (%)	2,01 ± 0,04
Estabilidade oxidativa (horas)	4,61 ± 0,72

O índice de peróxidos quantifica compostos de degradação primária, formados nos estágios iniciais da reação de autoxidação. O óleo de palma avaliado neste trabalho apresentou 3,86 meq de oxigênio ativo/kg de óleo, valor que representa, aproximadamente, 26% do valor máximo permitido para óleos vegetais brutos e/ou extraídos por prensagem a frio, que é de 15 meq/kg (CODEX ALIMENTARIUS, 2009).

No estudo de Azlan et al. (2010), o óleo de palma e o azeite de oliva refinados evidenciaram índice de peróxidos de 7,98 meq/kg, valor superior ao encontrado neste trabalho para o óleo de palma bruto (3,86 meq/kg).

A matéria insaponificável é constituída pelos compostos minoritários do óleo, como óleos minerais, carotenoides, tocoferóis, fitosteróis e impurezas (FONTANEL, 2013). O *Codex Alimentarius Commission* (2009) especifica como teor máximo de matéria insaponificável em óleo de palma, o valor de 1,2%, sendo que a amostra analisada apresentou teor mais elevado, de 2,01%. Entretanto, Morales et al. (2012) encontraram teor de 2,5% de matéria insaponificável no óleo de palma, em estudo

de matérias-primas para produção de biodiesel, demonstrando que o valor pode variar, e ser maior que o indicado pela legislação internacional.

O período de indução obtido para o óleo de palma bruto avaliado no neste estudo, 4,61 horas, pode ser considerado baixo quando comparado ao óleo de palma refinado estudado por Corsini, Silva e Jorge (2009), que foi de 141,34 horas. A determinação foi realizada em equipamento Rancimat, a 100 °C, e fluxo de 20 L/h. Esta divergência se deve ao processo de refino, o qual retira os fosfatídeos presentes no óleo bruto, responsáveis pela redução da estabilidade oxidativa (ZIN, 2006). O estudo de Mozzon et al. (2013) reitera esta informação, pois o período de indução evidenciado pelo óleo de palma bruto extraído a partir de frutos híbridos (*Elaeis guineensis* x *Elaeis oleifera*) foi de 5,7 horas, próximo ao obtido no presente trabalho. A determinação se deu pela utilização de 5 g de amostra, submetida a 110 °C e fluxo de ar de 20 L/h.

A Tabela 10 apresenta a composição de ácidos graxos e triacilgliceróis do óleo de palma. O óleo de palma pode ser considerado um óleo alto oleico, 49,51%, importante do ponto de vista nutricional, pela capacidade do ácido oleico em elevar os níveis sanguíneos do colesterol bom, HDLc, e diminuir as concentrações do colesterol ruim, LDLc. Também foram evidenciados ácidos graxos saturados em grande proporção, dentre eles, o palmítico apresentou o maior percentual, 41,82%. O elevado aporte de ácidos graxos saturados e monoinsaturados encontrado confere estabilidade oxidativa ao óleo.

O óleo de palma em estudo apresentou teores de ácido palmítico e α -linolênico similares aos encontrados por Mozzon et al. (2013) em óleo de palma da espécie *Elaeis guineensis*. Em seu estudo, foi avaliada a composição de ácidos graxos do óleo obtido a partir de planta híbrida *Elaeis guineensis* x *Elaeis oleifera* em comparação com a espécie pura *Elaeis guineensis*. O produto obtido apresentou-se mais insaturado, exibindo aproximadamente a metade do teor de ácido palmítico e uma pequena diminuição da porcentagem de ácido esteárico.

Os óleos de palma comumente apresentam quantidades quase igualitárias de ácidos graxos saturados e insaturados, com proporção de saturados/insaturados próxima de 1 (BERGER, 2003), no presente estudo esta proporção foi de 0,80.

Tabela 10. Composição de ácidos graxos e triacilgliceróis do óleo de palma (*Elaeis guineensis*).

Ácidos graxos	(%)
Palmítico (C16:0)	41,82 ± 0,04
Esteárico (C18:0)	2,55 ± 0,01
Oleico (C18:1)	49,51 ± 0,04
Linoleico (C18:2)	5,88 ± 0,03
α-linolênico (C18:3)	0,24 ± 0,01
Saturados	44,37 ± 0,03
Insaturados	55,63 ± 0,03
Poli-insaturados	6,12 ± 0,03
Saturados/Insaturados	0,80 ± 0,01
Triacilgliceróis	(%)
PPP (48:0)	7,50 ± 0,01
SPP (50:0)	1,38 ± 0,03
POP (50:1)	26,67 ± 0,03
PLP (50:2)	3,18 ± 0,00
SOP (52:1)	3,28 ± 0,06
POO(52:2)	31,59 ± 0,04
PLO (52:3)	7,53 ± 0,01
SOO (54:2)	1,94 ± 0,04
OOO (54:3)	12,47 ± 0,02
OLO (54:4)	4,46 ± 0,01

P: palmítico; S: esteárico; O: oleico; L: linoleico; Ln: α-linolênico.

De acordo com a Tabela 10, dos triacilgliceróis encontrados, o majoritário foi o POO (palmítico – oleico – oleico), com 31,59%, seguido por 26,67% de POP (palmítico – oleico – palmítico) e por 12,47% de OOO (oleico – oleico – oleico).

Observou-se que o número máximo de insaturações por molécula foi quatro, indicando que os triacilgliceróis que compõem o óleo de palma são, em sua maioria, formados por ácidos graxos saturados e monoinsaturados, devido aos elevados teores dos ácidos palmítico e oleico evidenciados pela análise de perfil de ácidos graxos.

5.1.2. Compostos bioativos

A Tabela 11 explicita os teores de compostos bioativos do óleo de palma. O óleo de palma possui coloração vermelha intensa, a qual se deve ao elevado teor de carotenoides. Para a amostra avaliada, encontrou-se o valor de 1.524,30 μg β -caroteno/g, em conformidade com o *Codex Alimentarius* (2009), que estabelece o intervalo de 500 a 2.000 μg β -caroteno/g para óleos de palma não branqueados. De acordo com Teixeira et al. (2013), no óleo de palma extraído por método enzimático, o teor máximo de carotenoides totais obtido foi de, aproximadamente, 1.270 μg β -caroteno/g para o tratamento com utilização de pectinase e celulase combinadas, permitindo inferir que o método de extração por prensagem a frio foi mais eficiente no arraste de carotenoides do que o método enzimático.

Tabela 11. Teores de compostos bioativos do óleo de palma.

Compostos	Teor
Carotenoides totais (μg β -caroteno/g)	1.524,30 \pm 9,12
Compostos fenólicos totais (mg EAG/100 g)	126,31 \pm 1,26
Tocoferóis (mg/kg)	
α -tocoferol	43,03 \pm 0,72
γ -tocoferol	197,33 \pm 0,32
δ -tocoferol	17,20 \pm 0,72
Total	257,57 \pm 1,12
Vitamina E (mg/kg)	77,12 \pm 0,75
Vitamina E expressa como α -tocoferol (mg/kg)	70,10 \pm 0,69
Fitosteróis (mg/100 g)	
Campesterol	14,84 \pm 0,17
β -sitosterol	83,50 \pm 0,40
Total	98,34 \pm 0,52

O conteúdo de compostos fenólicos totais evidenciado pelo óleo de palma foi de 126,31 mg EAG/100 g, valor bastante superior ao encontrado em um óleo de palma bruto proveniente da Polônia, 9,1 mg EAG/100 g. Esta comparação permite constatar que o óleo de palma em estudo, proveniente do Estado do Pará, no Brasil, possui melhor qualidade nutricional do que este óleo polonês, em relação ao conteúdo de compostos fenólicos totais (SZYDŁOWSKA-CZERNIAK et al., 2011).

O isômero β -tocoferol não foi detectado pela análise realizada. Em contrapartida, o mais abundante no óleo de palma foi o γ -tocoferol, representando em torno de 77% do total de tocoferóis.

Este composto é muito importante ao óleo devido à sua estabilidade frente a reações oxidativas, é o segundo mais resistente a operações de aquecimento após o δ -tocoferol, encontrado na menor concentração (17,20 mg/kg) em relação aos demais isômeros.

Esta classe de substâncias, além de atuar como um poderoso antioxidante protegendo o alimento da oxidação e conferindo-lhe estabilidade, ainda é capaz de promover benefícios à saúde humana, por meio de sua atividade de vitamina E, a qual combate o envelhecimento celular e pode prevenir doenças cardiovasculares e degenerativas. Dessa forma, o total de tocoferóis evidenciado pelo óleo de palma pode ser convertido para 77,12 mg/kg de vitamina E, sendo que deste valor, 90,90% são expressos como α -tocoferol, por ser o isômero que apresenta a maior atividade de vitamina E em organismos vivos.

Os valores de tocoferóis apresentados pelo óleo de palma analisado neste trabalho estão de acordo com o *Codex Alimentarius* (2009), que prevê um máximo de 193 mg/kg para α -tocoferol, 526 mg/kg para γ -tocoferol e 123 mg/kg para δ -tocoferol. Está previsto, ainda, um teor máximo de β -tocoferol de até 234 mg/kg, embora não tenha sido detectado na amostra avaliada.

Idris et al. (2014) avaliaram a ação de um concentrado de vitamina E de óleo de palma, contendo 262,5 mg/kg de α -tocoferol, na redução de aterosclerose em coelhos, uma concentração aproximadamente 6 vezes maior que a encontrada no óleo em estudo neste trabalho. Comprovou-se que a dieta contendo o concentrado de vitamina E associado a compostos fenólicos do óleo de palma foi capaz de inibir o desenvolvimento de aterosclerose em coelhos. Tais conclusões sugerem uma possível ação preventiva de riscos cardiovasculares dos compostos bioativos do óleo de palma em humanos.

Dentre os isômeros de fitosterol, foram detectados no óleo de palma apenas o campesterol e o β -sitosterol. Como em todo óleo vegetal, o isômero evidenciado em maior concentração foi o β -sitosterol, representando 84,91% do total de fitosteróis. O teor de fitosteróis verificado no azeite de dendê avaliado no presente trabalho demonstrou-se mais elevado que o máximo previsto pelo *Codex Alimentarius* (2009), que é de 70 g de fitosteróis/100 g de óleo.

Embora este conteúdo em fitosteróis seja considerado baixo quando comparado com outros óleos, como o de milho (780 a 1100 mg/100 g) e o de canola (680 a 880 mg/100 g) (PIIRONEN; LAMPI, 2003), a presença destes compostos é muito importante do ponto de vista nutricional, por atuarem como antioxidantes.

Em óleos de nozes de seis diferentes espécies, estudados por Abdallah et al. (2015) foram detectados teores de fitosteróis entre 114,4 e 167,9 mg/100 g, conteúdos bastante superiores aos observados neste trabalho. Entretanto, foram detectados pequenos percentuais de colesterol em todas as amostras avaliadas pelos autores.

5.1.4. Atividade antioxidante

A Tabela 12 apresenta a atividade antioxidante do óleo de palma segundo os métodos DPPH^{*}, ABTS^{**}, sistema β -caroteno/ácido linoleico e FRAP. A Figura 15 ilustra a curva cinética da atividade antioxidante do óleo de palma, para o sistema β -caroteno/ácido linoleico.

Tabela 12. Atividade antioxidante (AA) do óleo de palma.

Método	AA
DPPH [*] (%)	85,71 \pm 2,51
ABTS ^{**} (μ mol Trolox/100 g)	234,78 \pm 6,94
Sistema β -caroteno/ácido linoleico (%)	81,11 \pm 4,74
FRAP (μ mol Trolox/100 g)	556,94 \pm 8,18

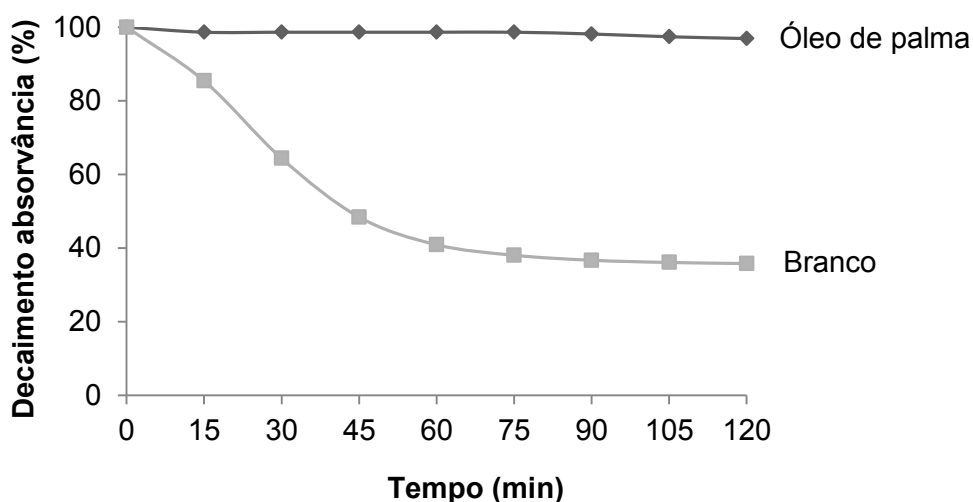
O óleo de palma apresentou boa atividade antioxidante, demonstrando ser eficiente na inibição da reação oxidativa por meio de todos os mecanismos de ação avaliados. O óleo de palma foi eficiente no sequestro dos radicais DPPH^{*}, inibindo 85,71% dos radicais presentes, enquanto que o óleo de milho avaliado por Ramadan e Wahdan (2012) foi capaz de sequestrar apenas 12%.

A capacidade antioxidante, segundo o método ABTS^{**}, foi superior para o óleo de palma avaliado neste estudo, com 234,78 μ mol Trolox/100 g, em relação aos extratos da polpa dos frutos do dendê, cujos valores variaram entre 103,22 e 221,99 μ mol Trolox/100 g (NEO et al., 2010).

O óleo de palma evidenciou elevada atividade antioxidante segundo o sistema β -caroteno/ácido linoleico, de 81,11% (Tabela 12), e sua curva cinética

mostrou um comportamento muito interessante, com baixo decaimento da absorvância, de 1,36%, além de ter se mantido estável dos 15 aos 75 minutos de análise.

Figura 15. Curva cinética da atividade antioxidante do óleo de palma, para o sistema β -caroteno/ácido linoleico.



Os fatores F1 e F2, obtidos para a curva cinética do óleo de palma, apresentaram valores de 0,00 e 0,01, respectivamente, indicando que o óleo de palma é um eficiente antioxidante, capaz de retardar a degradação do ácido linoleico, de forma a proteger o β -caroteno evitando, assim, sua descoloração.

O óleo de soja refinado, sem adição de antioxidantes, avaliado por Kamkar et al. (2013), não foi tão eficiente quanto o óleo de palma em inibir a peroxidação do ácido linoleico, apresentando apenas 6,55% de atividade antioxidante.

A capacidade antioxidante do óleo de palma de acordo com o método FRAP foi de 556,94 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{ g}$, valor aproximadamente cinco vezes maior que o obtido para o óleo de palma refinado estudado por Szydłowska-Czerniak, Tułodziecka e Szłyk (2012). O processo de fritura de carne bovina e suína, e de batatas, ao qual este último óleo foi submetido, provocou o decréscimo da sua atividade antioxidante pelo método FRAP. Verifica-se, portanto, que o refino e o processo de fritura do óleo de palma diminuem sua capacidade em reduzir o Fe^{3+} .

5.2. Óleo de soja

5.2.1. Qualidade físico-química

- Índice de peróxidos

O Apêndice 1 apresenta a análise de variância para as determinações de índice de peróxidos e dienos conjugados. Pode-se observar que o teste F foi significativo ($p \leq 0,01$) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de estocagem. Dessa forma, procedeu-se ao desdobramento da interação, cujos resultados encontram-se na Tabela 13.

No tempo zero, não se observou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos, o que evidencia qualidade semelhante entre os óleos testados.

Observou-se aumento significativo ($p \leq 0,05$) no índice de peróxidos para todos os tratamentos estudados, de acordo com o aumento do tempo de aquecimento. Sendo que houve maior formação de peróxidos nos com o óleo de soja purificado. Este processo retirou impurezas e também compostos bioativos naturalmente presentes no óleo, fato que propiciou a oxidação e a formação dos peróxidos.

O antioxidante α -tocoferol foi efetivo na prevenção das reações de oxidação nos primeiros 10 dias, após este período ele passou a atuar como pró-oxidante. Já a matéria insaponificável do óleo de palma mostrou-se um bom antioxidante em todo o período analisado, apresentando os menores índices de peróxidos.

A matéria insaponificável atuou como pró-oxidante no óleo de soja purificado (OSP) apenas no 10º dia, após este período, não houve efeito antioxidante nem pró-oxidante, pois seus resultados não diferiram significativamente ($p > 0,05$) dos evidenciados no óleo de soja purificado sem adição de antioxidantes, possivelmente devido à degradação dos compostos pró-oxidantes formados.

Pode-se afirmar que os antioxidantes naturalmente presentes no óleo de soja, como os tocoferóis e fitosteróis, atuaram em sinergismo com a matéria insaponificável, provocando a diferença de comportamento verificada entre os tratamentos OSRM e OSPM.

O *Codex Alimentarius Commission* (2009) estabelece como nível máximo aceitável de peróxidos, o valor de 10 meq/kg. De acordo com esta legislação, os tratamentos com óleo de soja não purificado estavam adequados no período anterior

Tabela 13. Índices de peróxidos (meq/kg) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias).

Tratamentos	Tempos (dias)				
	0	5	10	15	20
OSR	0,82 ± 0,05 ^{eA}	2,10 ± 0,04 ^{dC}	27,69 ± 1,34 ^{cC}	58,29 ± 1,46 ^{bD}	83,57 ± 0,96 ^{aD}
OSRT	0,93 ± 0,11 ^{dA}	2,85 ± 0,08 ^{dC}	23,48 ± 1,30 ^{cD}	67,00 ± 2,00 ^{bC}	87,95 ± 0,37 ^{aC}
OSRM	0,88 ± 0,09 ^{dA}	2,02 ± 0,15 ^{dC}	10,87 ± 0,04 ^{cE}	55,21 ± 0,32 ^{bE}	78,84 ± 1,36 ^{aE}
OSP	1,02 ± 0,13 ^{eA}	12,51 ± 0,16 ^{dB}	43,25 ± 2,38 ^{cB}	74,46 ± 2,40 ^{bB}	94,17 ± 0,54 ^{aB}
OSPT	1,07 ± 0,21 ^{eA}	16,33 ± 0,32 ^{dA}	49,25 ± 1,41 ^{cA}	77,26 ± 1,91 ^{bA}	104,14 ± 0,57 ^{aA}
OSPM	1,08 ± 0,11 ^{eA}	12,27 ± 0,62 ^{dB}	47,00 ± 1,34 ^{cA}	73,64 ± 0,88 ^{bB}	92,37 ± 1,48 ^{aB}

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

ao 10º dia de estocagem, e antes do 5º dia para os com óleo de soja purificado.

Mohamed e Awatfi (1998) avaliaram a ação da matéria insaponificável do óleo de gergelim na estabilidade oxidativa de óleo de girassol e constataram que o aumento da concentração de matéria insaponificável eleva a proteção do óleo. A adição de 0,1% de matéria insaponificável foi capaz de reduzir a formação de cerca de 10% dos peróxidos. No presente trabalho, a matéria insaponificável do óleo de palma aplicada ao óleo de soja na concentração de 0,02% foi capaz de reduzir a formação de, aproximadamente, 6% de peróxidos, mesmo após 20 dias de estocagem a 60 °C. Estes dados demonstram que sua eficácia foi 2,5 vezes maior do que a da extraída de gergelim.

- Dienes conjugados

Os resultados do desdobramento da interação para dienos conjugados são apresentados pela Tabela 14. No tempo zero, os óleos de soja submetidos ao teste apresentaram qualidade similar em relação à porcentagem de ácidos dienoicos conjugados, pois não diferiram ($p > 0,05$).

Houve aumento significativo do teor de dienos conjugados a partir do 5º dia de estocagem, à exceção dos tratamentos OSP e OSPT, cuja degradação pode ser notada entre os tempos 0 e 5 dias, possivelmente devido à falta de antioxidantes naturais e à influência negativa deste fato na ação antioxidante do α -tocoferol.

No 10º dia de estocagem, os tratamentos OSR e OSRM não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si e foram os menos degradados. Em contrapartida, o mais alterado foi o OSPT, devido à ação pró-oxidante do α -tocoferol.

Os tratamentos adicionados de α -tocoferol foram os mais degradados em 15 dias, com teores maiores que os apresentados pelos óleos não adicionados de antioxidantes, não diferindo significativamente ($p > 0,05$). Em 20 dias, os tratamentos mais eficientes foram o OSRM e o OSPM.

Pode-se observar que a presença natural de antioxidantes atuou em sinergia com a matéria insaponificável do óleo de palma, por ter inibido em 16,67% a formação de dienos conjugados, em comparação com 13,25% de inibição evidenciada no óleo de soja purificado. Os índices de peróxidos e dienos conjugados apresentaram forte correlação positiva, com coeficiente $r = 0,97$.

Evans, Kodali e Addis (2002) avaliaram a concentração ótima de tocoferóis por meio da avaliação da variação no conteúdo de dienos conjugados, verificando a

Tabela 14. Conteúdos de dienos conjugados (%) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias).

Tratamentos	Tempos (dias)				
	0	5	10	15	20
OSR	0,28 ± 0,01 ^{dA}	0,32 ± 0,00 ^{dB}	0,50 ± 0,00 ^{cC}	1,24 ± 0,02 ^{bB}	1,56 ± 0,04 ^{aB}
OSRT	0,30 ± 0,00 ^{dA}	0,33 ± 0,01 ^{dB}	0,67 ± 0,02 ^{cB}	1,37 ± 0,05 ^{bA}	1,71 ± 0,14 ^{aA}
OSRM	0,30 ± 0,00 ^{dA}	0,35 ± 0,01 ^{dAB}	0,52 ± 0,01 ^{cC}	1,03 ± 0,04 ^{bC}	1,30 ± 0,04 ^{aD}
OSP	0,29 ± 0,01 ^{eA}	0,39 ± 0,01 ^{dAB}	0,69 ± 0,02 ^{cB}	1,03 ± 0,02 ^{bC}	1,66 ± 0,08 ^{aA}
OSPT	0,30 ± 0,01 ^{eA}	0,43 ± 0,01 ^{dA}	0,81 ± 0,02 ^{cA}	1,31 ± 0,01 ^{bAB}	1,56 ± 0,06 ^{aB}
OSPM	0,33 ± 0,01 ^{dA}	0,40 ± 0,00 ^{dAB}	0,71 ± 0,01 ^{cB}	1,25 ± 0,03 ^{bB}	1,44 ± 0,03 ^{aC}

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem pelo teste de T'ukey ($p > 0,05$).

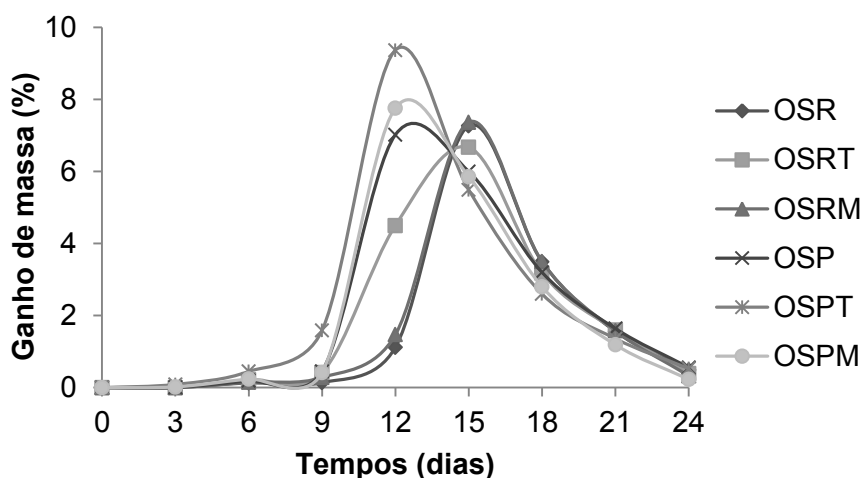
Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

atividade antioxidante máxima gerada, a fim de evitar os efeitos pró-oxidantes destes compostos. Cada isômero de tocoferol, os tocoferóis totais, e os naturalmente presentes no grão de soja, foram analisados em óleo de soja sob estocagem nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C. Concluiu-se que a elevação da temperatura aumenta a ação pró-oxidante. As concentrações ótimas encontradas foram de 100 mg/kg para α -tocoferol, 300 mg/kg para γ -tocoferol e, de 300 a 600 mg/kg para tocoferóis totais naturais. Permite-se, desta forma, inferir que a concentração de α -tocoferol aplicada no óleo de soja foi superior à ótima obtida pelos autores citados acima, reiterando-se o efeito pró-oxidante observado no presente trabalho pela elevação do teor de dienos conjugados.

- Ganho de massa

O Apêndice 2 apresenta a análise de variância para a determinação de ganho de massa. Pode-se observar que o teste F foi significativo ($p \leq 0,01$) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de estocagem. Dessa forma, procedeu-se ao desdobramento da interação, cujos resultados encontram-se no Apêndice 2a. A Figura 16 ilustra o ganho de massa dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa.

Figura 16. Ganho de massa (%) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias).



Para a realização da análise de ganho de massa, os tratamentos foram submetidos a estocagem em estufa por 30 dias, porém, após 24 dias houve

diminuição em relação à massa inicial, devido à formação de compostos voláteis, resultantes de etapas avançadas da oxidação. Por isso, os resultados finais correspondem ao 24º dia de aquecimento. Os tratamentos apresentaram ganho de massa significativo após o 9º dia de aquecimento, com exceção para o OSPT que evidenciou aumento de 1,14% entre o 6º e o 9º dia. E também atingiu o maior pico de aumento porcentual de massa, 9,37%, em 12 dias.

Os tratamentos OSP e OSPM também evidenciaram maior ganho de massa no 12º dia, com os respectivos valores 7,02 e 7,76%, não diferindo significativamente ($p > 0,05$) entre si. Os tratamentos OSR, OSRT e OSRM evidenciaram máximo ganho de massa em 15 dias, e não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$).

Não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos OSR e OSRM e entre OSP e OSPM para todos os tempos analisados, permitindo-se inferir que a matéria insaponificável não apresentou ação antioxidante para a avaliação de ganho de massa. Por outro lado, a adição de α -tocoferol colaborou para o aumento da massa em menor tempo de estocagem (9 dias), não agindo da maneira esperada.

De acordo com Iqbal e Bhanger (2007), o tempo requerido para obter 0,5% de ganho de massa é o período de indução, e corresponde ao índice de estabilidade. Dessa forma, o tratamento OSPT se manteve estável apenas até o 6º dia. OSP, OSRT e OSPM resistiram até o 9º dia e, OSR e OSRM foram os mais estáveis com, respectivamente, 10 e 11 dias.

Iqbal et al. (2008) avaliaram o efeito do extrato de casca de romã na estabilização do óleo de girassol, e verificaram que a concentração de 1000 mg/kg atuou positivamente, prolongando o período de indução de 2 para 10 dias. Para o presente estudo, o período de indução do óleo de soja sem a adição de antioxidantes foi elevado em um dia, após a adição da matéria insaponificável.

- Estabilidade oxidativa

O Apêndice 3 apresenta a análise de variância para a determinação de estabilidade oxidativa. Pode-se observar que o teste F foi significativo ($p \leq 0,01$) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de estocagem. Dessa forma, procedeu-se ao desdobramento da interação, cujos resultados encontram-se na Tabela 15.

Tabela 15. Índices de estabilidade oxidativa (horas) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias).

Tratamentos	Tempos (dias)				
	0	5	10	15	20
OSR	8,02 ± 0,23 ^{aB}	5,85 ± 0,33 ^{bA}	3,79 ± 0,04 ^{cAB}	2,53 ± 0,15 ^{dA}	1,69 ± 0,12 ^{eA}
OSRT	7,95 ± 0,16 ^{aB}	5,39 ± 0,10 ^{bAB}	3,45 ± 0,13 ^{cABC}	2,38 ± 0,03 ^{dA}	1,82 ± 0,12 ^{dA}
OSRM	8,70 ± 0,17 ^{aA}	5,99 ± 0,38 ^{bA}	3,99 ± 0,38 ^{cA}	2,70 ± 0,10 ^{dA}	1,93 ± 0,47 ^{eA}
OSP	7,05 ± 0,05 ^{aC}	4,95 ± 0,34 ^{bBC}	3,26 ± 0,04 ^{cBC}	2,32 ± 0,17 ^{dA}	1,49 ± 0,11 ^{eA}
OSPT	7,21 ± 0,32 ^{aC}	4,63 ± 0,02 ^{bC}	3,03 ± 0,10 ^{cC}	2,45 ± 0,08 ^{cA}	1,54 ± 0,40 ^{dA}
OSPM	6,67 ± 0,44 ^{aC}	5,17 ± 0,21 ^{bBC}	3,28 ± 0,06 ^{cBC}	2,31 ± 0,21 ^{dA}	1,71 ± 0,37 ^{eA}

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Houve um decaimento da estabilidade oxidativa para todos os tratamentos avaliados em relação ao tempo de estocagem, demonstrando que o aquecimento degradou os compostos antioxidantes presentes nas amostras diminuindo sua resistência à reação oxidativa.

Verificou-se que os tratamentos com óleo de soja não purificado não apresentaram estabilidade oxidativa significativamente diferente ($p > 0,05$) dos do óleo de soja purificado após o 10º dia de estocagem, provavelmente devido à sua degradação oxidativa, o que acarretou em perda da estabilidade.

Os tratamentos do óleo de soja adicionados da matéria insaponificável do óleo de palma apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação aos tratamentos não adicionados de antioxidantes apenas no tempo zero, evidenciando que a matéria insaponificável do óleo de palma atua bem contra a oxidação lipídica em óleos não aquecidos, o aquecimento provocou a perda de sua ação. Não foi verificada ação do α -tocoferol na estabilidade oxidativa do óleo de soja tanto para o óleo de soja purificado quanto para o não purificado.

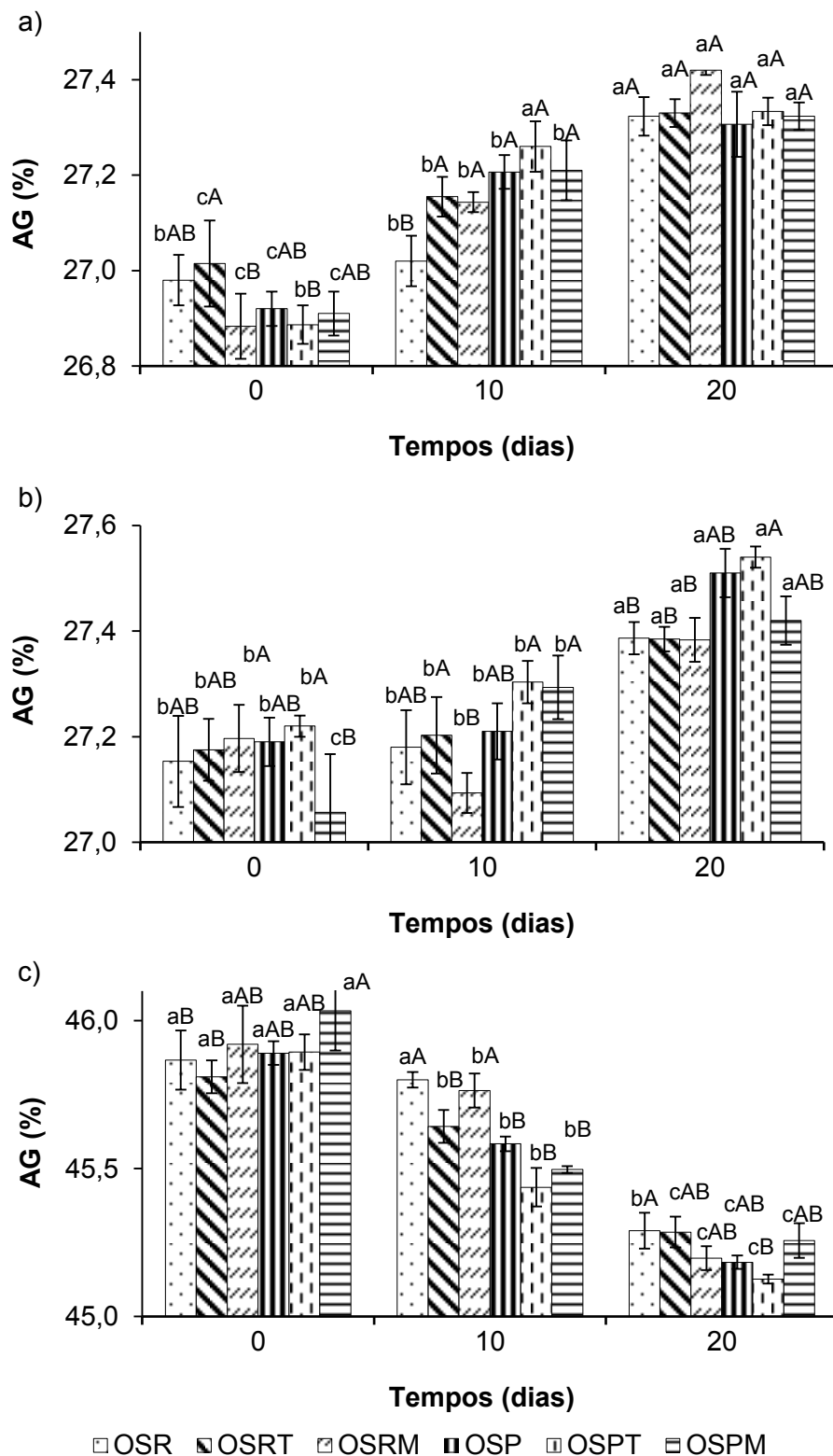
Observou-se comportamento similar ao avaliado no presente trabalho no estudo de Martínez et al. (2013), em que o óleo de noz adicionado de 100 mg/kg de palmitato de ascorbila, submetido à exposição à luz em temperatura ambiente por 180 dias, não elevou a estabilidade do óleo até o final dos 90 dias de estocagem.

- Perfil de ácidos graxos

O Apêndice 4 apresenta a análise de variância para a determinação do perfil de ácidos graxos. Pode-se observar que o teste F foi significativo ($p \leq 0,01$) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de estocagem, com exceção para o ácido palmítico, em que o teste F não foi significativo para o efeito tratamento ($p > 0,05$). Dessa forma, procedeu-se ao desdobramento da interação, cujos resultados encontram-se no Apêndice 4a. A Figura 17 ilustra o teor de ácidos graxos dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa.

Quando relacionados ao tempo, os ácidos graxos apresentaram alterações condizentes com a literatura, a qual prevê aumento de ácidos graxos saturados e de monoinsaturados e diminuição dos poli-insaturados após estocagem (PREEDY, 2014).

Figura 17. Teores de ácidos graxos (AG). a) saturados, b) monoinsaturados e c) poli-insaturados dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias).



Para cada tratamento, valores representados pelas mesmas letras minúsculas não diferem pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

Para cada tempo, valores representados pelas mesmas letras maiúsculas não diferem pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

Nenhum dos tratamentos avaliados foi capaz de modificar ou impedir as alterações dos ácidos graxos, isto é, o aumento dos saturados e a diminuição dos poli-insaturados, embora tenham sido observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$), em nível decimal, entre os tratamentos adicionados de antioxidantes. A purificação do óleo de soja também não exerceu influência na composição de seus ácidos graxos.

Gharby et al. (2011) avaliaram óleos de argan comestíveis extraídos por diferentes métodos de prensagem e submetidos à estocagem por 2 anos em frascos claros nas temperaturas de 5, 25 e 40 °C, e também em frascos âmbar a 25 °C. Neste estudo, eles verificaram que, assim como observado no presente trabalho, em geral, a composição de ácidos graxos das amostras não variou, independentemente do tipo de extração e das condições de armazenamento.

5.2.2. Compostos bioativos

- Carotenoides totais

Foram detectados carotenoides totais apenas nos tratamentos OSRM e OSPM, pois a matéria insaponificável do óleo de palma é rica nestes compostos, e contribuiu para agregar estes compostos ao óleo de soja.

Efetuu-se a análise estatística apenas para os tratamentos que evidenciaram carotenoides totais. O Apêndice 5 apresenta a análise de variância para a determinação de carotenoides totais. Pode-se observar que o teste F foi significativo ($p \leq 0,01$) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de estocagem. Dessa forma, procedeu-se ao desdobramento da interação, cujos resultados encontram-se no Apêndice 5a. A Figura 18 ilustra a degradação dos carotenoides totais durante a estocagem das amostras avaliadas.

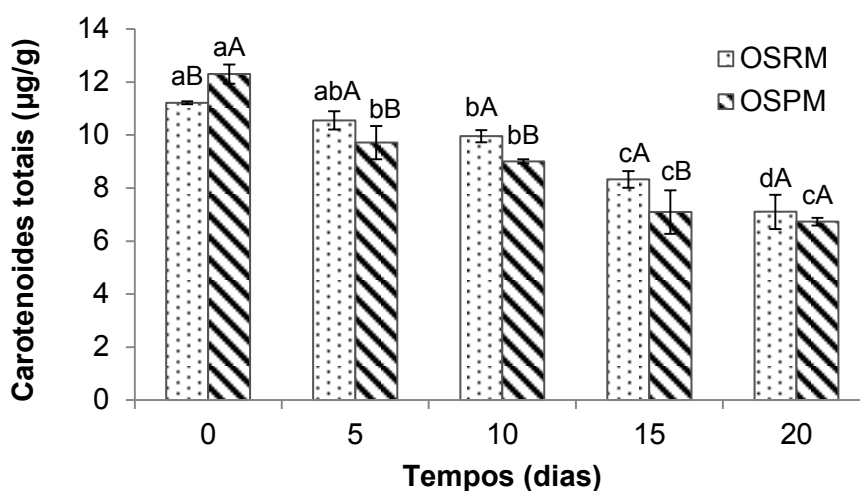
A adição da matéria insaponificável acrescentou carotenoides ao óleo de soja, compostos bioativos importantes ao ser humano, por sua ação vitamínica A e antioxidante, os quais haviam sido retirados durante o processo de refino. Tal prática torna o óleo de soja refinado mais adequado ao consumo tanto no aspecto nutricional quanto no tecnológico.

Ambos os tratamentos sofreram redução no conteúdo de carotenoides totais durante o período de estocagem acelerada. O tratamento com óleo de soja não purificado perdeu 36,67%, e o purificado, 45,28%.

O conteúdo inicial de carotenoides do óleo de soja purificado adicionado da

matéria insaponificável do óleo de palma foi significativamente ($p \leq 0,05$) maior que o evidenciado pelo óleo de soja não purificado. Este resultado pode ser devido à retirada de interferentes, como sujidades e traços de pesticidas, durante o processo de purificação, que evitou a degradação dos carotenoides antes da estocagem.

Figura 18. Conteúdos de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa ($60\text{ }^\circ\text{C}/20$ dias).



Para cada tratamento, valores representados pelas mesmas letras minúsculas não diferem pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

Para cada tempo, valores representados pelas mesmas letras maiúsculas não diferem pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

Porém, durante os tempos de aquecimento, a presença de antioxidantes naturais no óleo de soja não purificado protegeu os carotenoides da oxidação, apresentando maiores teores que o óleo de soja purificado nos tempos 5, 10 e 15 dias. O 20º dia foi uma exceção, os conteúdos não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$), possivelmente pela degradação dos antioxidantes naturais do óleo de soja não purificado.

De acordo com o trabalho realizado por Kiokias e Oreopoulou (2006), um extrato natural de carotenoide foi obtido por meio da combinação de três extratos naturais comerciais: da flor mal-me-quer, rica em luteína; de tomate, rico em licopeno; e de urucum, rico em bixina. O extrato foi aplicado em emulsão óleo-água elaborada com óleo de girassol. De forma análoga ao obtido neste trabalho, o teor de carotenoides da emulsão aumentou, e observou-se ainda, atividade antioxidante e protetora contra a formação de aldeídos voláteis.

- Compostos fenólicos totais

O Apêndice 6 apresenta a análise de variância para a determinação de compostos fenólicos totais. Pode-se observar que o teste F não foi significativo para os tratamentos ($p > 0,05$), mas foi significativo ($p \leq 0,01$) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de estocagem. Dessa forma, procedeu-se ao desdobramento da interação, cujos resultados encontram-se na Tabela 16.

O conteúdo de compostos fenólicos totais dos tratamentos estudados não foi degradado pela ação da temperatura durante o período de estocagem, constatando que até o 20º dia não houve variação significativa ($p > 0,05$).

Pode-se inferir que a adição da matéria insaponificável não influenciou o teor de compostos fenólicos totais, pois não se verificou degradação destes compostos nos tratamentos sem adição de antioxidantes.

Após 20 dias de estocagem, os tratamentos OSRT e OSPT apresentaram um aumento no teor de compostos fenólicos em relação ao tempo de estocagem de 15 dias. Este fato se deveu ao método utilizado, o qual identifica compostos fenólicos pela reação com o Folin-Ciocalteu, gerando substâncias de coloração azulada. Entretanto, são capazes de ligar-se ao Folin-Ciocalteu, todos os anéis fenólicos livres, levando a concluir que o processo de aquecimento, mesmo brando, poderia romper ligações químicas nos tratamentos adicionados de α -tocoferol, liberando ou formando anéis fenólicos, os quais provocaram um resultado sobrestimado.

- Retenção de tocoferóis

O Apêndice 7 apresenta a análise de variância para a determinação do perfil de tocoferóis. Pode-se observar que o teste F foi significativo ($p \leq 0,01$) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de estocagem. Dessa forma, procedeu-se ao desdobramento da interação, cujos resultados encontram-se no Apêndice 7a. A Figura 19 ilustra a retenção dos isômeros de tocoferol dos tratamentos dos óleos de soja submetidos à estocagem em estufa.

O isômero β -tocoferol não foi detectado pela análise. Verificou-se, primeiramente, que a purificação do óleo de soja retirou o isômero γ -tocoferol, provocando uma redução de 1,35% do teor inicial naturalmente presente, os demais isômeros não foram afetados.

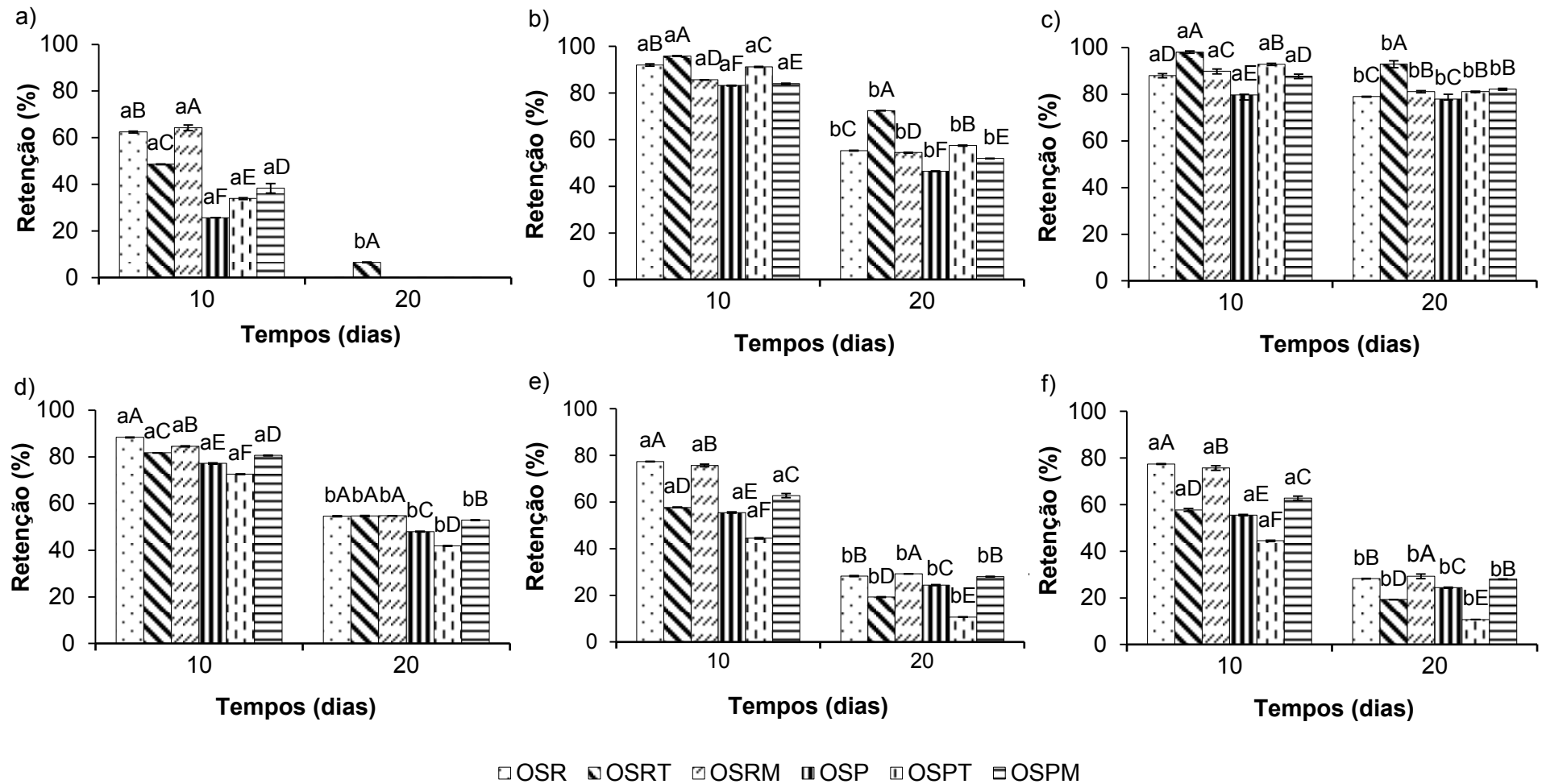
Tabela 16. Conteúdos de compostos fenólicos totais (mg/g) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias).

Tratamentos	Tempos (dias)				
	0	5	10	15	20
OSR	133,24 ± 26,42 ^{aAB}	122,65 ± 14,26 ^{aA}	113,43 ± 3,92 ^{aAB}	103,43 ± 10,93 ^{aA}	127,16 ± 12,57 ^{aB}
OSRT	107,94 ± 23,90 ^{abAB}	142,06 ± 37,77 ^{aA}	104,02 ± 5,59 ^{abB}	92,25 ± 6,23 ^{bA}	139,71 ± 12,35 ^{aB}
OSRM	127,16 ± 8,67 ^{aAB}	124,41 ± 19,18 ^{aA}	145,20 ± 39,41 ^{aA}	126,57 ± 7,09 ^{aA}	134,80 ± 18,36 ^{aB}
OSP	127,75 ± 14,93 ^{aAB}	116,76 ± 8,17 ^{aA}	115,20 ± 7,45 ^{aAB}	110,69 ± 12,23 ^{aA}	145,59 ± 4,12 ^{aB}
OSPT	104,61 ± 5,47 ^{bB}	128,33 ± 12,47 ^{bA}	108,14 ± 5,00 ^{bAB}	114,41 ± 5,39 ^{bA}	186,96 ± 32,99 ^{aA}
OSPM	145,98 ± 18,57 ^{aA}	126,37 ± 12,34 ^{aA}	123,82 ± 4,71 ^{aAB}	125,20 ± 14,44 ^{aA}	136,18 ± 19,23 ^{aB}

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Figura 19. Retenção (%) dos isômeros de tocoferol. a) α -tocoferol, b) γ -tocoferol, c) δ -tocoferol, d) total de tocoferóis, e) vitamina E e f) vitamina E expressa como α -tocoferol dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias).



Para cada tratamento, valores representados pelas mesmas letras minúsculas não diferem pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).
 Para cada tempo, valores representados pelas mesmas letras maiúsculas não diferem pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

Dentre os isômeros de tocoferol, o mais estável foi o δ -tocoferol, o qual, ao final de 20 dias de estocagem, sofreu diminuição média de 17,67% em relação ao seu teor inicial. O mais susceptível ao processo oxidativo foi o α -tocoferol, que foi totalmente degradado até o final do teste acelerado de estocagem. Foi possível avaliar que os níveis de vitamina E e de vitamina E expressa como α -tocoferol foram fortemente influenciados pela degradação do α -tocoferol, sofrendo uma diminuição média de 76,72%.

Ao final do 20º dia de estocagem, observou-se boa retenção de todos os isômeros no óleo de soja não purificado e também no purificado, embora o processo de purificação tenha diminuído seu teor de δ -tocoferol.

Permite-se, portanto, inferir que a adição deste antioxidante atuou em sinergia com os antioxidantes naturalmente presentes no óleo de soja, e que o α -tocoferol foi o antioxidante mais eficaz em impedir a degradação dos tocoferóis.

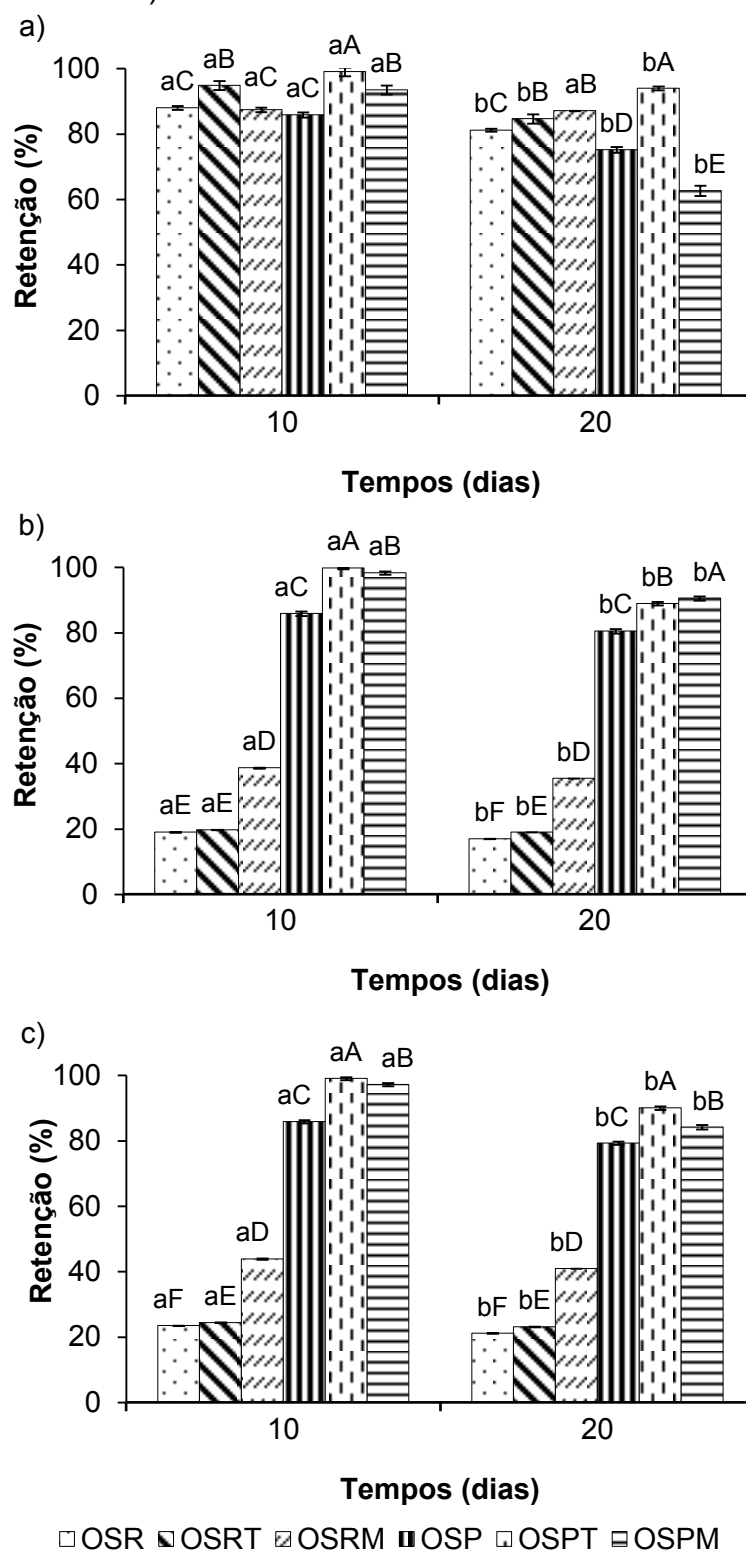
Após 20 dias de estocagem, a matéria insaponificável do óleo de palma também foi eficiente na retenção dos tocoferóis, e apresentou ação contra a degradação dos tocoferóis totais, da vitamina E e da vitamina E expressa como α -tocoferol nos tratamentos do óleo de soja não purificado, além da conservação de 82,12% do δ -tocoferol do óleo de soja purificado.

O estudo de Casarotti e Jorge (2014) sobre a atividade antioxidante do extrato etanólico de alecrim aplicado em óleo de soja sob termoxidação evidenciou comportamento similar ao avaliado no presente estudo. O antioxidante sintético utilizado como comparação foi mais eficiente na retenção dos tocoferóis até a 10ª hora de aquecimento. Contudo, entre a 10ª e a 20ª hora este composto foi degradado pela ação do calor e o extrato foi capaz de reter a maior porcentagem de tocoferóis no fim do processo de aplicação de calor.

- Retenção de fitosteróis

Os isômeros estigmasterol, estigmastanol, Δ -5-avenasterol e Δ -7-avenasterol não foram detectados pela análise. O Apêndice 8 apresenta a análise de variância para a determinação do perfil de fitosteróis. Pode-se observar que o teste F foi significativo ($p \leq 0,01$) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de estocagem. Dessa forma, procedeu-se ao desdobramento da interação, cujos resultados encontram-se no Apêndice 8a. A Figura 20 ilustra a retenção dos isômeros de fitosterol dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa.

Figura 20. Retenção (%) dos isômeros de fitosterol. a) campesterol, b) β -sitosterol e c) fitosteróis totais dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias).



Para cada tratamento, valores representados pelas mesmas letras minúsculas não diferem pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

Para cada tempo, valores representados pelas mesmas letras maiúsculas não diferem pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

Verificou-se que a purificação provocou grande redução dos teores de fitosteróis. O óleo de soja apresentou, inicialmente, 82,70% do campesterol, 19,67% do β -sitosterol e 23,68% do conteúdo original de fitosteróis totais do óleo de soja.

O α -tocoferol comercial aplicado ao óleo de soja purificado foi capaz de impedir em 93,95% a degradação do campesterol, e foi uma exceção, pois para este isômero, as melhores retenções foram evidenciadas pelos tratamentos do óleo de soja não purificado. Enquanto os tratamentos do óleo de soja purificado foram mais eficazes na proteção do isômero β -sitosterol e dos fitosteróis totais, com destaque, respectivamente, para o óleo purificado adicionado da matéria insaponificável do óleo de palma e do adicionado do α -tocoferol.

Este comportamento pode ter ocorrido devido ao menor teor inicial de β -sitosterol que, por isso, sofreu menor degradação quando comparado com o campesterol.

6. CONCLUSÃO

Com relação à caracterização química e bioativa do óleo de palma, concluiu-se que sua qualidade estava adequada ao consumo, em conformidade com as legislações nacional e internacional para padrão de qualidade de óleos e gorduras vegetais.

Os elevados aportes de substâncias bioativas, como os carotenoides totais e os compostos fenólicos totais foram responsáveis pela sua elevada capacidade antioxidante, evidenciada por distintos mecanismos de reação.

A partir da avaliação da estabilidade oxidativa dos óleos de soja estocados, verificou-se que a purificação do óleo retirou impurezas e compostos bioativos, principalmente os fitosteróis, e conseqüentemente, este óleo sofreu maiores danos oxidativos durante o período de estocagem, perdendo mais rapidamente sua qualidade tecnológica e nutricional.

A matéria insaponificável extraída do óleo de palma foi capaz de minimizar a formação de peróxidos e dienos conjugados, auxiliando na conservação da estabilidade oxidativa, e acrescentou carotenoides totais ao óleo de soja. Entretanto, apresentou menor eficiência na retenção de tocoferóis e fitosteróis.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLAH, I. B. et al. Content of carotenoids, tocopherols, sterols, triterpenic and aliphatic alcohols, and volatile compounds in six walnuts (*Juglans regia* L.) varieties. *Food Chemistry*, London, v. 173, p. 972-978, 2015.

ACTON, A. *Lipids – advances in research and applications*. Atlanta: ScholarlyEditions, 2012, 590 p.

AKOH, C. C.; MIN, D. B. *Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology*. 3 ed. Boca Raton: CRC Press. 2008, 928 p.

ALAM, N.; BRISTI, N. J.; RAFIQUZZAMAN. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, Amsterdam, v. 21, n. 2, p. 143-152, 2013.

ALUKO, R. E. *Functional foods and nutraceuticals*. Hamburgo: Springer, 2012, 167 p.

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.

ANTONIOSI FILHO, N. R.; MENDES, O. L.; LANÇAS, F. M. Computer prediction of triacylglycerol composition of vegetable oils by HRGC. *Chromatographia*, New York, v. 40, p. 557-562, 1995.

AOCS. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists's Society*. 6th ed. AOCS Press: Champaing, 2009.

AZLAN, A. et al. Comparison of fatty acids, vitamin E and physicochemical properties of *Canarium odontophyllum* Miq. (dabai), olive and palm oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, San Diego, v. 23, n. 8, p. 772-776, 2010.

BARCIA, M. T. et al. Determinação de ácido ascórbico e tocoferóis em frutas por CLAE. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 31, n. 2, p. 381-390, 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BELITZ, H. D.; GROSH, W.; SCHIEBERLE, P. Lipids. In: BELITZ, H. D.; GROSH, W.; SCHIEBERLE, P. *Food chemistry*. 4 ed. Hamburgo: Springer, 2009, Cap. 3, p. 191-193.

BELLOCK, O. H. *New topics in vitamin E research*. New York: Nova Science publishers, 2007, 163 p.

BENZIE, I. F. F.; CHOI, S. W. Antioxidants in food: content, measurement, significance, action, cautions, caveats, and research needs. In: HENRY, J. *Advances in food nutrition research*. v. 71. Amsterdam: Elsevier, Cap. 1, 2014, p. 1-53.

- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, New York, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
- BERDHAL, D. R.; NAHAS, R. I.; BARREN, J. P. Synthetic and natural antioxidant additives in food stabilization: current applications and future research. In: DECKER, E. A.; ELIAS, R. J.; MCCLEMENTS, D. J. *Oxidation in foods and beverages and antioxidant application*. New Delhi: Woodhead, 2010, Cap. 12, p. 272-320.
- BERGER, K. G. Palm oil. In: TRUGO, L.; FINGLAS, P. M. *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. 2 ed. Amsterdam: Elsevier, 2003, p. 4325-4331.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n°. 23, de 15 de fevereiro de 2005. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 15 de fevereiro de 2005. *Aprova o Regulamento técnico do uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos óleos e gorduras – subcategoria creme vegetal e margarinas*. Brasília, 2005.
- BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. *Carotenoids: handbook*. New York: Springer, 2004, 647 p.
- CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, Oxford, v. 51, n. 1, p. 15-25, 2013.
- CASAROTTI, S. N.; JORGE, N. Antioxidant activity of rosemary extract in soybean oil under thermoxidation. *Journal of Food Processing and Preservation*, Westport, v. 38, n. 1, p. 136-145, 2014.
- CHAKRABARTY, M. M. *Chemistry and technology of oils and fats*. Mumbai: Allied Publishers, 2009, 750 p.
- CHAPMAN, T. M.; KIM, H. J.; MIN, D. B. Prooxidant Activity of Oxidized α -Tocopherol in Vegetable Oils. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 74, n. 7, p. C536-C542, 2009.
- CHARLES, D. J. *Antioxidant properties of spices, herbs and other sources*. Hamburgo: Springer, 2012, 617 p.
- CHENG, Z.; MOORE, J.; YU, L. High-Throughput Relative DPPH Radical Scavenging Capacity Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 54, n. 20, p. 7429-7436, 2006.
- CHIRINOS, R. et al. Characterisation of phenolic compounds of Inca muña (*Clinopodium bolivianum*) leaves and the feasibility of their application to improve the oxidative stability of soybean oil during frying. *Food Chemistry*, London, v. 128, n. 3, p. 711-716, 2011.
- CICHON, R. M. Lipids in human nutrition. In: SIKORSKI, Z. Z. E.; KOŁAKOWSKA, A. *Chemical and functional properties of food lipids*. Boca Raton: CRC Press, 2002, Cap. 10, p. 189-204.

- CLARK, J. P. Tocopherols and sterols from soybeans. *Lipid Technology*, High Wycombe, v. 8, p. 111-114, 1996.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (FAO/WHO). *Codex standard for named vegetable oils: codex stan 210–1999*. Codex Alimentarius, v. 10, 2009.
- CORLEY, R. H. V.; TINKER, P. B. H. *The oil palm*. Chichester: Wiley Blackwell, 2008, 592 p.
- CORSINI, M. S.; SILVA, M. G.; JORGE, N. Loss in tocopherols and oxidative stability during the frying. *Grasas y Aceites*, Sevilla, v. 60, n. 1, p. 77-81, 2009.
- COSTA-SINGH, T.; JORGE, N. Characterization and fatty acids profile of the oils from Amazon nuts and walnuts. *Nutrition & Food Science*, London, v. 42, n. 4, p. 1-13, 2012.
- CUTTRISS, A. J. et al. Carotenoids. In: RÉBEILLÉ, F.; DOUCE, R. Biosynthesis of vitamins in plants, advances in botanical research, v. 58. Amsterdam: Elsevier, 2011, pp. 1-36.
- DE LEONARDIS, A.; MACCIOLA, V. Heat-oxidation stability of palm oil blended with extra virgin olive oil. *Food Chemistry*, London, v. 135, n. 3, p. 1769-1776, 2012.
- DELLA LUCIA, C. M. et al. Controle de perdas de carotenoides em hortaliças preparadas em unidade de alimentação e nutrição hospitalar. *Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 13, n. 5, p. 1627-1636, 2008.
- DEMAN, J. M. Lipids. In: DEMAN, J. M. *Principles of food chemistry*. New York: Springer Science + Business Media, 2013, Cap. 2, p. 33-107.
- Duchateau, G.S.M.J.E. et al. Fast and accurate method for total 4-desmethyl sterol(s) content in spreads, fat-blends, and raw materials. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Chicago, v. 79, n. 3, p. 273-278, 2002.
- DIAS, L. S.; LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Physicochemical and bioactive properties of *Hymenaea courbaril* L. pulp and seed lipid fraction. *Industrial Crops and Products*, Amsterdam, v. 49, p. 610-618, 2013.
- EFSA, 2004. Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the commission related to tertiary-butylhydroquinone. Disponível em: <<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/84.pdf>>. Acesso em: 16 mai 2014.
- EFSA, 2011. Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS); Scientific opinion on the reevaluation of butylated hydroxyanisole–BHA (E 320) as a food additive. Disponível em: <<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2392.pdf>>. Acesso em: 16 mai 2014.
- EFSA, 2012. Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS); Scientific opinion on the reevaluation of butylated hydroxytoluene BHT (E 321) as a food additive. Disponível em: <<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2588.pdf>>. Acesso em: 16 mai 2014.
- ELLIS, M. J.; MAN, C. M. D. The methodology of shelf life determination. In: MAN, C.

M. D.; JONES, A. A. *Shelf life evaluation of foods*. Hamburgo: Springer, 2000, Cap. 2, p. 23-32.

EREL, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, Toronto, v. 37, p. 277-285, 2004.

ERICKSON, D. R.; WIEDERMANN, L. Soybean oil – modern processing and utilization. In: ERICKSON, D. R. *Edible fats and oils processing: basic principles and modern practices : world conference proceedings*. AOCS Press: Champaign, 1990, 442 p.

EVANS, J. C.; KODALI, D. R.; ADDIS, P. B. Optimal tocopherol concentrations to inhibit soybean oil oxidation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Chicago, v. 79, n. 1, p.47-51, 2002.

FARHOOSH, R. TAVASSOLI-KAFRANI, M. H. Polar compounds distribution of sunflower oil as affected by unsaponifiable matters of Bene hull oil (BHO) and tertiary-buthydroquinone (TBHQ) during deep-frying. *Food Chemistry*, London, v. 122, n. 1, p. 381-385, 2010.

FARHOOSH, R.; PAZHOUHANMEHR, S. Relative contribution of compositional parameters to the primary and secondary oxidation of canola oil. *Food Chemistry*, London, v. 114, n. 3, p. 1002-1006, 2009.

FARHOOSH, R.; TAVASSOLI-KAFRANI, M. H.; SHARIF, A., Antioxidant activity of the fractions separated from the unsaponifiable matter of bene hull oil. *Food Chemistry*, London, v. 126, n. 2, p. 583-589, 2011.

FARMER, E. H.; KOCH H. P.; SUTTON D. A. Course of autoxidation reactions in polyisoprenes and allied compounds. VII. Rearrangement of double bonds during autoxidation. *Journal of the Chemical Society*, London, v. 144, p. 541-547, 1943.

FELLOWS, P. J. Separation and concentration of food components. In: FELLOWS, P. J. *Food procesing technology: Principles and Practice*. 3 ed. Boca Raton: CRC Press, 2009, Cap. 5, p. 206-209.

FENECH, M. Micronutrients and genomic stability: a new paradigm for recommended dietary allowances (RDAs). *Food and Chemical toxicology*, v. 40, n. 8, p. 1113-1117, 2002.

FIFE, B. *The palm oil miracle*. Colorado: Picadilly Books, 2007, 192 p.

FONTANEL, D. *Unsaponifiable matter in plant seed oils*. Hamburgo: Springer, 2013, 376 p.

FRANKEL, E. N. *Lipid oxidation*. Dundee: Oily Press, 2005, 470 p.

GHARBY, S. et al. Oxidative stability of edible argan oil: A two-year study. *LWT - Food Science and Technology*, Amsterdam, v. 44, n. 1, p. 1-8, 2011.

GORDON, M. H. Factors affecting lipid oxidation. In: STEELE, R. *Understanding and measuring the shelf life of food*. Boca Raton: CRC Press, 2004, Cap 7. p. 128-141.

- GUINAZI, M. et al. Tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and eggs. *Química Nova*, São Paulo, v. 32, n. 8, p. 2098-2103, 2009.
- GUNSTONE, F. D. *Vegetable oils in food technology: composition, production and uses*. Oxford: Blackwell publishing, 2002, 337 p.
- GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L. Occurrence and characterization of oils and fats. In: GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L.; DIJKSTRA, A. J. *The lipid handbook*. 3 ed. Boca Raton: CRC Press, 2012, Cap. 2, p. 37-142.
- GUPTA, M. K.; WARNER K.; WHITE, P. J. *Frying technology and practices*. Champaign: AOCS Press, 2004, 231 p.
- HAMMOND, E. G. et al. Soybean oil. In: SHAHIDI, F. *Baley's industrial oil and fat products*. 6 ed. New York: Wiley Interscience, 2005, v. 2, p. 577-654.
- HERNANDEZ, E. M.; KAMAL-ELDIN, A. *Processing and nutrition of fats and oils*. Chichester: Wiley Blackwell, 2013, 276 p.
- HO, C-T. et al. *Nutrition, functional and sensory properties of foods*. London: Royal Society of Chemistry, 2013, 335 p.
- IBGE. Aquisição alimentar domiciliar per capita anual, por Grandes Regiões, segundo os produtos. 2009. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/tabelas_pdf/tab111.pdf>. Acesso em: 21 mai 2014.
- IDRIS, C. A. et al. Oil palm phenolics and vitamin E reduce atherosclerosis in rabbits. *Journal of Functional Foods*, Amsterdam, v. 7, n. 0, p. 541-550, 2014.
- IQBAL, S. et al. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. *Food Research International*, Barking, v. 41, n. 2, p. 194-200, 2008.
- 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.
- JADHAV et al. Lipid oxidation of in biological and food systems. In: MADHAVI, D. L., DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. *Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives*. Boca Raton: CRC Press, 1995, Cap. 2, p. 5-64.
- JOHNSON, D.; IUCN/SSC Palm Specialist Group. Palms: their conservation and sustained utilization. Cambridge: IUCN, 1996, 116 p.
- JOMOVA, K.; VALKO, M. Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. *European Journal of Medicinal Chemistry*, Amsterdam, v. 70, p.102-110, 2013.
- JORGE, N.; DEL RÉ, P. V. D. Protective effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) oleoresins in stored soybean oil. *Nutrition & Food Science*, London, v. 43, n. 3, p. 189-195, 2013.
- JUNG, M. Y.; MIN, D. B. Effects of oxidized α -, β - and γ -tocopherols on the oxidative

stability of purified soybean oil. *Food Chemistry*, London, v. 45, p. 183-187, 1992.

KALANTZAKIS, G. et al. Stability and radical-scavenging activity of heated olive oil and other vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, Weinheim, v. 108, n. 4, p. 329-335, 2006.

KAMAL-ELDIN, A.; POKORNÝ, J. *Analysis of lipid oxidation*. AOCS Press: Champaign, 2008, 293 p.

KAMKAR, A. et al. Antioxidative effect of Iranian *Pulicaria gnaphalodes* L. extracts in soybean oil. *South African Journal of Botany*, Pretoria, v. 85, p. 39-43, 2013.

KILCAST, D.; SUBRAMANIAM, P. *The stability and shelf life of food*. Boca Raton: CRC Press, 2000, 340 p.

KIOKIAS, S. et al. Lipid oxidation and control of oxidation. In: YILDIZ, F. *Advances in food biochemistry*. Boca Raton: CRC Press, 2010, Cap. 12, p. 383-408.

KIOKIAS, S.; OREOPOULOU, V. Antioxidant properties of natural carotenoid extracts against the AAPH-initiated oxidation of food emulsions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Amsterdam, v. 7, n. 1-2, p. 132-139, 2006.

KOŁAKOWSKA, A.; BARTOSZ, G. Oxidation of food components: an introduction In: BARTOSZ, G. *Food oxidants and antioxidants: Chemical, Biological, and Functional Properties*. Boca Raton: CRC Press, 2014, Cap. 1, p. 1-20.

KUMAR, V.; RANI, A.; CHAUHAN, G. S. Nutritional value of soybean. SINGH, G. *The soybean: botany, production and uses*. Cambridge: CABI, 2010, Cap. 17, p. 375-403.

LAWSON, H. *Food oils and fats: technology, utilization, and nutrition*. New York: Chapman & Hall, 1995. 339 p.

LEE, E.; CHOE, E. Changes in oxidation-derived off-flavor compounds of roasted sesame oil during accelerated storage in the dark. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 1, n. 1, p. 89-93, 2012.

LUSAS, E. W. Animal and vegetable fats, oils and Waxes. In: KENT, J. A. *Kent and Riegel's handbook of industrial chemistry and biotechnology*. New York: Springer Science + Business Media, 2010, v. 2, Cap. 34, p. 1549-1656.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Bioactive substance contents and antioxidant capacity of the lipid fraction of *Annona crassiflora* Mart. seeds. *Industrial Crops and Products*, Amsterdam, v. 42, p. 231-235, 2013.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Fatty acids profile and alteration of lemon seeds extract (*Citrus limon*) added to soybean oil under thermoxidation. *Journal of Food Science and Technology*, Mysore, v. 50, n. 5, p. 965-971, 2013.

MALACRIDA, C. R.; JORGE, N. Fatty acids and some antioxidant compounds of *Psidium guajava* seed oil. *Acta Alimentaria*, Budapeste, v. 42, n. 3, p. 371-378, 2013.

MALCOLMSON, L. J. et al. Sensory stability of canola oil: present status of shelf life studies. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Chicago, v. 71, n. 4, p. 435-

440, 1994.

MAN, C. M. D. Shelf life testing. In: STEELE, R. *Understanding and measuring the shelf life of food*. Boca Raton: CRC Press, 2004, Cap. 15, p. 7340-355.

MARANGONI, A. G.; NARINE, S. S. *Physical properties of lipids*. Boca Raton: CRC Press, 2002, 592 p.

MARCO, G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Chicago, v. 45, n. 9, p. 594-598, 1968.

MÁRQUEZ-RUIZ, G.; HOLGADO, F.; VELASCO, J. Mechanisms of oxidation in food lipids. In: BARTOSZ, G. *Food oxidants and antioxidants: chemical, biological, and functional properties*. Boca Raton: CRC Press, 2014, Cap. 4, p. 79-114.

MÁRQUEZ-RUIZ, G. Determination of polar compounds in used frying oils and fats by adsorption chromatography. *AOCS lipid library*, 2009. Disponível em: <<http://lipidlibrary.aocs.org/frying/a-polar/index.htm>>. Acesso em: 15 mai. 2014.

MARTÍNEZ, M. L. et al. Effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of walnut oil under different storage conditions. *LWT – Food Science and Technology*, London, v. 51, n.1, p. 44-50, 2013.

MARTÍNEZ, M. L. et al. Oxidative stability of walnut (*Juglans regia* L.) and chia (*Salvia hispanica* L.) oils microencapsulated by spray drying. *Powder Technology*, v. 270, Part A, n. 0, p. 271-277, 2015.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Lipids. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. *Fennema's food chemistry*. 4 ed. Boca Raton: CRC Press, 2008, Cap. 4, p. 156-159.

MEDINA-MEZA, I. G.; BARNABA, C.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Effects of high pressure processing on lipid oxidation: a review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Amsterdam, v. 22, p. 1-10, 2014.

MERRIL, A. L.; WATT, B. K. *Energy value of foods: basis and derivation*. United States Department of Agriculture, WA, 1973.

MILLER, H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Chicago, v. 48, n. 2, p. 91, 1971.

MIZRAHI, S. Accelerated shelf life tests. In: STEELE, R. *Understanding and measuring the shelf life of food*, 2004, Cap. 14, 317-339.

MOHAMED; H. M. A.; AWATIF, I. I. The use of sesame oil unsaponifiable matter as a natural antioxidant. *Food Chemistry*, London, v. 62, n. 3, p. 269-276, 1998.

MORALES, P. et al. Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet and *Opuntia matudae* Scheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research international*, Barking, v. 46, n. 1, p. 279-285, 2012.

MOZZON, M. et al. Crude palm oil from interspecific hybrid *Elaeis oleifera* × *Elaeis guineensis*: Fatty acid regiodistribution and molecular species of glycerides. *Food*

Chemistry, London, v. 141, n. 1, p. 245-252, 2013.

NAGARAJ, G. *Oilseeds: properties, products, processing and procedures*. New Delhi: New India Publishing Agency, 2009, 616 p.

NEO, Y. P. et al. Phenolic acid analysis and antioxidant activity assessment of oil palm (*E. guineensis*) fruit extracts. *Food Chemistry*, London, v. 122, n. 1, p. 353-359, 2010.

NESARETNAM, K.; et al. Tocotrienol inhibit the growth of human breast cancer cells irrespective of estrogen receptor status. *Lipids*, Champaign, v. 33, n. 5, p. 461-469, 1998.

NICHOLS, D. S.; JORDAN, T. B.; KERR, N. Chemical and physical properties of lipids. In: SIKORSKI, Z. A. E.; KOŁAKOWSKA, A. *Chemical, biological and functional aspects of food lipids*. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2011, 23-34.

O'BRIEN, R. D. *Fats and oils: formulating and processing for applications*. 3 ed. Boca Raton: CRC Press, 2010, 680 p.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. *Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos*. Barueri: Manole, 2006, 613 p.

OWUSU-APENTEN, R. *Introduction to food chemistry*. Boca Raton: CRC Press, 2004, 272 p.

PACKER, L. *Handbook of antioxidants*. 2 ed. revised and expanded. Boca Raton: CRC Press, 2001, 732 p.

PANGLOSSI, H. V. (ed.). *Antioxidants: new research*. New York: Nova Science Publishers, 2006, 211 p.

PARRY, J. et al. Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry, boysenberry, red raspberry, and blueberry seed oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, London, v. 53, n. 3, p. 566-573, 2005.

PIIRONEN, V.; LAMPI, A. M. Occurrence and levels of phytosterols in foods. In: DUTTA, P. C. *Phytosterols as functional food components and nutraceuticals*. Boca Raton: CRC Press, 2003, Cap 1. p. 1-32.

POKORNÝ, J. Changes of nutrients at frying temperatures. In: BOSKOU D.; ELMADFA, I. *Frying of food: oxidation, nutrient and non-nutrient antioxidants, biologically active compounds and high temperatures*. Boca Raton: CRC Press, 1999, Cap. 4, p. 69-104.

POPOVA, A. V.; ANDREEVA, A. S. Carotenoid-lipid interactions. In: GENOVA, J.; IGLIC, A. *Advances in planar lipid bilayers and liposomes*. Amsterdam: Elsevier, 2013, v. 17, Cap. 8, p. 216-231.

PRABHAKARAN NAIR, K. P. Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacquin). In: PRABHAKARAN NAIR, K. P. *The agronomy and economy of important tree crops of the developing world*. New Delhi: Elsevier Inc. 2010, Cap. 7, p. 209-236.

PREEDY, V. R. *Processing and Impact on Active Components in Food*. Elsevier

Science: Amsterdam, 2014. 724 p.

PRYDE, E. H. Composition of soybean oil. In: ERICKSON, D. R.; PRYDE, E. H.; BREKKE, O. L.; MOUNTS, T. L.; FALB, R. A. *Handbook of soy oil processing and utilization*. Champaign: AOCS Press, 1980, p. 71-88.

PRZYBYLSKI, R.; MCDONALD, B. E. *Development and processing of vegetable oils for human nutrition*. AOCS Press: Champaign, 1995, 133 p.

RAJAH, K. K. *Fats in food technology*. Chichester: Wiley Blackwell, 2014, 385 p.

RAMADAN, M. F.; WAHDAN, K. M. M. Blending of corn oil with black cumin (*Nigella sativa*) and coriander (*Coriandrum sativum*) seed oils: Impact on functionality, stability and radical scavenging activity. *Food Chemistry*, London, v. 132, n. 2, p. 873-879, 2012.

RASOR, A. S.; DUNCAN, S. E. Fats and oils – plant based. In: CLARK, S.; JUNG, S.; LAMSAL, B. *Food processing: principles and applications*. 2 ed. Chichester: Wiley Blackwell, 2014, Cap. 20, p. 457-480.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, New York, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

RODRIGUES, J. L. et al. Caracterização físico-química de creme vegetal enriquecido com ésteres de fitosteróis. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 505-520, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. *A guide to carotenoids analysis in food*. Washington: ILSI Press, 1999.

ROSILLO-CALLE, F.; PELKMANS, L.; WALTER, A. A global overview of vegetable oils, with reference to biodiesel. 2009. Disponível em: <<http://www.bioenergytrade.org/downloads/vegetableoilstudyfinaljune18.pdf>>. Acesso em 21 mai 2014.

SCHAUSS, A. G.; ENDRES, J. R.; CLEWELL, A. Safety of unsaturated vitamin E tocotrienols and their isomers. In: TAN, B.; WATSON, R. R.; PREEDY, V. R. *Tocotrienols: Vitamin E Beyond Tocopherols*. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2012, p. 17-35.

SHAHIDI, F. *Bailey's Industrial oil and fat products: edible oils and oilseeds*. 6 ed. Hoboken: Wiley, 2005. v. 2, 496 p.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Lipid oxidation: measurement methods. In: SHAHIDI, F. *Bailey's industrial oil and fat products*. 6 ed. Hoboken: Wiley, 2005, v. 6, Cap. 8, p. 357-385.

SHILS, M. E.; SHIKE, M. *Modern nutrition in health and disease*. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 2069 p.

SHURTLEFF, W.; AOYAGI, A. *History of soybeans and soyfoods in Mexico and Central America (1877-2009): Extensively Annotated Bibliography and Sourcebook*. Washington: Soyinfo Center, 2009, 426 p.

SHURTLEFF, W.; AOYAGI, A. *History of whole dry soybeans, used as beans, or ground, mashed or flaked (240 BCE to 2013)*. Washington: Soyinfo Center, 2013, 950 p.

SILVA, A. C.; JORGE, N. Oxidative stability of soybean oil added to *Lentinus edodes* and *Agaricus blazei* mushrooms extracts in an accelerated storage test. *Nutrition & Food Science*, London, v. 42, n. 1, p. 34-40, 2012.

SINGH, G. *The soybean: botany, production and uses*. Cambridge: CABI, 2010, 494 p.

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.

SIZER, F. S.; WHITNEY, E. N.; PICHÉ, L. A. *Nutrition: concepts and controversies 2* canadian ed. Toronto: Nelson Education, 2012, 608 p.

SMITH, W. L.; MURPHY, R. C. The eicosanoids: cyclooxygenase, lipoxygenase and epoxigenase pathways. In: VANCE, D. E.; VANCE, J. E. *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. Amsterdam: Elsevier, 2008, Cap. 12, p. 331-362.

STEEL, C. J. Gorduras vegetais hidrogenadas: produtos da termoxidação e ação antioxidante dos tocoferóis. 2002. 334 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A. et al. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, London, v. 76, p. 899-905, 2008.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A. et al. Effect of refining processes on antioxidant capacity, total contents of phenolics and carotenoids in palm oils. *Food Chemistry*, London, v. 129, n. 3, p. 1187-1192, 2011.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A.; TUŁODZIECKA, A.; SZŁYK, E. Determination of antioxidant capacity of unprocessed and processed food products by spectrophotometric methods. *Food Analytical Methods*, v. 5, n. 4, p. 807-813, 2012.

TALBOT, G. The stability and shelf life of fats and oils. In: KILCAST, D.; SUBRAMANIAM, P. *The stability and shelf life of food*. Boca Raton: CRC Press, 2011, Cap. 24, p. 683-715.

TEIXEIRA, C. B. et al. Simultaneous extraction of oil and antioxidant compounds from oil palm fruit (*Elaeis guineensis*) by an aqueous enzymatic process. *Bioresource Technology*, Essex, v. 129, p. 575-581, 2013.

TERRY, L. *Health-promoting properties of fruits and vegetables*. Cambridge: CABI, 2011, 400 p.

USDA. Brazil oilseeds and products. 2014a. Disponível em: <http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual_Brasilia_Brazil_3-12-2014.pdf>. Acesso em 21 mai 2014.

- USDA. Malaysia oilseeds and products. 2014b. Disponível em: <http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual_Kuala%20Lumpur_Malaysia_3-26-2014.pdf>. Acesso em 21 mai 2014.
- VAN DER VOSSSEN, H. A. M.; MKAMILO, G. S. *Vegetable oils*. PROTA, 2007, 235 p.
- VELASCO, J; DOBARGANES, M. C.; MÁRQUEZ-RUIZ. Application of the accelerated Rancimat method to evaluate oxidative stability of dried microencapsulated oils. *Grasas y Aceites*, Sevilla, v. 51, p. 261-267, 2000.
- VENSKUTONIS, P. R. Natural antioxidants in food systems. In: BARTOSZ, G. Food oxidants and antioxidants: chemical, biological, and functional properties. Boca Raton: CRC Press. 2013, Cap. 9, p. 235-302.
- VERONEZI, C. M.; COSTA, T.; JORGE, N. Basil (*Ocimum basilicum* L.) as a natural antioxidant. *Journal of Food Processing and Preservation*, Westport, v. 38, n. 1, p. 255-261, 2014.
- VERONEZI, C.; JORGE, N. Bioactive compounds in lipid fractions of pumpkin (*Cucurbita* sp) seeds for use in food. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 77, n. 6, p. C653-C657, 2012.
- WANG, T. Soybean oil. In: GUNSTONE, F. *Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses*. Chichester: Wiley Blackwell, 2011, Cap. 3, p. 59-106.
- WANG, T.; HAMMOND, E. G. Lipoxigenase and lipid oxidation in foods. In: DECKER, E. A.; ELIAS, R. J.; MCCLEMENTS, D. J. *Oxidation in foods and beverages and antioxidant application*. New Delhi: Woodhead, 2010, Cap. 5, p. 105-118.
- WEISS, T. J. *Food Oils and Their Uses*. 2 ed. Westport: AVI Publishing, 1983, 310 p.
- WHITE, P. J. Conjugated diene, anisidine value, and carbonyl value analysis. In: WARNER, K.; ESKIN, N. A. M. *Methods to assess quality and stability of oils and fat-containing foods*. Champaign: AOCS Press, 1995, 220 p.
- ZIN, R. B. M. Process design of degumming and bleaching of palm oil. 2006. 239 p. Tese - Centre of Lipids Engineering and Applied Research (CLEAR), Universiti Teknologi Malaysia. Malaysia. 2006.
- ZULKURNAIN, M. et al. The effects of physical refining on the formation of 3-monochloropropane-1,2-diol esters in relation to palm oil minor components. *Food Chemistry*, London, v. 135, n. 2, p. 799-805, 2012.

APÊNDICES

Apêndice 1. Análise de variância para as determinações de índice de peróxidos (IP) e dienos conjugados (DC).

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		IP	DC
Tratamentos	5	893,2768**	0,0690**
Tempos de estocagem	4	26410,7679**	5,2391**
Tratamentos x tempos de estocagem	20	104,6870**	0,02624**
Resíduo	60	1,1878	0,0014
Desvio padrão		0,80	0,02
Coeficiente de variação (%)		2,72	4,63

** Significativo ($p \leq 0,01$).

Apêndice 2. Análise de variância para a determinação de ganho de massa.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios
Tratamentos	7	2,87593**
Tempos de estocagem	5	110,41190**
Tratamentos x tempos de estocagem	35	5,04263**
Resíduo	96	0,1323
Desvio padrão		0,25
Coeficiente de variação (%)		16,64

** Significativo ($p \leq 0,01$).

Apêndice 2a. Ganho de massa (%) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias).

Tratamentos	Tempos (dias)							
	3	6	9	12	15	18	21	24
OSR	0,00 ± 0,00 ^{eA}	0,13 ± 0,02 ^{eA}	0,14 ± 0,07 ^{eB}	1,12 ± 0,08 ^{cdD}	7,27 ± 0,74 ^{aA}	3,49 ± 0,44 ^{bA}	1,56 ± 0,12 ^{cA}	0,49 ± 0,02 ^{deA}
OSRT	0,00 ± 0,00 ^{eA}	0,22 ± 0,04 ^{eA}	0,42 ± 0,11 ^{eB}	4,50 ± 0,53 ^{bC}	6,67 ± 0,37 ^{aAB}	3,18 ± 0,23 ^{cAB}	1,60 ± 0,18 ^{dA}	0,39 ± 0,08 ^{eA}
OSRM	0,00 ± 0,00 ^{dA}	0,15 ± 0,06 ^{dA}	0,28 ± 0,06 ^{dB}	1,47 ± 0,38 ^{cD}	7,37 ± 0,46 ^{aA}	3,50 ± 0,35 ^{bA}	1,58 ± 0,36 ^{cA}	0,33 ± 0,09 ^{dA}
OSP	0,01 ± 0,02 ^{eA}	0,19 ± 0,04 ^{eA}	0,45 ± 0,05 ^{eB}	7,02 ± 0,37 ^{aB}	6,00 ± 0,12 ^{bBC}	3,20 ± 0,16 ^{cAB}	1,64 ± 0,16 ^{dA}	0,56 ± 0,04 ^{eA}
OSPT	0,09 ± 0,06 ^{fA}	0,45 ± 0,04 ^{efA}	1,59 ± 0,36 ^{dA}	9,37 ± 0,23 ^{aA}	5,49 ± 0,45 ^{bC}	2,60 ± 0,43 ^{cB}	1,36 ± 0,22 ^{deA}	0,53 ± 0,03 ^{efA}
OSPM	0,02 ± 0,01 ^{eA}	0,24 ± 0,07 ^{eA}	0,42 ± 0,30 ^{deB}	7,76 ± 0,85 ^{aB}	5,86 ± 0,44 ^{bBC}	2,80 ± 0,39 ^{cAB}	1,19 ± 0,31 ^{dA}	0,23 ± 0,11 ^{eA}

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Apêndice 3. Análise de variância para a determinação de estabilidade oxidativa.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios
Tratamentos	4	102,39286**
Tempos de estocagem	5	1,96801**
Tratamentos x tempos de estocagem	20	0,27308**
Resíduo	60	0,06468
Desvio padrão		0,21
Coeficiente de variação (%)		6,19

** Significativo ($p \leq 0,01$).

Apêndice 4. Análise de variância para a determinação do perfil de ácidos graxos.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios				
		C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
Tratamentos	2	0,53352**	0,02549**	0,37787**	1,22448**	0,12774**
Tempos de estocagem	5	0,00342 ^{NS}	0,00182**	0,02031**	0,03562**	0,00132*
Tratamentos x tempos de estocagem	10	0,01768**	0,00150**	0,01097**	0,03498**	0,00588**
Resíduo	36	0,00273	0,00046	0,00316	0,00559	0,00049
Desvio padrão		0,05	0,02	0,05	0,06	0,02
Coeficiente de variação (%)		0,23	0,50	0,21	0,18	0,49

C16:0: ácido palmítico; C18:0: ácido esteárico; C18:1: ácido oleico; C18:2: ácido linoleico; C18:3: ácido α -linolênico.

** Significativo ($p \leq 0,01$).

^{NS} Não significativo ($p > 0,05$).

* Significativo ($0,01 < p \leq 0,05$).

Apêndice 4a. Teor de ácidos graxos (%) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias).

Tempos (dias)	Tratamentos					
	OSR	OSRT	OSRM	OSP	OSPT	OSPM
Palmítico (C16:0)						
0	22,71 ± 0,02 ^{abB}	22,73 ± 0,10 ^{aC}	22,54 ± 0,04 ^{cC}	22,59 ± 0,03 ^{bcB}	22,55 ± 0,04 ^{cB}	22,61 ± 0,02 ^{abcB}
10	22,71 ± 0,07 ^{bB}	22,85 ± 0,06 ^{aB}	22,85 ± 0,02 ^{aB}	22,87 ± 0,03 ^{aA}	22,92 ± 0,06 ^{aA}	22,86 ± 0,09 ^{aA}
20	22,69 ± 0,05 ^{aA}	22,96 ± 0,04 ^{aA}	23,03 ± 0,02 ^{aA}	22,92 ± 0,08 ^{aA}	22,93 ± 0,04 ^{aA}	22,95 ± 0,03 ^{aA}
Esteárico (C18:0)						
0	4,27 ± 0,05 ^{cC}	4,28 ± 0,02 ^{bcC}	4,34 ± 0,03 ^{aB}	4,33 ± 0,02 ^{abB}	4,34 ± 0,01 ^{aB}	4,30 ± 0,03 ^{abcB}
10	4,31 ± 0,02 ^{abC}	4,34 ± 0,02 ^{abB}	4,29 ± 0,01 ^{bc}	4,33 ± 0,02 ^{abB}	4,34 ± 0,01 ^{abB}	4,35 ± 0,03 ^{aA}
20	4,37 ± 0,02 ^{aA}	4,38 ± 0,02 ^{aA}	4,39 ± 0,01 ^{aA}	4,38 ± 0,02 ^{aA}	4,40 ± 0,01 ^{aA}	4,37 ± 0,02 ^{aA}
Oleico (C18:1)						
0	27,15 ± 0,09 ^{abB}	27,18 ± 0,06 ^{abB}	27,20 ± 0,06 ^{aB}	27,19 ± 0,05 ^{abB}	27,22 ± 0,02 ^{aB}	27,06 ± 0,11 ^{bC}
10	27,18 ± 0,07 ^{abB}	27,23 ± 0,07 ^{aB}	27,09 ± 0,04 ^{bB}	27,21 ± 0,05 ^{abB}	27,30 ± 0,01 ^{aB}	27,29 ± 0,06 ^{aB}
20	27,39 ± 0,03 ^{bA}	27,39 ± 0,02 ^{bA}	27,38 ± 0,04 ^{bA}	27,51 ± 0,05 ^{abA}	27,54 ± 0,02 ^{aA}	27,42 ± 0,05 ^{abA}
Linoleico (C18:2)						
0	41,38 ± 0,09 ^{abA}	41,27 ± 0,08 ^{bA}	41,29 ± 0,15 ^{bA}	41,26 ± 0,05 ^{bA}	41,29 ± 0,07 ^{bA}	41,48 ± 0,17 ^{aA}
10	41,32 ± 0,05 ^{aA}	41,08 ± 0,07 ^{bB}	41,33 ± 0,06 ^{aA}	41,12 ± 0,04 ^{bA}	40,96 ± 0,06 ^{bB}	40,99 ± 0,04 ^{bB}
20	40,85 ± 0,05 ^{aB}	40,87 ± 0,06 ^{aC}	40,75 ± 0,04 ^{aB}	40,78 ± 0,01 ^{aB}	40,75 ± 0,02 ^{aC}	40,86 ± 0,06 ^{aB}
α-linolênico (C18:3)						
0	4,49 ± 0,02 ^{dA}	4,55 ± 0,03 ^{cA}	4,63 ± 0,02 ^{aA}	4,63 ± 0,02 ^{aA}	4,60 ± 0,01 ^{abA}	4,55 ± 0,04 ^{bcA}
10	4,48 ± 0,03 ^{abA}	4,50 ± 0,02 ^{aB}	4,44 ± 0,01 ^{bB}	4,46 ± 0,01 ^{abB}	4,48 ± 0,02 ^{abB}	4,50 ± 0,04 ^{aB}
20	4,44 ± 0,03 ^{aB}	4,39 ± 0,01 ^{abC}	4,44 ± 0,01 ^{aB}	4,40 ± 0,02 ^{abC}	4,37 ± 0,03 ^{bcC}	4,39 ± 0,01 ^{abC}

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Apêndice 5. Análise de variância para a determinação de carotenoides totais.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios
Tratamentos	1	1,5936**
Tempos de estocagem	4	22,3683**
Tratamentos x tempos de estocagem	4	1,2646**
Resíduo	20	0,1913
Desvio padrão		0,36
Coeficiente de variação (%)		4,75

** Significativo ($p \leq 0,01$).

Apêndice 5a. Conteúdo de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa ($60\text{ }^\circ\text{C}/20$ dias).

Tempos (dias)	Tratamentos	
	OSRM	OSPM
0	$11,21 \pm 0,06^{bA}$	$12,30 \pm 0,36^{aA}$
5	$10,55 \pm 0,35^{aAB}$	$9,72 \pm 0,63^{bB}$
10	$9,96 \pm 0,23^{aB}$	$9,01 \pm 0,08^{bB}$
15	$8,33 \pm 0,32^{aC}$	$7,10 \pm 0,82^{bC}$
20	$7,10 \pm 0,64^{aD}$	$6,73 \pm 0,14^{aC}$

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Apêndice 6. Análise de variância para a determinação de compostos fenólicos totais.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios
Tratamentos	5	561,50202 ^{NS}
Tempos de estocagem	4	2776,4879**
Tratamentos x tempos de estocagem	20	733,3820**
Resíduo	60	291,1915
Desvio padrão		14,14
Coeficiente de variação (%)		13,62

** Significativo ($p \leq 0,01$).

^{NS} Não significativo ($p > 0,05$).

Apêndice 7. Análise de variância para a determinação do perfil de tocoferóis.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios					
		α	γ	δ	Total	Vit E	Vit E(α)
Tratamentos	2	36904,85352**	104621,29389**	1079,78574**	291245,97556**	66319,13591**	54798,25033**
Tempos de aquecimento	5	11964,39096**	502,55589**	36,33485**	14890,42444**	14833,44326**	12256,59082**
Tempos de estocagem	10	4351,04841**	885,74678**	35,03641**	2583,97000**	4860,73105**	4016,33006**
Tratamentos x tempos de estocagem	36	0,17315	0,24315	0,21778	0,49407	0,19478	0,16094
Desvio padrão		0,31	0,43	0,42	0,66	0,34	0,31
Coeficiente de variação (%)		0,94	0,18	0,60	0,18	0,49	0,49

α : α -tocoferol; γ : γ -tocoferol; δ : δ -tocoferol; Total: somatória dos isômeros de tocoferol; Vit E: vitamina E; Vit E (α): vitamina E expressa como α -tocoferol.

** Significativo ($p \leq 0,01$).

Apêndice 7a. Conteúdo de tocoferóis (mg/kg) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias).

Tempos (dias)	Tratamentos					
	OSR	OSRT	OSRM	OSP	OSPT	OSPM
α-tocoferol						
0	43,93 ± 0,67 ^{CA}	178,53 ± 0,40 ^{bA}	41,37 ± 0,21 ^{dA}	43,90 ± 0,72 ^{CA}	203,17 ± 0,06 ^{aA}	41,60 ± 0,44 ^{dA}
10	27,43 ± 0,59 ^{CB}	86,73 ± 0,15 ^{aB}	26,57 ± 0,45 ^{CB}	11,27 ± 0,21 ^{EB}	68,83 ± 0,76 ^{bB}	15,93 ± 0,74 ^{dB}
20	0,00 ± 0,00 ^{bC}	11,67 ± 0,15 ^{aC}	0,00 ± 0,00 ^{bC}	0,00 ± 0,00 ^{bC}	0,00 ± 0,00 ^{bC}	0,00 ± 0,00 ^{bC}
γ-tocoferol						
0	324,90 ± 0,79 ^{EA}	313,00 ± 0,66 ^{FA}	351,43 ± 0,06 ^{AA}	341,97 ± 0,25 ^{CA}	332,30 ± 0,20 ^{DA}	344,17 ± 0,32 ^{BA}
10	298,77 ± 0,72 ^{CB}	299,83 ± 0,15 ^{bcB}	300,73 ± 0,21 ^{BB}	284,30 ± 0,56 ^{EB}	302,70 ± 0,52 ^{AB}	288,80 ± 0,80 ^{DB}
20	179,53 ± 0,12 ^{CC}	226,50 ± 0,44 ^{AC}	191,20 ± 0,53 ^{BC}	158,70 ± 0,53 ^{DC}	190,80 ± 0,70 ^{BC}	178,74 ± 0,21 ^{CC}
δ-tocoferol						
0	89,20 ± 0,52 ^{AA}	79,43 ± 0,42 ^{DA}	90,17 ± 0,45 ^{AA}	88,00 ± 0,10 ^{BA}	84,43 ± 0,31 ^{CA}	86,90 ± 0,20 ^{BA}
10	78,43 ± 0,49 ^{BB}	79,80 ± 0,82 ^{AA}	80,93 ± 0,55 ^{AB}	70,10 ± 0,56 ^{DB}	78,33 ± 0,15 ^{BB}	76,17 ± 0,60 ^{CB}
20	70,40 ± 0,52 ^{bC}	73,77 ± 0,80 ^{AB}	73,13 ± 0,12 ^{AC}	68,57 ± 0,21 ^{CC}	68,43 ± 0,32 ^{CC}	71,37 ± 0,42 ^{bC}
Total						
0	458,03 ± 0,95 ^{EA}	570,97 ± 0,64 ^{BA}	482,97 ± 0,67 ^{CA}	473,87 ± 0,80 ^{DA}	619,90 ± 0,10 ^{AA}	472,67 ± 0,12 ^{DA}
10	404,63 ± 0,86 ^{dB}	466,37 ± 0,90 ^{AB}	408,23 ± 0,64 ^{CB}	365,67 ± 0,84 ^{FB}	449,87 ± 0,70 ^{BB}	380,90 ± 0,72 ^{EB}
20	249,93 ± 0,59 ^{dC}	311,93 ± 0,95 ^{AC}	264,33 ± 0,58 ^{BC}	227,27 ± 0,67 ^{EC}	259,23 ± 0,70 ^{CC}	249,83 ± 0,55 ^{dC}
Vitamina E						
0	97,96 ± 0,82 ^{dA}	243,36 ± 0,35 ^{bA}	98,32 ± 0,24 ^{dA}	100,47 ± 0,81 ^{CA}	274,20 ± 0,07 ^{aA}	98,26 ± 0,44 ^{dA}
10	75,78 ± 0,58 ^{CB}	140,40 ± 0,17 ^{aB}	74,10 ± 0,49 ^{dB}	55,74 ± 0,14 ^{FB}	121,92 ± 0,79 ^{bB}	61,61 ± 0,69 ^{EB}
20	27,64 ± 0,02 ^{cdC}	46,81 ± 0,23 ^{aC}	28,70 ± 0,08 ^{bcC}	24,49 ± 0,08 ^{EC}	29,31 ± 0,10 ^{bC}	27,49 ± 0,03 ^{dC}
Vitamina E expressa como δ-tocoferol						
0	89,05 ± 0,74 ^{dA}	221,22 ± 0,31 ^{bA}	89,38 ± 0,22 ^{dA}	91,33 ± 0,73 ^{CA}	249,25 ± 0,06 ^{aA}	89,32 ± 0,40 ^{dA}
10	68,69 ± 0,53 ^{CB}	127,62 ± 0,16 ^{aB}	67,35 ± 0,44 ^{dB}	50,67 ± 0,13 ^{FB}	110,82 ± 0,72 ^{bB}	56,01 ± 0,63 ^{EB}
20	25,12 ± 0,02 ^{cdC}	42,55 ± 0,21 ^{aC}	26,09 ± 0,07 ^{bcC}	22,26 ± 0,07 ^{EC}	26,64 ± 0,09 ^{bC}	24,99 ± 0,03 ^{dC}

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Apêndice 8. Análise de variância para a determinação do perfil de fitosteróis.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios		
		Campesterol	B-sitosterol	Total
Tratamentos	2	43,63454**	46557,39870**	49036,56591**
Tempos de estocagem	5	19,68096**	10935,16290**	11768,79173**
Tratamentos x tempos de estocagem	10	2,93795**	10509,73652**	10525,91908**
Resíduo	36	0,01909	0,02834	0,03735
Desvio padrão		0,13	0,15	0,17
Coeficiente de variação (%)		0,93	0,22	0,21

** Significativo ($p \leq 0,01$).

Apêndice 8a. Conteúdo de fitosteróis (mg/100 g) dos tratamentos submetidos à estocagem em estufa (60 °C/20 dias).

Tempos (dias)	Tratamentos					
	OSR	OSRT	OSRM	OSP	OSPT	OSPM
Campesterol						
0	18,96 ± 0,25 ^{aA}	16,76 ± 0,18 ^{bA}	16,27 ± 0,09 ^{cA}	15,68 ± 0,12 ^{dA}	15,09 ± 0,18 ^{eA}	14,94 ± 0,14 ^{eA}
10	16,68 ± 0,12 ^{aB}	15,90 ± 0,07 ^{bB}	14,23 ± 0,06 ^{dB}	13,59 ± 0,12 ^{eB}	15,18 ± 0,10 ^{cA}	13,69 ± 0,12 ^{dB}
20	15,39 ± 0,13 ^{aC}	14,19 ± 0,11 ^{bC}	14,17 ± 0,08 ^{bB}	11,90 ± 0,17 ^{cC}	14,18 ± 0,11 ^{bB}	9,35 ± 0,18 ^{dC}
β-sitosterol						
0	274,44 ± 0,19 ^{aA}	250,71 ± 0,15 ^{bA}	136,41 ± 0,22 ^{cA}	53,99 ± 0,30 ^{dA}	53,35 ± 0,19 ^{dA}	50,67 ± 0,31 ^{eA}
10	52,17 ± 0,16 ^{cB}	49,44 ± 0,13 ^{dB}	52,69 ± 0,20 ^{bD}	46,02 ± 0,11 ^{eB}	53,20 ± 0,10 ^{aA}	49,80 ± 0,11 ^{dB}
20	46,55 ± 0,14 ^{cC}	47,60 ± 0,09 ^{bC}	48,33 ± 0,09 ^{aC}	43,10 ± 0,11 ^{eC}	47,42 ± 0,15 ^{bB}	45,86 ± 0,04 ^{dC}
Total						
0	293,40 ± 0,07 ^{aA}	267,47 ± 0,07 ^{bA}	152,68 ± 0,29 ^{cA}	69,48 ± 0,19 ^{dA}	68,44 ± 0,37 ^{eA}	65,61 ± 0,30 ^{fA}
10	68,85 ± 0,10 ^{aB}	65,34 ± 0,13 ^{cB}	66,91 ± 0,19 ^{bB}	59,64 ± 0,18 ^{eB}	68,38 ± 0,08 ^{aA}	63,76 ± 0,05 ^{dB}
20	61,94 ± 0,27 ^{bC}	61,79 ± 0,16 ^{bC}	62,50 ± 0,15 ^{aC}	55,07 ± 0,20 ^{cC}	61,60 ± 0,06 ^{bB}	55,22 ± 0,22 ^{cC}

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).