

DENISE ANDREO

**EFEITO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE  
GENGIBRE (*Gengiber officinale*) EM ÓLEO DE SOJA  
SUBMETIDO AO AQUECIMENTO**

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

2007

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

DENISE ANDREO

**EFEITO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE  
GENGIBRE (*Zingiber officinale*) EM ÓLEO DE SOJA  
SUBMETIDO AO AQUECIMENTO**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Neuza Jorge

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

2007

Andro, en se.

efe o an ox dan e do ex a o de en bre (*Gengiber officinale*) e  
o ro de so a s b e do ao a t e en o / en se And ro. São b se do  
R o p e o : [s.n.], 200  
4 f. : . ; 30 c . 7

en ado : Ma za b e  
sse a ão ( res ado) n e s dade s ad a Pa a s a, /ns t t e  
B ocênc as, Le t as e ênc as xa as

. ros e o d as. 2. ros e e a s. 3. ro de so a x da ão.  
4. x da ão d ca. 5. An ox dan es. 6. B e . x a o de  
en bre. I. b e, Ma za. II. n e s dade s ad a Pa a s a. /ns t t e  
de B ocênc as, Le t as e ênc as xa as. III. t e o.

DENISE ANDREO

**EFEITO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE  
GENGIBRE (*Gengiber officinale*) EM ÓLEO DE SOJA  
SUBMETIDO AO AQUECIMENTO**

COMISSÃO JULGADORA  
DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Neuza Jorge  
Presidente e Orientadora

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Renata Maria Galvão de Campos Cintra  
2<sup>º</sup> Examinador

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Mieko Kimura  
3<sup>º</sup> Examinador

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

2007

À minha querida mãezinha,  
a quem amo tanto ...

dedico...

## AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Deus, pelo dom da vida, força, coragem e sabedoria a mim concedidos durante toda esta caminhada;

À minha querida orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Neuza Jorge, pela presença e dedicação durante toda a elaboração deste trabalho;

Ao Prof. Dr. David Ariovaldo Banzatto, pela presteza na revisão das análises estatísticas;

Ao Prof. Dr. Elizeu Trabuco, pelo incentivo e apoio;

À minha amiga Patrícia Vieira Del Ré, pela presença naquele difícil momento de decisão;

Aos técnicos de laboratório Ginaldo e Newton, pelo apoio e constante demonstração de amizade;

Às amigas do peito: Cássia, Débora, Priscila e Valéria, pelas lágrimas e sorrisos compartilhados em todos os momentos de tristeza e alegria que passamos juntas;

A todos os professores, funcionários e colegas do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, com quem convivi durante este período;

Ao pessoal da biblioteca, em especial à bibliotecária Maria Luiza Fernandes Jardim Froner, pela atenção e auxílio na elaboração da ficha catalográfica;

À banca examinadora, composta pela Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Mieko Kimura e Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Renata Maria Galvão de Campos Cintra, pelas valiosas críticas e sugestões que contribuíram para o enriquecimento deste trabalho.

À empresa Danisco S/A, pela doação das amostras de TBHQ;

À Capes, pela concessão da bolsa de mestrado;

Ao Fabrício, meu querido esposo, pelo apoio, incentivo, carinho e atenção em todos os momentos de dificuldade;

Aos meus irmãos Michele e Heitor que, mesmo distantes, estão sempre em meus pensamentos;

Ao meu pai Estevão Sérgio Andreo (*in memoriam*), pela intensa presença em minha vida;

À minha mãe Maria Aparecida e ao meu “pai de coração” Pedro, que sempre me deram muito amor, carinho, estímulo e dedicação e, especialmente, por estarem sempre ao meu lado;

A toda minha família, por acreditar em mim sempre e;

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



## RESUMO

Os principais objetivos deste trabalho foram determinar o valor de compostos fenólicos totais e avaliar a atividade antioxidante do extrato etanólico de gengibre adicionado ao óleo de soja, submetido ao teste acelerado em estufa a 60°C e à termoxidação a 180°C, bem como o efeito sinérgico com o antioxidante sintético TBHQ. Rizomas de gengibre *in natura* foram lavados, cortados, desidratados e triturados, para a extração etanólica. Neste extrato, foi determinado o valor de EC<sub>50</sub>, a atividade antioxidante máxima e a quantidade de compostos fenólicos totais. Os tratamentos utilizados nos ensaios de teste acelerado em estufa e termoxidação foram o controle (óleo de soja isento de antioxidantes), o óleo de soja adicionado da concentração de 2.500 mg/kg de extrato etanólico de gengibre, o óleo adicionado de 50 mg/kg do antioxidante sintético TBHQ e o óleo de soja contendo a mistura de 2.500 mg/kg de extrato de gengibre e 50 mg/kg de TBHQ. No teste acelerado em estufa, as amostras retiradas nos tempos 0, 3, 6, 9 e 12 dias de aquecimento, foram analisadas quanto ao índice de peróxidos e dienos conjugados. Na termoxidação, as amostras retiradas nos tempos 0, 4, 8, 12, 16 e 20 horas de aquecimento foram analisadas quanto a estabilidade oxidativa, compostos polares totais, índice de peróxidos e dienos conjugados. Os resultados obtidos das determinações analíticas foram submetidos às análises de variância, em esquema fatorial, no delineamento inteiramente casualizado, de modo a determinar a influência dos fatores tratamentos e tempos de aquecimento sobre as alterações nas amostras de óleo. O valor de EC<sub>50</sub>, a atividade antioxidante máxima e a quantidade de compostos fenólicos totais, obtidos foram 42,6 µg/mL, 79% e 251 mg/g, respectivamente. A concentração de extrato de gengibre selecionada para ser adicionada ao óleo de soja foi 2.500 mg/kg, pois apresentou maior estabilidade oxidativa, medida pelo Rancimat a 100°C. No teste acelerado em estufa, os tratamentos em que foram adicionados TBHQ e a mistura dos antioxidantes demonstraram maior eficiência contra a formação de peróxidos e dienos conjugados ao final de 12 dias de aquecimento, com redução de cerca de 90% na formação de peróxidos e cerca de 65% na redução dos dienos conjugados. Na termoxidação a 180°C por 20 horas, os tratamentos em que foram utilizados o extrato de gengibre e a mistura de antioxidantes, apresentaram maior proteção do óleo quanto à estabilidade oxidativa, e à formação de compostos polares totais, peróxidos e dienos conjugados. Ao final deste trabalho foi possível

concluir que o extrato etanólico de gengibre pode ser utilizado como antioxidante natural em óleos, gorduras e alimentos gordurosos.

Palavras-chave: antioxidantes, extrato de gengibre, óleo de soja, oxidação lipídica, TBHQ.

## ABSTRACT

The aims of this work were to determine the total phenolic compounds amount and evaluate the antioxidant activity in ginger ethanolic extract added to soybean oil submitted to "Schaal oven test" at 60°C and thermoxidation at 180°C, as well as the synergistic effect with synthetic antioxidant TBHQ. *In natura* ginger rhizome were washed, cut, dehydrated and triturated to ethanolic extraction. In this extract it was determined the EC<sub>50</sub> value, the antioxidant activity maximum and the total phenolic compounds amount. The treatments used in "Schaal oven test" and thermoxidation were control, soybean oil added ethanolic ginger extract 2500 mg/kg, soybean oil added synthetic antioxidant substance TBHQ 50 mg/kg and soybean oil contend ginger ethanolic extract 2500 mg/kg and TBHQ 50 mg/kg mixture. The "Schaal oven test" assay collected samples at times 0, 3, 6, 9 and 12 days were analyzed as to conjugated diene and peroxide value. The thermoxidation assay samples collected at times 0, 4, 8, 12 and 20 hours were analyzed as to oxidative stability, total polar compounds, conjugated diene and peroxide value. The obtained results from the analytical determinations were submitted to variance analysis, in a factorial scheme, employing the completely randomized statistical design, in order to determine the influence of treatments factors and periods of heating in relation to the oil alterations. The EC<sub>50</sub> value, the maximum antioxidant activity and the total phenolic compounds amount were 42.6 µg/mL, 79% and 251 mg/g, respectively. The ginger extract concentration selected to added in soybean oil was 2500 mg/kg, therefore it presented greater oxidative stability, measured in Rancimat 100°C. In the "Schaal oven test", the TBHQ and antioxidant substances mixture treatments demonstrated greater efficiency against peroxide and dienes conjugated formation in 12 days of heating, with about 90% of peroxide formation inhibition and about 65% of conjugated dienes formation inhibition. In thermoxidation assay the ginger extract and the antioxidant substance mixture treatments presented greater protection to soybean oil as to oxidative stability, total polar compounds, peroxides index and conjugated diene formation. In the end of this work was possible to conclude that the ethanolic ginger extract can be used as natural antioxidant in oils, fat and foodstuffs.

Key words: antioxidants, ginger extract, lipid oxidation, soybean oil, TBHQ.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química dos ácidos graxos mono e poliinsaturado .....	18
Figura 2. Estrutura química dos ácidos graxos com ligações cis e trans .....	18
Figura 3. Formação da molécula de triacilglicerol .....	19
Figura 4. Mecanismo de ação dos antioxidantes primários .....	33
Figura 5. Estrutura química dos antioxidantes sintéticos mais comuns .....	35
Figura 6. Principais componentes encontrados no gengibre .....	38
Figura 7. Regressão linear para o extrato etanólico de gengibre .....	59

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Características físicas e químicas do óleo de soja .....	20
Tabela 2.	Composição de ácidos graxos do óleo de soja .....	21
Tabela 3.	Principais alterações em óleos de fritura .....	26
Tabela 4.	Concentrações de extrato natural adicionadas ao óleo de soja .....	48
Tabela 5.	Valores de $AA_{máxima}$ , $EC_{50}$ e CFT do extrato de gengibre .....	57
Tabela 6.	Desdobramento da interação tratamentos x tempos de aquecimento para os dados do índice de peróxidos (meq/kg) .....	61
Tabela 7.	Desdobramento da interação tratamentos x tempos de aquecimento para os dados de dienos conjugados (%) .....	63
Tabela 8.	Desdobramento da interação tratamentos x tempos de aquecimento para os dados da estabilidade oxidativa (horas) .....	67
Tabela 9.	Desdobramento da interação tratamentos x tempos de aquecimento para os dados de compostos polares totais (%) .....	69
Tabela 10.	Desdobramento da interação tratamentos x tempos de aquecimento para os dados do índice de peróxidos (meq/kg) .....	72
Tabela 11.	Desdobramento da interação tratamentos x tempos de aquecimento para os dados de dienos conjugados (%) .....	73

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	16
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	17
3.1. Óleos e gorduras – definição e características .....	17
3.1.1. Composição química .....	17
3.1.2. Óleo de soja .....	19
3.2. Fritura .....	22
3.2.1. Alterações em óleos e gorduras de fritura .....	22
3.2.2. Alterações nutricionais causadas por óleos e gorduras de fritura ...	26
3.3. Termoxidação .....	28
3.4. Teste acelerado em estufa .....	29
3.5. Antioxidantes .....	31
3.5.1. Mecanismo de ação .....	31
3.5.2. Classificação .....	32
3.5.3. Antioxidantes sintéticos .....	34
3.5.4. Antioxidantes naturais .....	36
3.5.5. Gengibre .....	37
3.5.6. Aspectos nutricionais dos antioxidantes .....	38
3.5.7. Extração de antioxidantes naturais .....	40
3.5.7.1. Extração com solventes orgânicos .....	40
3.5.7.2. Extração supercrítica .....	41
3.5.8. Identificação de antioxidantes naturais.....	43
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	45
4.1. Material .....	45
4.1.1. Óleo .....	45
4.1.2. Gengibre .....	45
4.1.3. Antioxidantes .....	45
4.1.4. Reagentes e soluções .....	46
4.1.5. Equipamentos .....	46
4.2. Procedimentos experimentais .....	47
4.2.1. Ensaio I – determinação da atividade antioxidante .....	47

4.2.2. Ensaio II – teste acelerado em estufa .....	48
4.2.3. Ensaio III – termoxidação .....	49
4.3. Métodos .....	50
4.3.1. Atividade antioxidante – método do radical livre DPPH .....	50
4.3.2. Compostos fenólicos totais .....	51
4.3.3. Estabilidade oxidativa .....	51
4.3.4. Compostos polares totais .....	52
4.3.5. Índice de peróxidos .....	53
4.3.6. Ácidos dienólicos conjugados .....	53
4.4. Delineamento experimental .....	54
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>56</b>
5.1. Obtenção do extrato etanólico de gengibre .....	56
5.2. Ensaio I – determinação da atividade antioxidante .....	56
5.3. Ensaio II – teste acelerado em estufa .....	60
5.3.1. Índice de peróxidos .....	60
5.3.2. Dienos conjugados .....	62
5.4. Ensaio III – termoxidação .....	66
5.4.1. Estabilidade oxidativa .....	66
5.4.2. Compostos polares totais .....	68
5.4.3. Índice de peróxidos .....	71
5.4.4. Dienos conjugados .....	73
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>76</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>77</b>
<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>93</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os lipídios englobam as classes de óleos e gorduras, e são compostos insolúveis em água. Juntamente com proteínas e carboidratos, constituem o principal componente estrutural de todas as células vivas. Nos alimentos têm participação importante no sabor, textura, odor e valor nutricional (NAWAR, 2000).

Os óleos e gorduras podem ser classificados, de acordo com sua origem, em animais e vegetais. Os óleos vegetais representam o grupo de maior volume e diversidade, podendo ser obtidos de várias matérias-primas, tais como palma, algodão, milho, canola, soja, girassol, etc. (ORTHOEFER, 1996).

Dentre os óleos vegetais, o de soja é o mais utilizado no Brasil, com um consumo de 2,96 milhões de toneladas no biênio 2003/2004 (ABIOVE, 2007). Este óleo tem em sua composição cerca de 85% de ácidos graxos insaturados, entre os quais estão os essenciais linoléico e linolênico (SIPOS; SZUHAJ, 1996).

A fritura tem contribuído para o aumento do consumo de óleos e gorduras vegetais em todo o mundo devido à facilidade no preparo de produtos fritos, pois é um excelente meio de transferência de calor para o preparo rápido de alimentos. Além disso, os alimentos fritos possuem características sensoriais mais agradáveis, como odor, sabor e textura.

Durante o processo de fritura, os óleos e gorduras estão expostos à ação de três agentes que contribuem para diminuir a qualidade e modificar sua estrutura: a umidade proveniente dos alimentos, que é causa da alteração hidrolítica; a temperatura em que ocorre a operação, resultando em alterações térmicas; e, finalmente, o oxigênio do ar, que entra na massa de óleo através da superfície do recipiente possibilitando a alteração oxidativa (FRITSCH, 1981).

A oxidação de ácidos graxos ocorre com maior facilidade naqueles de cadeia insaturada, presentes em óleos vegetais (soja, algodão, amendoim) e em gorduras animais (pescado e manteiga). A oxidação é mais intensa quanto mais insaturado for o óleo (ARAÚJO, 1999).

Para minimizar a formação de compostos resultantes da oxidação lipídica, óleos e gorduras podem ser acrescidos de antioxidantes, substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação lipídica, protegendo o óleo da oxidação durante o tempo em que é submetido a altas temperaturas (JASWIR; CHE-MAN; KITTS, 2000).



No entanto, o emprego de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos tem sido alvo de questionamentos quanto a sua inocuidade e, devido a esse problema, pesquisas encontram-se voltadas para a busca de compostos naturais que apresentem esta propriedade funcional, podendo atuar sozinhos ou sinergisticamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e diminuir o uso dos antioxidantes sintéticos (MELO; GUERRA, 2002).

Os antioxidantes naturais são encontrados em uma variedade de plantas. Pode-se citar, como mais utilizados, os tocoferóis, os ácidos fenólicos e os extratos de plantas, como o gengibre, o alecrim, a sálvia, sementes de frutas, outras ervas e especiarias. Esses compostos podem agir como redutores ou interruptores de radicais livres, inibidores ou supressores de oxigênio singlete e como inativadores de metais pró-oxidantes.

Tendo em vista as objeções em torno da adição de antioxidantes sintéticos, em função de seus efeitos prejudiciais à saúde, e levando-se em consideração que o gengibre contém substâncias com propriedades potencialmente antioxidantes, observou-se a necessidade de se estudar mais profundamente o efeito do extrato de gengibre em óleo de soja submetido a processos de aquecimento, como o teste acelerado em estufa e a termoxidação, porém sem a presença de alimento. O efeito sinérgico do TBHQ, antioxidante sintético largamente utilizado pelas indústrias, com o extrato de gengibre em óleo de soja também foi avaliado, com o objetivo de diminuir, ou até mesmo substituir sua aplicação por um produto natural comprovadamente benéfico para a saúde.

## 2. OBJETIVOS

Com base nas considerações acima, apontam-se os seguintes objetivos específicos deste trabalho:

- Determinar a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos totais do extrato etanólico de gengibre;
- Verificar o comportamento antioxidante do extrato etanólico de gengibre adicionado ao óleo de soja, submetido ao teste acelerado em estufa e à termoxidação;
- Avaliar o efeito isolado e sinérgico do extrato de gengibre com o TBHQ, adicionados ao óleo de soja, nas diferentes condições de aquecimento.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1. Óleos e gorduras – definição e características

Os óleos e gorduras são muito importantes no processamento de alimentos como batatas fritas, molhos, e uma infinita variedade de pães e sobremesas. Alimentos processados como produtos lácteos, margarinas, *snacks*, produtos pré-fritos, creme de amendoim, biscoitos, dentre outros, também contêm quantidades consideráveis de óleos e gorduras (LAWSON, 1994).

Os lipídios constituem a alimentação humana, pois possuem importantes funções nutritivas, fornecendo cerca de 9 kcal/g, isto é, um pouco mais que o dobro do fornecido por carboidratos e proteínas. São também transportadores de algumas vitaminas, como A, D, E, e K, chamadas lipossolúveis, e pró-vitaminas, como os carotenos, ácido linoléico (C18:2 $\omega$ -6) e ácido linolênico (C18:3 $\omega$ -3), que são considerados essenciais para o ser humano (KRUMMEL, 1998).

As gorduras conferem sabor agradável aos alimentos, contribuem para incrementar seu *flavor*, e, assim como ocorre com as diversas especiarias, possuem alta capacidade de reter aromas, possibilitando receitas culinárias e formas de cozimento muito apreciadas, como as frituras, que proporcionam aos alimentos submetidos a este processo, textura, aroma e sabor particulares (SALINAS, 2002).

Devido à tecnologia de alimentos foi possível aumentar o número de alimentos gordurosos disponíveis para o consumo, como os diversos tipos de margarinas, *shortenings*, gorduras para fritura, etc. (SALINAS, 2002).

##### 3.1.1. Composição química

Os ácidos graxos, unidades fundamentais da maioria dos lipídios, são ácidos orgânicos, possuindo de 4 a 24 átomos de carbono. Podem ser de cadeias curtas (4 a 6 átomos de carbono), médias (8 a 12 átomos) e longas (mais de 12 carbonos).

Além do tamanho da cadeia de carbono, os ácidos graxos se diferenciam pelo número e pela posição das duplas ligações (KRUMMEL, 1998).

Os ácidos graxos são classificados como saturados, mono e poliinsaturados, dependendo do número de duplas ligações em sua cadeia de carbonos. Os saturados não contêm dupla ligação entre os átomos de carbono, os monoinsaturados contêm uma única dupla ligação e os poliinsaturados possuem duas ou mais duplas ligações (GUNSTONE, 1996). A Figura 1 ilustra a estrutura química dos ácidos graxos mono e poliinsaturado.

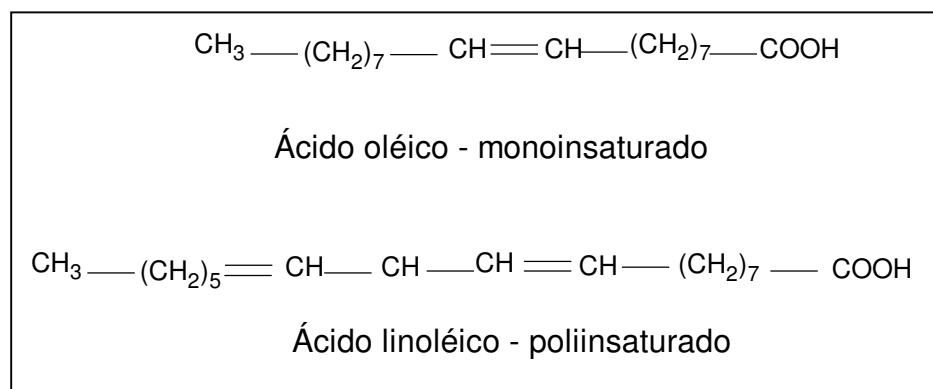


Figura 1. Estrutura química dos ácidos graxos mono e poliinsaturado.

Nos óleos e gorduras naturais, os ácidos graxos insaturados têm, geralmente, as ligações duplas na forma cis. A ligação trans, uma forma de isomeria geométrica da ligação cis, aparece em pequenas quantidades nos ácidos graxos dos óleos e gorduras vegetais, em quantidades relativamente maiores em óleos e gorduras de origem animal e, em grandes quantidades, em gorduras modificadas pelo processo de hidrogenação (Figura 2) (SONNTAG, 1979).

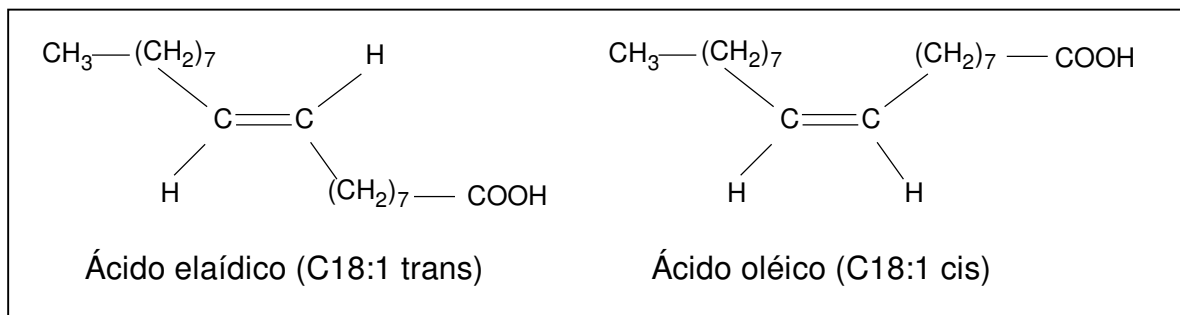


Figura 2. Estrutura química dos ácidos graxos com ligações cis e trans.

Para a formação da molécula de lipídio simples, é necessário que os ácidos graxos estejam esterificados a uma molécula de glicerol (Figura 3).

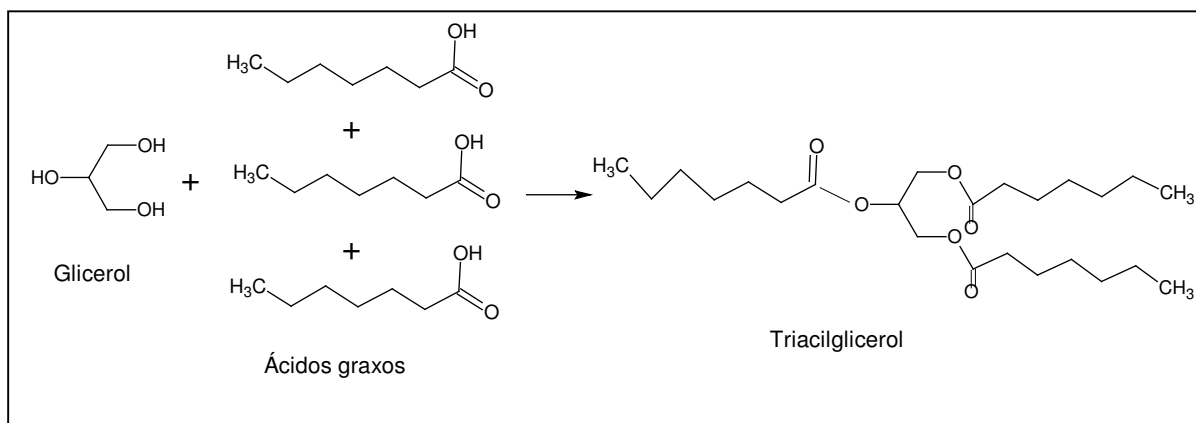


Figura 3. Formação da molécula de triacilglicerol.

Quando uma molécula de glicerol é esterificada a uma molécula de ácido graxo, tem-se o composto chamado monoacilglicerol. Esta molécula de glicerol pode ainda formar di e triacilgliceróis, pela esterificação com duas ou três moléculas de ácido graxo, sucessivamente. Assim, a partir dessa ligação é possível formar os mono, di ou triacilgliceróis, compostos que são os lipídios mais abundantes na natureza, além de serem responsáveis pelo transporte e armazenamento de ácidos graxos no organismo humano (GUNSTONE, 1996).

Os óleos e gorduras comestíveis são misturas de triacilgliceróis e numerosos componentes minoritários, como esteróis, tocoferóis, ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis, pigmentos naturais, fosfatídios e traços de metais. Vale também ressaltar que a composição química e as propriedades físicas de um óleo podem ser influenciadas pelas condições de cultivo e práticas agrícolas (WAN, 1995).

### 3.1.2. Óleo de soja

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o óleo de soja refinado, objeto de interesse desta pesquisa, deve apresentar aspecto límpido e estar isento de impurezas a 25°C, deve possuir cor, odor e sabor característicos (BRASIL, 1999). Suas propriedades físicas e químicas apresentam-se a seguir, na Tabela 1.

Tabela 1. Características físicas e químicas do óleo de soja.

Densidade relativa	0,919 – 0,925 (20°C/20°C) 0,914 – 0,922 (25°C/25°C)
Índice de refração ( $n_D^{40}$ )	1,466 – 1,470
Índice de saponificação (mg KOH/g)	189 – 195
Índice de iodo (Wijs)	120 – 143
Matéria insaponificável (g/100 g)	máximo 1,5
Acidez (g ácido oléico/100 g)	
óleo refinado	máximo 0,3
óleo semi-refinado	máximo 0,5
óleo degomado	máximo 1,0
óleo bruto	máximo 2,0
Índice de peróxido (meq/kg)	máximo 10
Fósforo (g/100 g) – óleo degomado	máximo 0,02

Fonte: BRASIL, 1999.

O Brasil é responsável por cerca de 22% da produção mundial de soja. É o segundo maior produtor e exportador mundial de soja em grão, farelo e óleo. O complexo de soja é um dos itens principais da Balança Comercial Brasileira, representando mais de nove milhões de dólares em exportações em 2005 (ABIOVE, 2007).

Com respeito às propriedades da soja, seu grão possui, aproximadamente, 40% de proteínas, 20% de lipídios, 17% de celulose e hemicelulose, 7% de açúcares, 6% de cinzas e 5% de fibra bruta (SIPOS; SZUHAJ, 1996).

A composição em ácidos graxos do óleo de soja é bem diversificada, mas deve-se ressaltar que é rico em ácidos graxos mono e poliinsaturados, como o oléico e linoléico, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Composição de ácidos graxos do óleo de soja.

Ácido graxo	Nomenclatura	g/100 g
C <14	–	< 0,1
C 14:0	mirístico	< 0,5
C 16:0	palmítico	7,0 – 14,0
C 16:1	palmitoléico	< 0,5
C 18:0	esteárico	1,4 – 5,5
C 18:1	oléico	19,0 – 30,0
C 18:2	linoléico	44,0 – 62,0
C 18:3	linolênico	4,0 – 11,0
C 20:0	araquídico	< 1,0
C 20:1	eicosenóico	< 1,0
C 22:0	behênico	< 0,5

Fonte: BRASIL, 1999.

### 3.2. Fritura

A fritura por imersão é definida como a cocção do alimento em óleo aquecido, envolvendo transferência de calor e massa, o que compreende uma complexa reação entre o alimento e o meio de fritura. Existem dois tipos de fritura por imersão, a contínua e a descontínua. No processo de fritura contínua, a fritadeira permanece ligada por um longo período, e o aquecimento do óleo é permanente, enquanto na fritura descontínua, o aquecimento do óleo é fracionado, pois a fritadeira é ligada apenas para um rápido momento de utilização e desligada constantemente. A fritura contínua é normalmente utilizada pelo mercado industrial de *snacks* extrusados, massas fritas, pré-fritura e fritura de batatas, já a fritura descontínua é utilizada, principalmente, pelo mercado institucional, que compreende as redes de *fast food*, restaurantes, lanchonetes, cantinas escolares e pastelarias (SANÍBAL; MANCINI-FILHO, 2002).

Durante o processo de fritura o óleo se incorpora ao alimento, modificando suas propriedades nutricionais e sensoriais, atuando também como meio de

transferência de calor reutilizável, muito mais eficiente que o forneamento e muito mais rápido que o cozimento em água (BLUMENTHAL, 1991).

O processo apresenta como característica básica a utilização de temperaturas elevadas (160–180°C), capaz de transferir calor em pouco tempo de cocção. A temperatura interna do produto, exceto a da crosta, não excede 100°C e há perda mínima de compostos solúveis em água (SAGUY; DANA, 2003).

Quanto ao tipo de óleo utilizado para a fritura, recomenda-se o emprego de óleos com predominância de ácidos graxos monoinsaturados, anidridos, com excelentes características sensoriais e que possuam elevado ponto de fumaça (MEHTA; SWINBURN, 2001). Devem possuir também baixo teor de ácidos graxos poliinsaturados, uma vez que estes são os principais responsáveis pelo processo oxidativo (GUTIÉRREZ, 1998).

Diversos fatores influenciam a qualidade do meio de fritura, alterando a estabilidade do óleo empregado. Estes fatores podem ser a exposição ao oxigênio, a contaminação do óleo com resíduos provenientes de alimentos fritos e a presença de metais, contaminantes que aceleram a oxidação lipídica (ALMEIDA et al., 2006). A partir daí pode ocorrer o início de uma grande diversidade de reações químicas, tais como: hidrólise, oxidação e polimerização da molécula do triacilglicerol. Além disso, os ácidos graxos insaturados são mais sensíveis à oxidação do que os saturados (TAKEOKA; FULL; DAO, 1997).

Porém, há dois fatores benéficos quanto à manutenção da qualidade dos óleos e gorduras durante o processo de fritura. O primeiro é o vapor formado a partir da umidade do alimento que elimina subprodutos do processo de oxidação, através do processo de ebulição e conseqüente eliminação de vapor, e o segundo é a reposição de óleo ou gordura durante o processo de fritura, os quais diluem os subprodutos do processo de oxidação (SANÍBAL; MANCINI-FILHO, 2002).

### 3.2.1. Alterações em óleos e gorduras de fritura

Nos últimos anos houve aumento no interesse sobre os efeitos fisiológicos produzidos pelos compostos oriundos das reações oxidativas, ficando evidente que quanto mais elevado e prolongado o aquecimento, e quanto mais insaturados os



respectivos ácidos graxos componentes destes óleos, maiores os efeitos deletérios à saúde do consumidor (MÁRQUEZ-RUIZ; PÉREZ-CAMINO; DOBARGANES, 1990; PAUL; MITTAL, 1997).

No processo de fritura, os triacilgliceróis presentes em óleos são hidrolisados formando ácidos graxos livres, glicerol, mono e diacilgliceróis. Estes compostos vão se acumulando no óleo depois de repetidas frituras. Neste processo, pode ocorrer também a oxidação lipídica, provocando a degradação dos triacilgliceróis, o que resulta na formação de peróxidos, moléculas instáveis e compostos polares (polímeros, dímeros, triacilgliceróis oxidados, diacilgliceróis e ácidos graxos livres). Além disso, o glicerol pode decompor-se, perdendo as moléculas de água e formando acroleína. A acroleína, volátil a altas temperaturas, é um aldeído cujo odor apresenta ação irritante para as membranas mucosas do nariz, garganta e tecido macular (ALMEIDA et al., 2006).

Durante o processo de fritura, óleos e gorduras estão expostos à ação de alguns agentes que contribuem para diminuir a qualidade e modificar sua estrutura. Tais reações são extremamente complexas, podendo levar à formação de numerosos produtos de polimerização (ANS; MATTOS; JORGE, 1999; MEHTA; SWINBURN, 2001). Relacionam-se abaixo essas reações:

- *Alteração hidrolítica*

A umidade proveniente do alimento, na forma de vapor, pode interagir com a gordura quente, contribuindo para sua degradação durante o processo de fritura. Os triacilgliceróis, em contato com o vapor produzido, se decompõem em diacilgliceróis e monoacilgliceróis, liberando uma ou duas cadeias de ácidos graxos (DOBARGANES; PÉREZ-CAMINO; MÁRQUEZ-RUIZ, 1988).

As maiores alterações ocorrem quando existe umidade no início do aquecimento do óleo ou durante o resfriamento, já que, durante a fritura, às temperaturas de 180-185°C, este processo tem pouca relevância, pois a umidade é eliminada em forma de vapor. O resultado da hidrólise é o aparecimento de ácidos graxos livres, que podem produzir aromas desagradáveis, além da formação de fumaça (MONFERRER; VILLALTA, 1993).

- *Alteração térmica*

A alteração térmica resulta na polimerização de óleos e gorduras submetidos ao processo de fritura. Neste mecanismo complexo, moléculas de polímeros com

alto peso molecular são formadas através de ligações carbono-carbono e/ou carbono-oxigênio-carbono, envolvendo vários ácidos graxos (NAWAR, 2000).

Os radicais livres podem combinar-se entre si ou com outros ácidos graxos para formar compostos lineares mais ou menos longos e ramificados, ou compostos cíclicos, especialmente no caso em que existam duplas ligações que podem formar isômeros. Esses polímeros, por serem de maior tamanho e peso molecular, tendem a aumentar a viscosidade do óleo, favorecendo a formação de espumas e, portanto, a oxidação. Os polímeros tendem a se formar na superfície do óleo e a se depositar nas laterais da fritadeira, formando uma película muito aderente de consistência plástica (MONFERRER; VILLALTA, 1993).

A formação de monômeros cíclicos envolve uma molécula, enquanto a polimerização envolve duas ou mais moléculas. Então, as condições que favorecem a formação de um destes produtos normalmente não favorecem a formação do outro. Mudanças na configuração são necessárias na ciclização para formar monômeros cíclicos por condensação intramolecular. Como resultado, alta energia térmica é necessária para a formação destes compostos. Normalmente, grande quantidade de monômeros cíclicos é formada no óleo com alto teor de ácido linolênico (WARNER, 2002).

Os dímeros são formados na primeira etapa da polimerização. Nas polimerizações subseqüentes, são formadas moléculas de alto peso molecular (PAUL; MITTAL, 1997).

- *Alteração oxidativa*

Esta reação é desencadeada pela presença do oxigênio atmosférico que, em contato com o óleo aquecido, induz a uma série de reações que levam à formação de compostos como radicais livres, hidroperóxidos e ácidos dienóicos conjugados. As reações químicas que ocorrem durante o processo oxidativo também contribuem para a formação de produtos de decomposição (WARNER, 2002). Estas reações de oxidação ocorrem mais facilmente nos lipídios insaturados e, como consequência de tal alteração, odores desagradáveis podem ser produzidos nos óleos vegetais (LIMA; GONÇALVES, 1995).

O processo de autooxidação lipídica pode ser dividido em três etapas distintas, originando produtos de degradação, que alteram as características físico-químicas e sensoriais do óleo aquecido. Esta seqüência de reações pode ser assim resumida:

- a) *Iniciação*. Nesta fase, formam-se os radicais livres ( $\text{ROO}^\bullet$  e  $\text{R}^\bullet$ ), devido à perda de um átomo de hidrogênio do grupo metileno adjacente à dupla ligação, seja a partir de um hidroperóxido ( $\text{ROOH}$ ), favorecido pela alta temperatura e luz, ou a partir de um ácido graxo ( $\text{RH}$ ), devido à presença de metais (ORDÓÑEZ et al., 2005);
- b) *Propagação*. Os radicais livres, suscetíveis ao ataque do oxigênio atmosférico ( $\text{O}_2$ ), são convertidos em radicais peróxidos ( $\text{ROO}^\bullet$ ) que, ao receberem um átomo de hidrogênio de outro ácido graxo insaturado ( $\text{RH}$ ), formam hidroperóxidos ( $\text{ROOH}$ ) e radicais livres ( $\text{ROO}^\bullet$  e  $\text{R}^\bullet$ ) que, por sua vez, contribuem para a reação em cadeia. Em decorrência da estabilização por ressonância de espécies radicais, a seqüência de reação pode ser acompanhada pela mudança na posição da dupla ligação, dando origem a isômeros de hidroperóxidos que freqüentemente contêm grupos dienos conjugados. Os hidroperóxidos formados são instáveis, podendo se decompor em compostos intermediários (peroxila e hidroxila), responsáveis pela formação de aldeídos, álcoois, cetonas e ácidos (TOLEDO; ESTEVES; HARTMANN, 1985);
- c) *Término*. A redução da quantidade de ácido graxo presente no sistema provoca a formação de produtos estáveis ( $\text{ROOR}$  ou  $\text{RR}$ ), resultantes da combinação de duas moléculas de radicais livres; estes são os produtos secundários da oxidação (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis) (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

A Tabela 3 apresenta a síntese das principais alterações que ocorrem em óleos e gorduras de fritura e os principais produtos formados em cada etapa da oxidação lipídica.

Tabela 3. Principais alterações em óleos de fritura.

Tipo de alteração lipídica	Descrição	Principais compostos formados e alterações físico-químicas
Hidrólise	Decomposição das moléculas de triacilglicerol em glicerol e ácido graxo	Diacilgliceróis, monoacilgliceróis, ácidos graxos, gliceróis; Diminuição do ponto de fumaça
Oxidação	Alteração no sabor, aroma, cor e valor nutricional; Formação de compostos tóxicos à saúde	
Primária	Reação do oxigênio com o óleo a altas temperaturas	Formação de hidroperóxidos e dienos conjugados
Secundária	Fissão dos hidroperóxidos a altas temperaturas	Formação de álcoois, ácidos carboxílicos ácidos graxos livres, compostos polares e $\alpha$ -anisidina
Terciária	Polimerização dos produtos da oxidação secundária	Formação de polímeros; aumento da viscosidade; Escurecimento
Polimerização térmica	Polimerização	Formação de polímeros

Fonte: NAWAR, 2000.

### 3.2.2. Alterações nutricionais causadas por óleos e gorduras de fritura

Os lipídios nos alimentos estão sujeitos a uma série de reações que podem levar a modificações na sua estrutura, devido à oxidação lipídica, afetando o valor nutricional e também os padrões de qualidade, como cor, odor, sabor e textura. (DONNELLY; ROBINSON, 1995; HSIEH; KINSELLA, 1989). Estas alterações deteriorativas podem ocorrer durante o processamento, distribuição e armazenamento dos alimentos, tornando-os impróprios para o consumo (ARUOMA, 1993; FRANKEL, 1980; KUBOW, 1993; NAWAR, 2000).

Os ácidos graxos insaturados são as estruturas mais suscetíveis ao processo oxidativo, havendo uma dependência direta entre o grau de insaturação e a susceptibilidade à oxidação (COSGROVE; CHURCH; PRYOR, 1987).

As reações de oxidação de gorduras no organismo humano podem ser associadas a diversos estados patológicos e doenças (KEHRER, 1993). Além disso, a ingestão de alimentos que contêm produtos da oxidação lipídica também representa risco toxicológico crônico ao ser humano (KUBOW, 1992).

São diversas as conseqüências nutricionais da oxidação lipídica: destruição parcial dos ácidos graxos insaturados essenciais linoléico e linolênico; formação de produtos secundários da oxidação lipídica (malonaldeído e outros compostos) e compostos resultantes da reação de Maillard, capazes de reagir com biomoléculas (especialmente proteínas), diminuindo a absorção destas; irritação da mucosa intestinal por peróxidos, podendo provocar diarreia e diminuir a capacidade de absorção; e formação de lipídios oxidados que são antagonistas de diversos nutrientes, como tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, vitamina B<sub>12</sub>, tocoferóis, vitamina A, proteínas, lisina e aminoácidos sulfurados (FERRARI, 1998).

Quanto aos peróxidos, comprovou-se que afetam a atividade de diversas enzimas, alteram as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) que estão envolvidas no desenvolvimento de lesões arterioscleróticas e interagem com o DNA, funcionando como promotores da carcinogênese. Acredita-se que a oxidação das LDL seja a principal causa de doenças cardiovasculares e a decomposição de peróxidos formados pela ação da lipoxigenase pode ser o mecanismo inicial da oxidação da LDL (ARAÚJO, 1999).

Outra conseqüência da oxidação lipídica em óleos de fritura é a formação de ácidos graxos trans, que também afetam diretamente as lipoproteínas séricas e aumentam o risco de doenças cardiovasculares (WILLETT; ASCHERIO, 1994).

O uso contínuo de óleos de fritura pode aumentar a concentração de ácidos graxos trans devido à troca de ácidos graxos que ocorre entre o alimento frito e o óleo (ARO et al., 1998).

Em relação às deficiências nutricionais, a oxidação lipídica está envolvida na patogenia da desnutrição (SLATER et al., 1987) e nas patogenias de deficiências vitamínicas (A, C, E) e de minerais (Cu, Se, Zn, etc.) (CHEW, 1993; DELMAS-BEAUVIEUX et al., 1996). As deficiências nutricionais elevam o risco de infecções, assim como as infecções elevam o risco de deficiências nutricionais.

Com a oxidação de lipídios, são formados diversos compostos oxidados e outras substâncias potencialmente tóxicas. Assim, a ingestão oral de produtos de baixo peso molecular derivados da autooxidação de óleos provoca degeneração de

tecidos linfóides, caracterizada por focos de necrose no timo e nas placas de Peyer (OARADA et al., 1988).

Em diversos estudos sobre a oxidação lipídica tem sido enfatizada a enorme relevância, em termos toxicológicos, de compostos carbonila de baixo peso molecular, especialmente aldeídos, como o malonaldeído, a acroleína e outros (ESTERBAUER, 1993; KUBOW, 1992). Estes diversos aldeídos, especialmente o malonaldeído, são capazes de combinar-se com as mais diversas moléculas dentro do organismo, provocando modificações de proteínas, lipídios, carboidratos e outras reações, que resultam na lesão do material genético e mutações, propriedades que as espécies reativas de oxigênio também possuem (ESTERBAUER, 1993; KUBOW, 1992; LINDSAY, 1996).

### 3.3. Termoxidação

Existe uma diversidade de estudos sobre os compostos originados durante o aquecimento de óleos em ausência de alimento. A principal razão de escolher esse tipo de procedimento deve-se à sua similaridade com o processo de fritura, visto que os compostos formados são representativos dos originados durante a fritura comum, porém, sem a interferência do alimento.

Este procedimento pode ser avaliado, quanto à formação de compostos oxidativos, devido à formação dos ácidos graxos livres, dienos conjugados, compostos polares, viscosidade, ponto de fumaça, cor, índice de refração, estabilidade oxidativa, índice de iodo, índice de peróxidos e vários outros compostos. Entretanto, a determinação dos compostos polares totais em gorduras de fritura é a mais indicada para mensurar com maior confiabilidade o grau de deterioração de óleos (TYAGI et al., 1996).

A oxidação na ausência de alimento também é utilizada para estudar a eficiência de antioxidantes contra a formação dos compostos degradativos, prejudiciais à saúde humana. Yanishlieva et al. (1997) estudaram o comportamento antioxidante do extrato etanólico de segurelha-dos-jardins em óleo de girassol, sob termoxidação a 180°C e observaram que houve proteção contra a formação de compostos oxidados por mais de 50 horas de aquecimento nessas condições.

Shyamala et al. (2005) também utilizaram termo oxidação a 180°C de extratos etanólicos de folhas de vegetais em óleo de girassol para avaliar a capacidade antioxidante e a proteção contra os processos oxidativos, simulando, da mesma forma, o processo de fritura por imersão.

#### 3.4. Teste acelerado em estufa

Os métodos de determinação da estabilidade oxidativa surgiram numa tentativa de prever a vida-de-prateleira de óleos e gorduras, pois o acompanhamento das alterações ocorridas nestes produtos, nas condições de armazenamento, é lento e pode consumir grande quantidade de reagentes (GORDON, 2001). A dificuldade, porém, está em se trabalhar com temperaturas que possibilitem correlações com o comportamento ao ambiente.

A estabilidade de óleos adicionados de antioxidantes pode ser avaliada pela sua estocagem em condições normais de armazenamento e em condições aceleradas, nas quais análises periódicas são realizadas para acompanhar alterações químicas, físicas ou sensoriais. Além disso, pode-se mensurar alterações primárias e secundárias; contudo, não há um padrão para detectar alterações oxidativas em todos os tipos de alimentos. Os métodos mais utilizados são o Método do Oxigênio Ativo (AOM) e o teste em estufa (“Schaal Oven Test”) (DUTTON, 1978; FARIA, 1994).

Para se avaliar a estabilidade oxidativa ou a sua susceptibilidade à oxidação, o óleo ou gordura é submetido ao teste de oxidação acelerada, sob condições padronizadas, em que um ponto final é escolhido, estado em que se observam sinais de deterioração oxidativa. Para acelerar a oxidação, os testes incluem elevação de temperatura, adição de metais, aumento da pressão de oxigênio, estocagem sob luz e agitação. Porém, o aquecimento é o meio mais utilizado e eficiente (FRANKEL, 1993; WAN, 1995).

Alguns dos métodos de avaliação da estabilidade oxidativa monitoram as alterações ocorridas na amostra mediante análises como: índice de peróxidos, análise sensorial, determinação de dienos conjugados, análise de voláteis, entre outros (DROZDOWSKI; SZUKALSKA, 1987). A partir destes resultados obtém-se

como parâmetro o período de indução, que é definido como o tempo para se atingir o nível de rancidez detectável ou mudança surpreendente na taxa de oxidação (DROZDOWSKI; SKUKALSKA, 1987; FRANKEL, 1993; GARCIA-MESA; LUQUE DE CASTRO; VALCARCEL, 1993; GUTIÉRREZ-ROSALES, 1989; LAUBLI; BRUTTEL, 1986).

No método de estufa, 50 a 100 gramas de óleo são mantidos a 60–70°C em estufa termostaticada até o aparecimento dos primeiros sinais de oxidação. As amostras são examinadas em intervalos de tempo regulares, avaliando-se o estado de oxidação do produto sensorialmente ou, de modo alternativo, pela determinação do índice de peróxidos. Ao detectar sensorialmente o primeiro sinal de rancidez ou mudança no índice de peróxidos determina-se o período de indução, medido em dias ou horas (ANTONIASSI, 2001).

Para Frankel (1993), o método de estufa apresenta menores limitações que outros métodos acelerados e o ponto final representa o maior grau de oxidação da amostra. Considera também que o resultado apresenta correlação com o ensaio de vida-de-prateleira. Entretanto, Warner, Frankel e Mounts (1989) observaram que não existe padronização para o teste de estufa. São empregados recipientes diferentes, o que implicaria em diferentes áreas de exposição ao ar, além de diferenças na avaliação sensorial, dependendo da equipe ou dos atributos utilizados.

Malcolmson et al. (1994) obtiveram diversos resultados para o óleo de canola submetido ao teste acelerado em estufa a 60°C, encontrando períodos de indução em torno de 2 a 4 dias, através da avaliação sensorial. O óleo de canola estocado a 24°C, em embalagens de vidro e no escuro, permaneceu sem alterações sensoriais por 16 semanas. Extrapolando os resultados, os autores consideraram que o óleo de canola, com estabilidade de 2 a 4 dias, no teste acelerado em estufa a 60–65°C, pode ser aceitável por pelo menos 16 semanas, quando estocado em temperatura ambiente.

Segundo Wan (1995), o teste de estocagem acelerada em estufa possui vantagens e desvantagens. Ele pode trazer uma solução para o problema da estabilidade de óleos, pois não utiliza equipamentos de laboratório quando a avaliação sensorial é utilizada para definir o ponto final da oxidação. Entretanto, o teste requer uma grande quantidade de amostra e necessita de um longo período de tempo (4–8 dias) para ser concluído. Conseqüentemente, embora os dados possam



ser correlacionados com a vida-de-prateleira do óleo, o uso desta metodologia como um teste de rotina é raro, a menos que painelistas estejam disponíveis.

### 3.5. Antioxidantes

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias que, em concentração consideravelmente menor que a do substrato oxidável, retardam a rancidez oxidativa, diminuindo a velocidade da reação ou prolongando o seu período de indução (HALLIWELL et al., 1995).

Considera-se como antioxidantes certas substâncias presentes de forma natural ou adicionadas intencionalmente às gorduras ou aos alimentos para retardar o aparecimento dos fenômenos de oxidação, mantendo intactas suas características sensoriais (ORDÓÑEZ et al., 2005).

O emprego de antioxidantes em formulações é muitas vezes empírico, de tal modo que a garantia da sua eficácia nem sempre existe (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Os antioxidantes adicionados aos alimentos devem cumprir uma série de requisitos: não causar efeitos fisiológicos negativos; não produzir cores, odores nem sabores anômalos; serem eficazes em altas temperaturas, lipossolúveis e resistentes aos tratamentos a que seja submetido o alimento; além disso, devem ser de fácil obtenção, ativos em baixas concentrações e econômicos (ORDÓÑEZ et al., 2005).

#### 3.5.1. Mecanismo de ação

Durante a oxidação de ácidos graxos insaturados, via mecanismo de formação de radicais livres, os hidroperóxidos são os primeiros produtos formados, os quais se degradam, liberando novos radicais livres e promovendo a continuidade da oxidação do óleo e/ou gordura, além da formação de diferentes aldeídos voláteis (ARAÚJO, 1999).

O antioxidante (AH) funciona removendo os radicais livres ( $R^\bullet$  ou  $ROO^\bullet$ ) tão logo estes sejam formados; portanto, só são eficientes quando a concentração do  $ROO^\bullet$  é baixa, principalmente na fase inicial da oxidação. Quando os radicais livres estão presentes em concentrações elevadas, o antioxidante é rapidamente decomposto (YANISHLIEVA-MASLAROVA, 2001).

Para ser efetivo, o antioxidante tem de competir com o substrato (lipídio insaturado), normalmente presente em concentrações elevadas.

A constituição molecular do antioxidante necessita ser mais do que a de um doador de hidrogênio. É necessário também que o radical formado possua baixa reatividade para não provocar reações adicionais com os lipídios. A eficiência dos antioxidantes fenólicos, portanto, depende da estabilização (ressonância) dos radicais fenoxil, o que é determinado pelos grupos presentes no anel aromático e pelo seu comprimento (PRATT, 1996).

### 3.5.2. Classificação

Os antioxidantes podem ser classificados de acordo com seu mecanismo de ação como primários ou secundários. Alguns antioxidantes exibem mais de um mecanismo de ação ou atividade e, devido a isso, podem ser considerados como antioxidantes de múltipla função (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002).

Os antioxidantes primários são substâncias capazes de interromper a cadeia de reações, cedendo um hidrogênio a um radical lipídico livre e assumindo a forma de radical (Figura 4). Como consequência, diminui o número de radicais livres, reduz-se a velocidade da oxidação e prolonga-se o período de indução. Os antioxidantes em forma de radical são estáveis e não reagem com os lipídios, mas sim com outras moléculas similares, formando produtos não-radicais (SIMIC; JAVANOVIC, 1994).

Os antioxidantes primários mais utilizados são os derivados *orto* e *para* dos compostos fenólicos, já que, devido à localização do elétron entre duas formas de ressonância, constituem radicais livres estáveis. Utilizam-se com mais frequência os ésteres do ácido gálico (galato de propila), terc-butilhidroquinona (TBHQ), butil-hidroxianisol (BHA) e butil-hidroxitolueno (BHT) (RIZNER-HRAS et al., 2000).

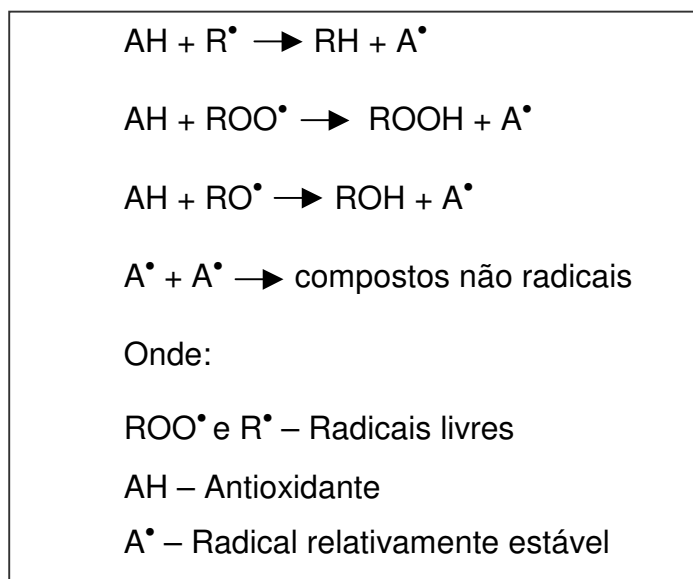


Figura 4. Mecanismo de ação dos antioxidantes primários.

Os antioxidantes secundários podem ser classificados como removedores de oxigênio e agentes complexantes. Além disso, alguns antioxidantes primários com baixa atividade antioxidante podem ser combinados, atuando como sinergistas, através de vários mecanismos. Podem atuar na regeneração do radical fenoxil, doando hidrogênio e, conseqüentemente, regenerando o antioxidante primário. Dessa forma, o antioxidante fenólico pode ser utilizado em baixas concentrações se o sinergista é simultaneamente adicionado ao alimento (ARAÚJO, 1999).

Os removedores de oxigênio, como o ácido ascórbico, palmitato de ascorbila, sulfito e eritorbatos, reagem com o oxigênio livre, removendo-o do sistema fechado, em situação na qual o oxigênio se encontra em quantidade limitada. O ácido ascórbico reage diretamente com o oxigênio, formando o deidroácido ascórbico, eliminando o suprimento do oxigênio disponível para a reação de autoxidação (PRATT, 1996).

Os agentes complexantes imobilizam íons metálicos, aumentando significativamente a energia de ativação das reações iniciais da autoxidação. A utilização de complexantes como ácido cítrico, EDTA (ácido etilenodiamino tetraacético) e derivados do ácido fosfórico prolongam a vida útil do alimento. Eles não são considerados antioxidantes, mas efetivos sinergistas tanto para os antioxidantes primários como para os removedores de oxigênio (REISCHE, LILLARD, EITENMILLER, 2002).

Alguns procedimentos físicos também podem atuar, protegendo os alimentos

da oxidação lipídica. Baseiam-se no controle do conteúdo em oxigênio, da umidade relativa e da temperatura. Para evitar o contato do alimento com o oxigênio, utilizam-se o acondicionamento a vácuo ou em atmosferas de nitrogênio, CO<sub>2</sub> ou misturas de gases inertes em material impermeável ao oxigênio. É importante evitar a ausência da água nos alimentos desidratados ou, pelo menos mantê-los em valores de  $a_w$  próximos a 0,2, uma vez que, nessa zona, a velocidade de oxidação é mais baixa. Finalmente, aconselha-se proteger os alimentos oxidáveis da luz, porque esta catalisa as reações de iniciação (ORDÓÑEZ et al., 2005).

### 3.5.3. Antioxidantes sintéticos

Os antioxidantes sintéticos mais comuns, utilizados na indústria de alimentos, são os compostos fenólicos, como o butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butilhidroquinona (TBHQ) e ésteres do ácido gálico, como o propil galato (PG) (Figura 5) (KIKUGAWA; KUNUGI; KURECHI, 1990).

O BHA é uma mistura de dois isômeros, 2-BHA e 3-BHA, contendo 90% do 3-isômero. É altamente solúvel em óleos e gorduras e insolúvel em água. Apesar de ser vaporizado à temperatura de frituras, o resíduo de BHA ainda confere proteção considerável aos produtos fritos e assados, como biscoitos, batata frita, amendoim torrado, dentre outros. Em alimentos com baixo teor de gordura, como os alimentos à base de cereais, purê de batata e misturas para bolos, o BHA é muito utilizado. Funciona sinergicamente com galatos, tocoferóis, BHT, TBHQ e ácido cítrico (PRATT, 1996).

O BHT possui propriedades similares ao BHA. Entretanto, ele não é tão efetivo como o BHA, em razão da presença de dois grupos butil, os quais conferem maior impedimento estérico que o BHA, além de ser vaporizado mais facilmente durante aquecimento. Pode ser utilizado sinergicamente com o BHA, TBHQ e ácido cítrico (COPPEN, 1994).

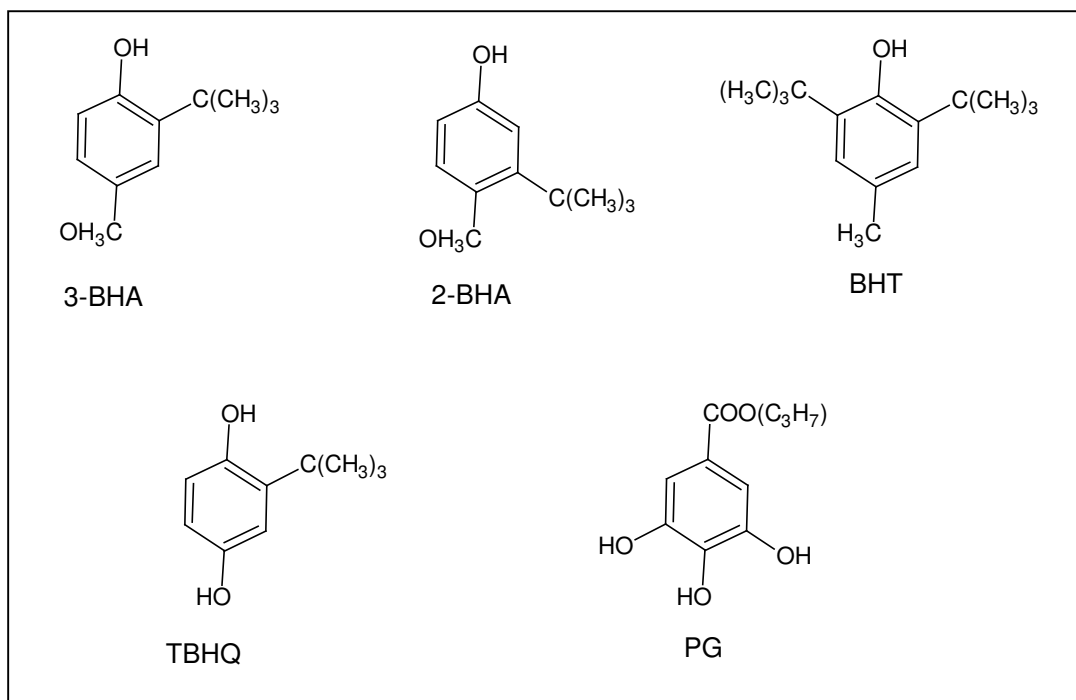


Figura 5. Estrutura química dos antioxidantes sintéticos mais comuns.

O TBHQ é muito efetivo na estabilização de óleos e gorduras, especialmente em óleos vegetais poliinsaturados bruto e refinado. Os dois grupos hidroxila na posição *para* são os responsáveis pela atividade antioxidante. É estável à temperatura elevada e menos volátil que o BHA e BHT, sendo considerado o melhor antioxidante para óleos de frituras. Funciona sinergisticamente com o PG, BHA, BHT, tocoferol, ácido cítrico e palmitato de ascorbila (BOSKOU, 1999).

Os galatos, utilizados como antioxidantes para alimentos, incluem os ésteres do ácido gálico (ácido 3,4,5-triidroxibenzoico): propila, octila e dodecila. Dos três, o galato de propila é o mais utilizado e eficiente. É menos solúvel em óleo e gordura que o BHA e BHT, além de apresentar significativa solubilidade em água. Atua sinergisticamente com BHA, tocoferóis e TBHQ (REISCHE, LILLARD, EITENMILLER, 2002).

Estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade desses antioxidantes apresentarem efeito carcinogênico em experimentos com animais (BOTTERWECK et al., 2000). Por esse motivo, o uso de antioxidantes sintéticos é restringido em alguns países, visto que existe a possibilidade de terem efeitos indesejáveis para a saúde humana (ALMEIDA-DORIA; REGITANO-D'ARCE, 2000; CUVELIER; BERSET; RICHARD, 1994).

No Brasil, o uso desses antioxidantes é controlado pelo Ministério da Saúde, que limita a 200 mg/kg para BHA e TBHQ, e 100 mg/kg para BHT como concentrações máximas permitidas (BRASIL, 2001).

#### 3.5.4. Antioxidantes naturais

Ervas e especiarias são utilizadas desde a pré-história, não somente para ressaltar as características sensoriais dos alimentos, mas também para preservá-los.

Os compostos bioativos, com propriedades antioxidantes ocorrem naturalmente nos alimentos, mas podem também ser provenientes de substâncias formadas durante o seu processamento. Os compostos fenólicos são antioxidantes naturais presentes em todas as partes dos vegetais e podem atuar como agentes redutores, quelantes de metais e seqüestradores de oxigênio singlete (SHAIJI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992).

Alguns exemplos de antioxidantes fenólicos presentes em vegetais são os flavonóides, derivados do ácido cinâmico, cumarinas e tocoferóis. Vários estudos têm sido realizados com a finalidade de isolar e identificar compostos fenólicos, provenientes de fontes naturais, que apresentam atividade antioxidante. Alguns destes compostos naturais têm sido extraídos de vegetais e produzidos comercialmente (SHAIJI; NACZK, 1995).

Dentre as fontes de antioxidantes naturais pode-se citar a manga, o abacate, o tamarindo e a jaca, que apresentam altas concentrações de compostos fenólicos, encontrados em maior quantidade nas sementes, quando comparadas às porções comestíveis (SOONG; BARLOW, 2004).

Além das sementes de frutas, ervas e especiarias, como o alecrim, a sálvia e o gengibre também podem ser considerados importantes fontes de antioxidantes naturais. Quando adicionados em óleo de palma refinado, branqueado e desodorizado (RDB), utilizado para a fritura de batata chips, extratos de alecrim e sálvia combinados com ácido cítrico foram capazes de minimizar a taxa de oxidação lipídica do óleo durante o processo de fritura descontínua, além de melhorar as características sensoriais do produto frito, tornando-o mais aceitável para o consumo (JASWIR; CHE-MAN; KITTS, 2000; SHOBANA; NAIDU, 2000).

### 3.5.5. Gengibre

O gengibre (*Zingiber officinale*), pertencente à família Zingiberaceae, é uma planta herbácea perene, cujo rizoma é amplamente comercializado em função de seu emprego alimentar e industrial, especialmente como matéria-prima para fabricação de bebidas, perfumes e produtos de confeitaria como pães, bolos, biscoitos e geléias (CORRÊA-JÚNIOR; MING; SCHEFFER, 1994; DAHLGREN; CLIFFORD; YEO, 1985; JOLY, 1985).

Nativo do sudeste da Ásia, o gengibre é cultivado em áreas tropicais como o Sul da Jamaica, China, Nigéria e Haiti. É uma das especiarias mais importantes da Índia (LANGNER; GREIFENBERG; GRUENWALD, 1998).

O gengibre fresco contém 80,9% de umidade, 2,3% de proteínas, 0,9% de gordura, 1,2% de minerais, 2,4% de fibras e 12,3% de carboidratos. Os minerais presentes no gengibre são ferro, cálcio e fósforo. Também contém vitaminas, como a tiamina, riboflavina, niacina e vitamina C. Sua composição varia com o tipo, variedade, condições de plantio, secagem e armazenamento (GOVINDARAJAN, 1982).

Esta especiaria é comumente utilizada devido ao seu aroma doce e sabor pungente. O rizoma de gengibre também é conhecido devido a sua atividade antioxidante. Estas características devem-se à presença dos gingeróis, gingerones e shogaóis. No gengibre fresco, os gingeróis são os maiores componentes ativos identificados, sendo que o 6-gingerol (5-hidroxi-3-metoxi fenil) é o constituinte mais abundante da série dos gingeróis (JITOE et al., 1992).

Em estudo realizado com rizomas de gengibre desidratado, a fração não-volátil do extrato de diclorometano foi obtida por separação de fases em cromatografia de coluna (CC). A avaliação dos compostos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) permitiu a identificação de mais de 30 compostos, 16 dos quais ainda não eram conhecidos. Estes compostos foram estruturalmente classificados como compostos relacionados ao gingerol, cuja atividade antioxidante foi verificada. Os compostos responsáveis por sua característica pungente (Figura 6), o gingerol, o shogaol e o gingerone, apresentaram maior atividade antioxidante (KIKUZAKI; NAKATANI, 1993; NAKATANI, 1997).

Em estudo realizado por Zancan et al. (2002), concluiu-se que a atividade

antioxidante da oleoresina de gengibre deve-se principalmente aos gingeróis e shogaóis, substâncias que conferem ao gengibre *in natura* seu sabor característico.

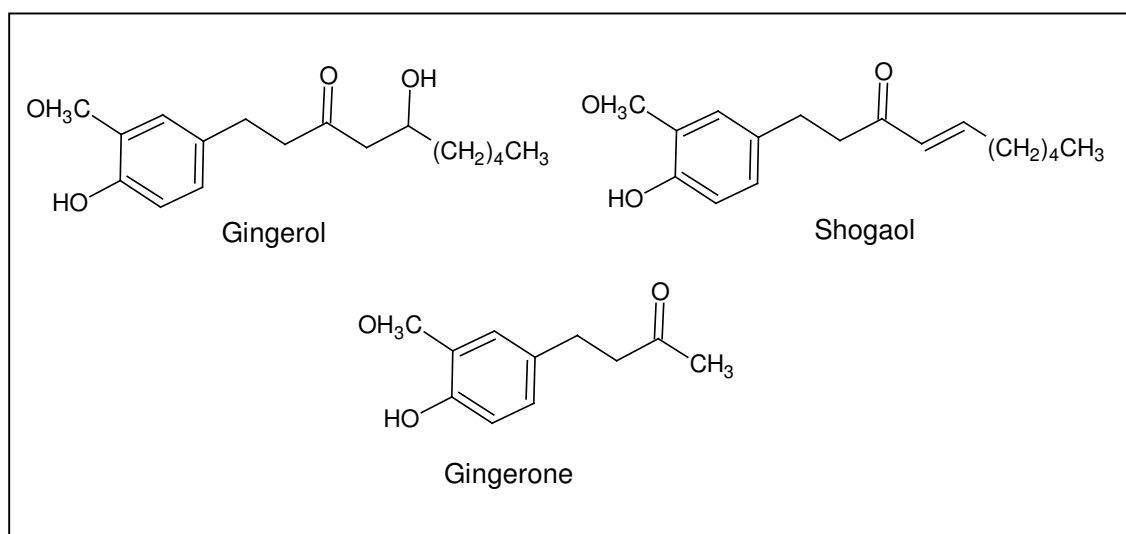


Figura 6. Principais componentes encontrados no gengibre.

Na Índia foi realizado um estudo utilizando-se diferentes especiarias como cebola, alho, hortelã, gengibre, cravo e canela. Constatou-se a presença de gingerol e hexahidrocurcumina em extrato aquoso e etanólico (1:1) como substâncias antioxidantes do gengibre (SHOBANA; NAIDU, 2000).

### 3.5.6. Aspectos nutricionais dos antioxidantes

Os antioxidantes fenólicos BHA, BHT, TBHQ e PG são os mais utilizados atualmente nas indústrias de alimentos. Existem limites máximos de ingestão, estabelecidos pela legislação de vários países, para cada tipo destes compostos, mas pesquisas demonstram que o consumo excessivo pode causar sérios danos à saúde (PRATT, 1996).

A utilização de antioxidantes sintéticos tem sido alvo de extensas discussões quanto à sua inocuidade. Este fato deve-se aos estudos que demonstram os efeitos adversos à saúde, causados pelos antioxidantes sintéticos, utilizados em alimentos (MELO; GUERRA, 2002; YILDRIM; MAVI; KARA, 2002; ZHENG; WANG, 2001).



Existem evidências de que os radicais livres induzem os danos oxidativos nas biomoléculas, afetando o sistema cardiovascular e favorecendo a manifestação de doenças como câncer, o envelhecimento precoce, as doenças inflamatórias, dentre outras (FINKEL; HOLBROOK, 2000; HALLIWELL; GUTTERIDGE; CROSS, 1992).

Jeong et al. (2005) estudaram o efeito da ingestão do BHA nas funções do sistema reprodutivo de camundongos machos e fêmeas. Foi demonstrado neste estudo que, em altas doses, o BHA provoca disfunções no sistema reprodutivo dos animais, alterações nos níveis hormonais e no tamanho dos órgãos sexuais, além de lesões histológicas na glândula tireóide.

Porém, quando ingeridos em níveis adequados, estes aditivos alimentares possuem ação anticarcinogênica, atuando como seqüestradores de radicais livres no metabolismo humano (WILLIAMS; IATROPOULOS; WHYSNER, 1999).

As espécies reativas de oxigênio incluem os radicais peróxido ( $O_2$ ), radicais hidroxila ( $OH^\cdot$ ), oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), e são geradas em reações de oxidação biológica, devido à presença de átomos de oxigênio (CERRUITTI, 1991; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990). Os antioxidantes são introduzidos na alimentação com o objetivo de minimizar a ação destes compostos reativos.

Os antioxidantes seqüestradores de radicais livres são conhecidos por possuírem ação preventiva e terapêutica, fato que incentiva as pesquisas relacionadas ao potencial antioxidante de plantas medicinais na indústria farmacêutica (NOGUCHI; NIKKI, 2000; VISIOLI; BORSANI; GALLI, 2000).

Na indústria de alimentos, a utilização de antioxidantes seqüestradores de radicais livres tem sido uma maneira efetiva de retardar a oxidação lipídica. Os antioxidantes sintéticos, como o BHA e o BHT, são mundialmente utilizados. Entretanto, a demanda por aditivos naturais tem aumentado, favorecendo a substituição dos aditivos sintéticos por alternativas naturais (BRANEN, 1975).

Os antioxidantes naturais utilizados atualmente, incluindo os tocoferóis, são menos efetivos que os sintéticos, tornando necessária a identificação de novos antioxidantes naturais como aditivos seguros e efetivos na indústria de alimentos (WANASUNDARA; SHAIDI, 1998).

Diante disso, faz-se necessária a identificação e purificação de novos compostos antioxidantes, provenientes de fontes naturais, que possam atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a

deterioração oxidativa de alimentos e substituir o uso dos antioxidantes sintéticos (MELO; GUERRA, 2002).

### 3.5.7. Extração de antioxidantes naturais

Para a identificação e isolamento de compostos bioativos em fontes naturais, como frutas, sementes, ervas e especiarias, é necessária a realização da extração, conduzida utilizando-se solventes com diferentes polaridades. Pesquisas enfocam o estudo destas extrações com o objetivo de comparar seus resultados e encontrar a melhor alternativa para a aplicação em alimentos.

#### 3.5.7.1. Extração com solventes orgânicos

A extração com solventes é freqüentemente utilizada para o isolamento dos compostos bioativos, permitindo a obtenção do rendimento da extração e a determinação da atividade antioxidante dos extratos, que são dependentes do tipo de solvente, devido às diferenças nos potenciais antioxidantes e à polaridade dos compostos (JULKUNEM-TIITO, 1985; MARINOVA; YANISHLIEVA, 1997).

Não existe nenhum sistema de extração com solventes que seja satisfatório para o isolamento de classes específicas de antioxidantes naturais. Tal fato deve-se à natureza química dos compostos, que pode ser polar ou apolar, à grande variedade de compostos bioativos, como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos, à variação na quantidade presente nos alimentos, além da possibilidade de interação dos fenólicos com carboidratos, proteínas e outros componentes (SHAIDI; NAGZK, 1995).

Etanol e água são os solventes mais empregados para a extração de antioxidantes por razões de higiene e abundância, respectivamente. Estudos comparativos são necessários para a seleção do solvente ótimo, pois a atividade antioxidante depende dos compostos polifenólicos, uma vez que a atividade

antioxidante máxima é exigida para se atingir uma melhor eficiência. Solventes como o acetato de etil, etanol e metanol, extraem compostos mais bioativos em sementes de tamarindo, apresentando atividade inibidora de peroxidação lipídica comparável com a do  $\alpha$ -tocoferol (MOURE et al., 2001).

O tempo de extração é também um fator que afeta consideravelmente a recuperação dos polifenóis. O período de extração deve variar de 1 minuto a 24 horas. No entanto, longos períodos de extração aumentam a possibilidade de oxidação dos fenólicos, a menos que agentes redutores sejam adicionados ao solvente do sistema (SHAIDI; NACZK, 1995).

A temperatura afeta a estabilidade dos compostos polifenólicos, durante a desidratação e extração, devido a degradações químicas e enzimáticas, volatilização dos compostos, ou decomposição térmica, que tem sido apontada como o maior mecanismo causador da redução no conteúdo de polifenóis. Na decomposição térmica, os fenóis podem reagir com outros componentes, impedindo sua extração (KIM et al., 2005).

A extração sob temperaturas brandas é desejável nos casos em que alguns compostos podem ser degradados, como por exemplo, o ácido carnósico, presente nos extratos de alecrim e, por esta razão, a extração com fluido supercrítico é utilizada, pois preserva a ação antioxidante dos extratos (IBÁÑEZ et al., 1999).

#### 3.5.7.2. Extração supercrítica

A extração com solventes é um método de separação fácil e conveniente que pode ser realizada em condições ambiente, mas deve-se levar em consideração os efeitos tóxicos causados por resíduos. A extração com fluidos supercríticos, por sua vez, é considerada desejável, pois não libera resíduos tóxicos de solventes no ambiente (JASWIR; CHE-MAN; KITTS, 2000).

Quando um fluido é submetido a pressão e temperatura acima de seu ponto crítico, ele torna-se um fluido supercrítico. Sob estas condições, várias propriedades dos fluidos são alteradas, tornando-se parecidas com as de alguns gases e líquidos. A densidade do fluido supercrítico é similar à dos líquidos, sua viscosidade é similar à dos gases e sua capacidade de difusão é intermediária entre os dois estados.

Portanto, o estado supercrítico de um fluido pode ser definido como um estado no qual líquido e gás são indistinguíveis entre si (HINNEBURG; DORMAN; HILTUNEN, 2005).

Devido à sua baixa viscosidade e alta capacidade de difusão, os fluidos supercríticos possuem propriedades de transporte melhores que as dos líquidos, podendo difundir-se facilmente através de materiais sólidos, resultando em melhores rendimentos nas extrações. O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é o fluido mais utilizado devido a sua moderada temperatura (31,3°C) e pressão crítica (72,9 atm), sendo gasoso em temperatura ambiente. Entretanto, o CO<sub>2</sub> supercrítico, devido a sua baixa polaridade, é menos efetivo na extração de compostos com maior polaridade, em fontes naturais, mas este fato é superado com a adição de modificadores, também conhecidos como co-solventes (DEL VALLE; AGUILLERA, 1999; RAVENTÓS; DUARTE; ALARCÓN, 2002).

As indústrias alimentícias, cosméticas e farmacêuticas têm interesse nesta tecnologia para a substituição dos processos de extração convencionais, como a extração com solventes orgânicos e a hidrodestilação para obtenção de óleos essenciais e oleoresinas. A extração supercrítica produz extratos livres de resíduos e pode ser conduzida em baixas temperaturas, preservando a qualidade de compostos termo-sensíveis (ZANCAN et al., 2002).

Luengthanaphol et al. (2004) investigaram o rendimento e a atividade antioxidante em extratos de sementes de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) extraídos com CO<sub>2</sub> supercrítico, e co-solvente etanol 10%, além da extração com os solventes etanol e acetato de etil. Concluíram que na extração com fluido supercrítico houve baixo rendimento, porém a adição do co-solvente melhorou significativamente a extração dos antioxidantes. A extração mais efetiva foi aquela em que utilizaram o etanol como solvente, na qual obtiveram menores valores no teste de peróxidos.

A extração de compostos antioxidantes em ervas e especiarias tem demonstrado maior eficiência quando submetidas à extração supercrítica, com CO<sub>2</sub>. O rendimento e a atividade antioxidante de extratos de alecrim demonstraram resultados mais satisfatórios nestas condições, quando comparados com extratos submetidos a hidrodestilação e extração com etanol e hexano (CARVALHO JÚNIOR et al., 2005).

Grigonis et al. (2005) estudaram a ação antioxidante de extratos de erva-doce americana, utilizando três tipos de extração; na primeira utilizaram aparelho Soxhlet,

na segunda, microondas e, na terceira, dióxido de carbono supercrítico, que foi considerado o método de extração mais eficiente com relação ao rendimento dos extratos e à concentração de compostos bioativos, além dos aspectos ambientais.

Em folhas de boldo, os extratos obtidos sob alta pressão com CO<sub>2</sub> supercrítico apresentaram menor atividade antioxidante que aqueles obtidos com água quente pressurizada, em temperatura de 110°C, e aqueles extraídos em aparelho Soxhlet com metanol (VALLE et al., 2005). Extratos de Aloe Vera (*Aloe barbadensis* Miller) obtidos com CO<sub>2</sub> supercrítico apresentaram menor atividade seqüestradora de radical livre que os extratos etanólicos, porém apresentaram maior atividade antioxidante que o  $\alpha$ -tocoferol e o BHT (HU; HUH; XU, 2005).

### 3.5.8. Identificação de antioxidantes naturais

Os antioxidantes são utilizados em uma grande variedade de alimentos e sua ação pode variar, dependendo das condições de temperatura, composição química do alimento e disponibilidade de oxigênio.

Existem diversos métodos utilizados para auxiliar na identificação de antioxidantes naturais, como o método TBA (valor do ácido tiobarbitúrico), a determinação dos compostos fenólicos totais, o sistema do  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico, a cromatografia líquida (HPLC), e os métodos de detecção de seqüestradores de radicais livres, como o 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) e o 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH).

No teste do DPPH, a ação do radical DPPH é acompanhada pelo monitoramento da diminuição da absorbância a 515 nm, que ocorre devido a sua reação com algum antioxidante ou com algum radical livre (R<sup>\*</sup>) (BRAND-WILLIAMS; CULIVER; BERSET, 1995).

A rápida reação do radical DPPH ocorre com alguns compostos fenólicos, como, por exemplo, o  $\alpha$ -tocoferol; porém, reações secundárias mais demoradas também podem causar uma diminuição progressiva na absorbância, mas a reação não permanece estável por muitas horas (GORDON, 2001).

Estudos nos quais o método DPPH tem sido utilizado demonstram a ação do

radical em um período de 15 a 30 minutos. Os resultados são expressos como EC<sub>50</sub>, que significa a concentração de antioxidante necessária para inibir 50% do radical DPPH em um determinado período de tempo (GORDON, 2001).

Inúmeros compostos naturais encontrados em frutas, cereais, vegetais e especiarias apresentam atividade antioxidante. Entre os mais importantes antioxidantes naturais estão os compostos fenólicos (flavonóides, ácidos fenólicos e taninos), compostos nitrogenados (alcalóides, aminoácidos, peptídios, aminas e derivados da clorofila), carotenóides, tocoferóis e ácido ascórbico (AMAROWICZ et al., 2004).

Os compostos fenólicos funcionam como seqüestradores de radicais livres e, algumas vezes, como quelantes de metais (SHAIJI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992), agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários, formados pela ação das substâncias antioxidantes, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentada pelos compostos fenólicos (NAWAR, 2000). Essas substâncias e alguns de seus derivados são, portanto, eficazes para prevenir a oxidação lipídica; entretanto, poucos são os permitidos para uso em alimentos, devido principalmente a sua toxicidade (SHAIJI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992).

Os antioxidantes fenólicos aplicados em alimentos pelas indústrias são os antioxidantes sintéticos BHA, BHT, TBHQ, PG, dentre outros. Porém, estudos estão centralizados nos compostos fenólicos de origem vegetal, pois eles agem como receptores de radicais livres, interrompendo a reação em cadeia provocada por estes, além de atuarem também nos processos oxidativos catalisados por metais, tanto *in vivo*, como *in vitro* (DONNELLY; ROBINSON, 1995; SOARES, 2002).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Material

#### 4.1.1. Óleo

Para a realização do experimento foi utilizado óleo de soja refinado (OSR), sem adição de antioxidantes sintéticos, em embalagens contendo 900 mL, adquiridos no comércio do município de Uberlândia-MG.

#### 4.1.2. Gengibre

Neste trabalho, utilizou-se aproximadamente 1 kg de rizomas de gengibre (*Zingiber officinale*) *in natura*, adquiridos no comércio local do município de São José do Rio Preto-SP. Os rizomas de gengibre *in natura* foram fatiados, colocados em bandejas de alumínio e desidratados em estufa com circulação de ar à temperatura de 55°C durante, aproximadamente, 24 horas. Após a desidratação, o material foi triturado em moinho de facas, até se transformar em pó fino. O gengibre em pó foi armazenado em embalagem de vidro tampada, inertizado com fluxo de nitrogênio e congelado a -18°C até o momento da utilização.

#### 4.1.3. Antioxidantes

O antioxidante sintético utilizado foi o TBHQ, apresentado na forma de pó, cedido pela empresa Danisco S/A.

O extrato etanólico de gengibre foi obtido de acordo com a metodologia descrita por Rehman, Salariya e Habib (2003). O gengibre desidratado (10 g) foi

mantido sob agitação permanente em etanol (100 mL), à temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) durante 12 horas e, em seguida, centrifugado a 3.000 rpm, por 10 minutos. Após a transferência do sobrenadante, o precipitado foi novamente submetido ao processo de extração nas mesmas condições anteriormente explicitadas, e os sobrenadantes resultantes de cada extração foram combinados. Em seguida, procedeu-se à remoção do solvente utilizado para a obtenção do extrato etanólico, sob pressão reduzida a  $40^\circ\text{C}$ , com o objetivo de determinar, por pesagem direta, o rendimento da extração. O extrato obtido foi então ressuspenso em etanol, obtendo-se uma solução-estoque, utilizada para aplicação direta no óleo de soja refinado, empregado nos Ensaios II e III.

Em estudos anteriores ficou comprovado que a extração dos compostos bioativos do gengibre é mais eficiente quando se utilizam solventes com polaridade intermediária (KAUR; KAPOOR, 2002; MANSOUR; KHALIL, 2000; NÓBREGA et al., 1997; REHMAN; SALARIYA; HABIB, 2003). E, devido a isso, o etanol foi selecionado para esta pesquisa. Além disso, sabe-se também que o etanol não é um solvente tóxico e os resíduos gerados pela extração não causam agressões ao meio ambiente.

#### 4.1.4. Reagentes e soluções

Etanol P. A., DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), reagente de Folin-Ciocalteu, ácido gálico P. A., carbonato de sódio 20%, solução de ácido acético/clorofórmio (3:2); solução saturada de iodeto de potássio; solução de tiosulfato de sódio 0,01 N; solução aquosa de amido 1%; solução de hexano/éter etílico (90:10) e iso-octano das marcas Vetec, Dinâmica, Synth, Merck, grau P. A.

#### 4.1.5. Equipamentos

- Processamento do gengibre: moinho de facas, marca Marconi, modelo MA 340; estufa com circulação de ar, marca Marconi, modelo MA 035;



- Extração: mesa agitadora orbital, marca Tecnal, modelo TE 141;
- Atividade antioxidante e compostos fenólicos totais: espectrofotômetro, marca Shimadzu, modelo UV mini 1240;
- Termoxidação: chapa de aquecimento, marca Quimis, modelo 308-26;
- Aquecimento em estufa: estufa para secagem e esterilização, marca Odontobrás, modelo EL1-3;
- Estabilidade oxidativa: registrador e bloco Rancimat, marca Metrohm, modelo 743;
- Compostos polares totais: evaporador rotativo, marca Quimis, modelo Q 344B2; banho ultratermostatizado, marca Marconi; bomba de vácuo, marca Marconi, modelo MA 057; banho-maria, marca Fisaton;
- Dienos conjugados: espectrofotômetro, marca Shimadzu, modelo UV mini 1240;
- Uso geral: balança analítica, marca Ohaus, modelo AS200S; balança semi-analítica, marca Marte, modelo AS 2000C; estufa para secagem e esterilização, marca Odontobrás, modelo EL1-3; freezer vertical 240 L, marca Cònsul.

## 4.2. Procedimentos experimentais

### 4.2.1. Ensaio I – determinação da atividade antioxidante

Após a obtenção do extrato etanólico de gengibre, foi determinada a atividade antioxidante, utilizando o método do radical livre DPPH, descrito por Mensor et al. (2001). Esta metodologia permite a determinação do valor  $EC_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ), definido como a concentração de extrato natural suficiente para atingir 50% da atividade antioxidante máxima, estimada em 100%, obtido por regressão linear.

Os compostos fenólicos totais foram quantificados colorimetricamente no extrato etanólico de gengibre pelo método de Folin-Ciocalteu. Este método baseia-se na redução dos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico em solução alcalina, e é o mais utilizado para a determinação de compostos fenólicos totais em alimentos. A cor azul produzida pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos fenólicos é medida espectrofotometricamente, no comprimento de onda de 765 nm

(SINGLETON; ROSSI, 1965). Para a quantificação, foi feita uma curva padrão utilizando ácido gálico em concentrações de 0 a 500 mg/L. O coeficiente de correlação da curva analítica foi de 0,9995.

Em seguida, determinou-se a concentração mais eficiente do extrato etanólico de gengibre, a ser aplicado no óleo de soja nos Ensaios II e III. Para isso foi avaliada a estabilidade oxidativa, utilizando-se o método do Rancimat, com fluxo de ar de 20 L/h e 100°C. Foi selecionada a concentração que apresentou maior período de indução, expresso em horas.

No óleo de soja refinado (isento da adição de antioxidantes sintéticos) foi adicionado o extrato de gengibre nas concentrações apresentadas na Tabela 4. Deve-se ressaltar que o Ensaio I foi conduzido em duas repetições.

Tabela 4. Concentrações de extrato natural adicionadas ao óleo de soja.

Tratamentos	Concentrações de antioxidante (mg/kg)
A	Controle
B	500 de extrato de gengibre
C	1.000 de extrato de gengibre
D	1.500 de extrato de gengibre
E	2.000 de extrato de gengibre
F	2.500 de extrato de gengibre

Apesar da legislação brasileira permitir a adição de até 200 mg/kg de TBHQ em óleos refinados, a concentração do antioxidante sintético selecionada foi de 50 mg/kg, pois esta é a concentração normalmente aplicada pelas indústrias brasileiras de óleos.

#### 4.2.2. Ensaio II – teste acelerado em estufa

Quatro tratamentos foram submetidos ao teste de oxidação acelerada em estufa a 60°C:

- Óleo de soja refinado, sem adição de antioxidantes – controle (OSR);

- Óleo de soja refinado, com adição da concentração de extrato de gengibre mais efetiva no Ensaio I (OSR + EG);
- Óleo de soja refinado, com adição da concentração de 50 mg/kg de TBHQ (OSR + TBHQ);
- Óleo de soja refinado, com adição da mistura da concentração mais efetiva de extrato de gengibre no Ensaio I e 50 mg/kg de TBHQ (OSR + M).

As amostras submetidas em estufa a 60°C foram avaliadas nos intervalos 0, 3, 6, 9 e 12 dias. O Ensaio II foi conduzido em duas repetições.

No teste de estocagem em estufa, os tratamentos foram conduzidos em estufa aquecida, utilizando-se béqueres de 50 mL contendo 40 mL de óleo com relação superfície/volume 0,3 cm<sup>-1</sup>. Esse valor corresponde àquele normalmente utilizado nas frituras em fritadeiras. A temperatura utilizada foi 60°C, normalmente utilizada em testes de estocagem acelerada. O aquecimento foi conduzido de modo contínuo por 12 dias e amostras foram recolhidas a cada três dias (0, 3, 6, 9 e 12 dias). A temperatura foi controlada com auxílio de termômetro.

Todas as amostras, a diferentes intervalos de tempo, foram recolhidas em frasco âmbar e armazenadas com fluxo de nitrogênio à temperatura de aproximadamente -18°C até o momento das análises.

#### 4.2.3. Ensaio III – termoxidação

Quatro tratamentos foram submetidos à termoxidação em chapa de aquecimento a 180°C. Os tratamentos utilizados foram os mesmos do Ensaio II: OSR, OSR + EG, OSR + TBHQ e OSR + M.

Foi avaliada a evolução da oxidação das amostras nos tempos 0, 4, 8, 12, 16 e 20 horas de termoxidação em placa, sob aquecimento a 180°C. O Ensaio III foi conduzido em duas repetições.

Os ensaios de termoxidação para os tratamentos citados foram conduzidos em chapa aquecida, utilizando-se béqueres com as mesmas características do teste acelerado em estufa. A temperatura utilizada foi 180 ± 5°C, comumente utilizada em frituras por imersão. O aquecimento foi conduzido de modo descontínuo por

diferentes períodos de tempo (0, 4, 8, 12, 16 e 20 horas), controlando-se a temperatura com auxílio de termômetro.

As amostras dos diferentes intervalos de tempo foram recolhidas em frasco âmbar e armazenadas com fluxo de nitrogênio à temperatura de - 18°C até o momento das análises.

### 4.3. Métodos

As amostras aquecidas em estufa foram analisadas quanto ao índice de peróxidos e dienos conjugados e as amostras termoxidadas foram analisadas quanto à estabilidade oxidativa, compostos polares totais, índice de peróxidos e dienos conjugados.

#### 4.3.1. Atividade antioxidante – método do radical livre DPPH

Este procedimento foi descrito por Mensor et al. (2001). Preparou-se uma solução etanólica com concentração de 1 mg/mL de extrato de gengibre. Cada amostra desta solução (2,5 mL) foi adicionada a 1 mL de solução de DPPH (0,3 mM) em diferentes concentrações (125, 100, 50, 25 e 10 µg/mL). Após o tempo de reação de 30 minutos, a absorbância foi lida em 518 nm e convertida em porcentagem de atividade antioxidante (AA) por meio da seguinte fórmula:

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

Um controle foi feito com 2,5 mL de etanol e 1 mL de DPPH (controle negativo) e um branco foi realizado para o extrato (2,5 mL) contendo 1 mL de etanol, para todas as concentrações.

#### 4.3.2. Compostos fenólicos totais

A quantificação de compostos fenólicos totais foi determinada por espectrofotometria, por meio do reagente de Folin-Ciocalteu, segundo a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965).

Neste procedimento, pipetou-se 100  $\mu\text{L}$  da solução de extrato natural em tubos de ensaio e adicionou-se 500  $\mu\text{L}$  do reagente de Folin-Ciocalteu. Em seguida, adicionou-se 1,5 mL de solução saturada de carbonato de sódio 20% e 6 mL de água destilada.

Essa mistura permaneceu em repouso por 2 horas em temperatura ambiente, e a absorbância foi determinada a 765 nm.

O ácido gálico foi utilizado para fazer a curva padrão e o resultado foi expresso em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mg/g).

#### 4.3.3. Estabilidade oxidativa

A estabilidade de óleos é definida como o tempo para se atingir nível de rancidez detectável ou surpreendente mudança na taxa de oxidação (ANTONIASSI, 2001). Essa estabilidade foi determinada pelo método proposto pela AOCS Cd 12b-92 (1993) utilizando-se o equipamento Rancimat, que é baseado na determinação da condutividade elétrica dos produtos voláteis de degradação.

Por este método, uma curva é automaticamente registrada no decorrer da reação e do teste, cujo período de indução é determinado em horas.

Foi utilizado o equipamento Rancimat modelo 743, marca Metrohm, nas seguintes condições: 3 g de óleo; fluxo de ar de 20 L/h; temperatura de 100°C e 60 mL de água destilada nos frascos contendo os eletrodos.

#### 4.3.4. Compostos polares totais

A base do método é a separação da amostra do óleo, utilizando-se cromatografia de adsorção, em duas frações de diferentes polaridades, que podem ser determinadas gravimetricamente. Foi aplicado o método cromatográfico proposto por Dobarganes; Velasco; Dieffenbacher (2000).

Para o preparo da amostra, 1 g de óleo foi transferido quantitativamente com cerca de 1 mL de uma mistura de hexano:éter etílico (90:10) para uma coluna de vidro, com 1 cm de diâmetro e 30 cm de comprimento.

Para o preparo da coluna, 5 g de sílica gel (previamente seca em estufa a 105°C/1 hora, resfriada à temperatura ambiente em dessecador e agitada em erlenmeyer de 250 mL com tampa para homogeneização das partículas/10 minutos) foram pesados em um béquer de 50 mL e adicionados a cerca de 11 mL de hexano:éter etílico (90:10). Essa mistura foi transferida de uma só vez à coluna, cuja extremidade inferior foi revestida por uma camada de algodão. A sílica residual foi lavada com hexano:éter (90:10) e, em seguida, adicionada a cerca de 1 g de areia do mar para facilitar a posterior fixação da amostra. A fração apolar foi eluída com 50 mL da solução hexano:éter etílico (90:10) e recolhida em balão previamente tarado. O solvente foi eliminado em evaporador rotativo com banho de água a 60°C e sistema de vácuo. Posteriormente, o balão foi colocado em banho-maria a 100°C, por aproximadamente 1 hora. Em seguida, o balão foi levado à estufa até a eliminação completa dos solventes. Depois de resfriado em dessecador, foi efetuada a pesagem da fração.

O teor de triacilgliceróis não alterados, fração apolar, foi calculado pela fórmula:

$$\text{Fração apolar (\%)} = \frac{P_1}{P} \cdot 100$$

Onde:

$P_1$  = peso da fração apolar, em gramas;

$P$  = peso da amostra adicionada à coluna, em gramas.

O teor de compostos polares, fração polar, foi calculado a partir dos triacilgliceróis não alterados, considerando-se que os compostos polares retidos estivessem incluídos na fração polar.

$$\text{Fração polar (\%)} = 100 - \text{Fração apolar}$$

#### 4.3.5. Índice de peróxidos

Denomina-se índice de peróxidos a quantidade de oxigênio ativo, calculada em miliequivalentes, contida em um quilograma de óleo medida a partir do iodo liberado do iodeto de potássio pelos peróxidos presentes no óleo. Esse índice foi determinado segundo a norma da AOCS Cd 8-53 (1993), através da dissolução de 5 g de óleo em 25 mL de solução ácido acético:clorofórmio (3:2) e da adição de 1 mL de solução saturada de iodeto de potássio, seguidas de repouso no escuro por 5 minutos.

Na seqüência, foram adicionados 75 mL de água destilada e 1 mL de solução aquosa de amido 1%, seguida de titulação com solução de tiosulfato de sódio 0,01 N. O volume gasto do titulante até o desaparecimento da cor azul indicou a concentração de peróxidos em meq/kg, através da fórmula:

$$\text{Índice de Peróxidos (meq O}_2\text{/kg óleo)} = \frac{(A - B) \cdot M \cdot 1000}{P}$$

Onde:

A = volume de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> gasto na titulação da amostra, em mL;

B = volume de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> gasto na titulação do branco, em mL;

M = molaridade exata da solução de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>;

P = peso da amostra, em gramas.

#### 4.3.6. Ácidos dienólicos conjugados

Este método determina dienos conjugados de ligações insaturadas, expressas como porcentagens de ácidos dienólicos conjugados. A determinação de dienos conjugados foi efetuada através do método oficial AOCS Ti 1a-64 (1993). O óleo foi diluído em iso-octano (2,2,4-trimetilpentano), de forma que a leitura de absorbância estivesse entre 0,2 e 0,8. Foram utilizados, portanto, balões

volumétricos de capacidade adequada para diluição da amostra dependendo do estado oxidativo da mesma. A absorvância foi medida a 233 nm.

A porcentagem de dienos conjugados foi obtida através da fórmula:

$$\text{Dienos Conjugados (\%)} = 0,84 \cdot \left( \frac{A}{b \cdot c} - k_0 \right)$$

Onde:

$K_0$  = absorvância para grupos ácidos (0,03) ou ésteres (0,07);

A = absorvância a 233 nm;

b = espessura da cubeta, em centímetros;

c = concentração da amostra, em g/L.

#### 4.4. Delineamento experimental

##### Ensaio I

Os resultados obtidos nas duas repetições da estabilidade oxidativa foram submetidos às análises de variância para estudar a regressão polinomial, para determinar a influência das concentrações sobre a estabilidade oxidativa dos óleos acrescidos de antioxidantes, medida pelo Rancimat, em horas.

##### Ensaio II

Para as amostras submetidas ao teste acelerado em estufa foram considerados os seguintes fatores: tratamentos (OSR, OSR + EG, OSR + TBHQ, OSR + M) e tempos de aquecimento (0, 3, 6, 9 e 12 dias).

Os resultados obtidos de índice de peróxidos e dienos conjugados, em duas repetições, foram submetidos às análises de variância para determinar a influência dos fatores sobre a alteração das amostras de óleo submetidas ao teste acelerado



em estufa. O experimento foi realizado em esquema fatorial 4 x 5, no delineamento inteiramente casualizado (BANZATTO; KRONKA, 2006).

### Ensaio III

Para a análise dos resultados das amostras submetidas à termoxidação, foram considerados os seguintes fatores: tratamentos (OSR, OSR + EG, OSR + TBHQ, OSR + M) e tempos de aquecimento (0, 4, 8, 12, 16 e 20 horas).

Os resultados obtidos da estabilidade oxidativa, compostos polares totais, índice de peróxidos e dienos conjugados, em duas repetições, foram submetidos às análises de variância para determinar a influência dos fatores sobre a alteração dos óleos submetidos à termoxidação. O experimento foi realizado em esquema fatorial 4 x 6, no delineamento inteiramente casualizado (BANZATTO; KRONKA, 2006).

Para todos os ensaios utilizou-se o teste de Tukey, e as análises de variância foram obtidas através do programa ESTAT, versão 2.0.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Obtenção do extrato etanólico de gengibre

Os rizomas de gengibre *in natura* apresentaram um teor de umidr

disponíveis no composto antioxidante (BRAND-WILLIAMS; CULIVER; BERSET, 1995).

A atividade antioxidante dos compostos, dada pelo valor de  $EC_{50}$ , é calculada pela redução de 50% da concentração inicial de DPPH. Ressalta-se que quanto menor o valor de  $EC_{50}$ , maior a atividade antioxidante do composto analisado.

O valor de  $EC_{50}$ , obtido por regressão linear, para o EG mostrou bom coeficiente de determinação, que foi  $R^2 = 0,9908$ . Os valores de atividade antioxidante máxima e  $EC_{50}$  atingidos pelo EG foram de 79,1% e 42,6  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente.

Os compostos fenólicos totais foram quantificados colorimetricamente no extrato de gengibre pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Para a quantificação foi feita uma curva padrão utilizando ácido gálico em concentrações de 0 a 500 mg/L. O coeficiente de determinação da curva analítica foi de 0,9995.

A concentração de compostos fenólicos totais, expressa em equivalentes de ácido gálico por grama de extrato, encontrada foi de 251 mg/g. A extração de compostos fenólicos de produtos naturais é fortemente influenciada pelo solvente utilizado. Tem-se observado que quanto maior a polaridade do solvente de extração, maior a quantidade de compostos fenólicos extraídos (GAMÉZ-MEZA et al., 1999).

A Tabela 5 ilustra a porcentagem máxima de atividade antioxidante ( $AA_{m\acute{a}xima}$ ), o valor de  $EC_{50}$  e a determinação de compostos fenólicos totais (CFT).

Kaur e Kapoor (2002) encontraram atividade antioxidante de 71,8% para o extrato etanólico de gengibre, próxima à encontrada neste estudo, que foi de 79,1%. Porém, o teor de compostos fenólicos totais encontrado por esses autores foi de 221,3 mg de catequina/100 g de extrato, ao passo que neste trabalho, como se pode observar na Tabela 5, o teor obtido desses compostos foi de 251 mg/g. Vale ressaltar que a curva-padrão utilizada neste trabalho, para a determinação dos compostos fenólicos totais, foi determinada com concentrações de ácido gálico.

Tabela 5. Valor de  $AA_{m\acute{a}xima}$ ,  $EC_{50}$  e CFT do extrato de gengibre.

Antioxidante	$AA_{m\acute{a}xima}$ (%)	$EC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	CFT (mg/g)
EG	79,1	42,6	251

$EC_{50}$  é definido como a concentração suficiente para obter 50% do efeito máximo, estimado em 100%.

Mansour e Khalil (2000) encontraram 77,4% de atividade antioxidante para o extrato etanólico de gengibre, em seu experimento.

Em estudo realizado por Rababah, Hettiarachchy e Horax (2004), o extrato de gengibre atingiu apenas 6% de atividade antioxidante, e a quantidade de compostos fenólicos totais encontrada foi de 39,9 mg de equivalentes em ácido clorogênico por g de extrato.

Sabe-se que o gengibre atua como antioxidante quando utilizado individualmente e também sinergisticamente com outras especiarias. Shobana e Naidu (2000) obtiveram resultado positivo para o extrato de gengibre, em extração etanol:água (1:1), quanto à inibição da peroxidação lipídica, em sistema biológico. Neste experimento, o valor de  $EC_{50}$  (concentração que inibiu 50% da atividade enzimática) encontrado para o extrato de gengibre foi de 7,5 mg, sendo que a combinação de gengibre com alho (1:1) inibiu cerca de 80% da peroxidação lipídica.

Em estudo realizado por Murcia et al. (2004), o extrato aquoso de gengibre inibiu cerca de 74% da peroxidação lipídica, aplicado na dose de 5%, reafirmando a eficiência do extrato de gengibre como antioxidante natural.

Para avaliar a concentração mais efetiva de extrato etanólico de gengibre, foram aplicadas concentrações de 0, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 mg/kg de extrato no óleo de soja e a medida da estabilidade oxidativa foi verificada pelo Rancimat a 100°C. Definiu-se o valor de 50 mg/kg de antioxidante sintético TBHQ, por ser esta a concentração mais comum deste antioxidante adicionada ao óleo de soja pelas indústrias. As concentrações utilizadas para o extrato etanólico de gengibre foram baseadas em estudos anteriores realizados por Rehman, Salariya e Habib (2003).

O anexo A apresenta a análise de variância para estudar a regressão polinomial da estabilidade oxidativa do óleo de soja refinado adicionado de extrato etanólico de gengibre. Como observado no Anexo A, a regressão significativa ( $P < 0,01$ ) de maior grau foi a linear, para o efeito das concentrações de extrato de gengibre em óleo de soja refinado. Portanto, foi esta a regressão selecionada para explicar o comportamento deste ensaio, definindo, assim, a concentração mais efetiva a ser empregada nos Ensaio II e III.

A Figura 7 ilustra o gráfico da regressão linear obtida pelo efeito das concentrações de EG, cujo coeficiente de determinação foi  $R^2 = 0,9336$ .

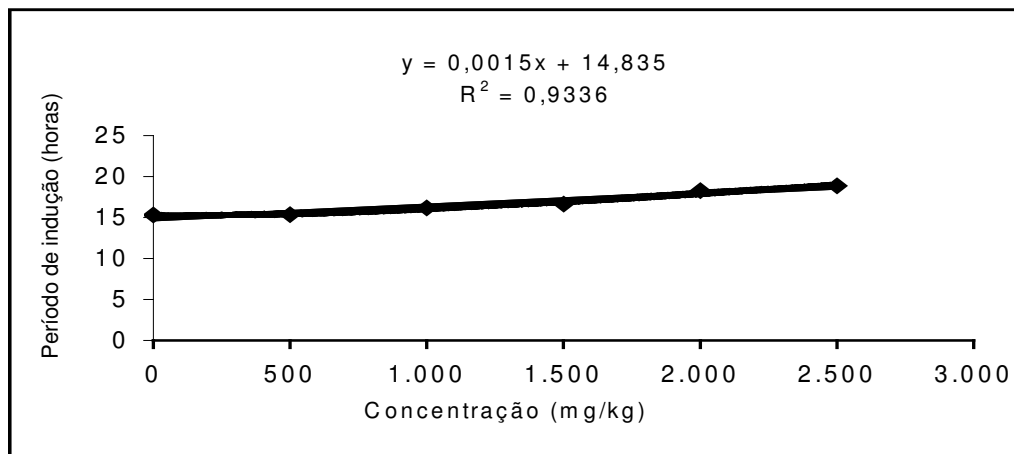


Figura 7. Regressão linear para o extrato etanólico de gengibre.

Verifica-se pela análise do gráfico da regressão linear, que é possível estabelecer uma relação entre a estabilidade oxidativa e as concentrações de extrato natural no óleo de soja. A reta formada indica uma ação antioxidante crescente das concentrações, ou seja, o aumento da concentração de extrato de gengibre no óleo é diretamente proporcional ao aumento da estabilidade oxidativa.

Utilizando-se a equação linear formada pelo gráfico, representado pela Figura 7, pode-se determinar o período de indução correspondente à qualquer concentração de extrato de gengibre.

Em geral, as mesmas características são encontradas na literatura para a ação antioxidante dos extratos naturais, ou seja, a tendência é o aumento da atividade antioxidante conforme o aumento da concentração de extrato (AZIZAH; RUSLAWATI; TEE, 1999; LEE; KIM; ASHMORE, 1986).

Antioxidantes naturais, obtidos pela extração etanólica, têm sido utilizados com eficiência na inibição da oxidação lipídica em estudos encontrados na literatura (GÁMEZ-MEZA et al., 1999; REHMAN; HABIB; SHAH, 2004).

Com base nos resultados da estabilidade oxidativa referente ao controle, o período de indução correspondente foi de 14,84 horas e, para a concentração de 2.500 mg/kg foi de 18,59 horas. Portanto, esta foi a concentração de extrato mais efetiva para retardar a oxidação lipídica e, por isso foi selecionada para aplicação no óleo de soja, que foi submetido ao teste acelerado em estufa e à termoxidação.

### 5.3. Ensaio II – teste acelerado em estufa

A temperatura acelera a velocidade das reações, entre elas, a oxidação. Os testes acelerados baseiam-se na elevação da temperatura para aumentar a velocidade de reação de oxidação. A dificuldade está em se trabalhar com temperaturas que possibilitem correlações com o comportamento ao ambiente. A estabilidade de óleos adicionados de antioxidantes pode ser avaliada pela sua estocagem em condições normais de armazenamento e em condições aceleradas, nas quais análises periódicas são realizadas para acompanhar alterações químicas, físicas ou sensoriais. Além disso, pode-se mensurar alterações primárias e secundárias; contudo, não há um padrão para detectar essas alterações em todos os tipos de alimentos. Os métodos mais utilizados são o Método do Oxigênio Ativo (AOM) e o teste em estufa (“Schaal Oven Test”) (DUTTON, 1978; FARIA, 1994). O teste em estufa a 60°C foi selecionado para este experimento com a finalidade de verificar o tempo de vida útil do óleo de soja adicionado ou não de substâncias antioxidantes.

Neste ensaio foram utilizados quatro tratamentos: OSR; OSR + EG (2.500 mg/kg); OSR + TBHQ (50 mg/kg) e OSR + M (2.500 mg/kg EG + 50 mg/kg TBHQ).

As amostras retiradas nos tempos 0, 3, 6, 9 e 12 dias de estocagem em estufa a 60°C foram analisadas quanto ao índice de peróxidos e dienos conjugados.

#### 5.3.1. Índice de peróxidos

As alterações primárias são avaliadas pelas perdas de ácidos graxos insaturados, pelo oxigênio incorporado através do ganho de peso e pela quantidade de hidroperóxidos e dienos conjugados formados. As alterações secundárias são acompanhadas pela formação de compostos carbonila, malonaldeído e outros aldeídos, hidrocarbonetos e produtos fluorescentes (GRAY, 1978; SHAIDI, 1996).

Com o ganho de peso e a quantificação de hidroperóxidos formados durante um período de estocagem, é possível conhecer o efeito de antioxidantes na estabilidade do óleo. O índice de peróxidos é utilizado para quantificar os

hidroperóxidos formados; contudo, estes são produtos intermediários na formação de carbonilas e hidro-compostos.

O Anexo B apresenta a análise de variância para a determinação do índice de peróxidos. Como observado, o teste F foi significativo ( $P < 0,01$ ) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de aquecimento. Então, procedeu-se ao desdobramento dessa interação, cujo resultado é mostrado na Tabela 6.

Ao observar os dados da Tabela 6, conclui-se que a atividade antioxidante dos tratamentos é maior quanto menor o índice de peróxidos.

Verifica-se um acréscimo no índice de peróxidos, em todos os tratamentos, com o tempo de aquecimento dos óleos na estufa, o que indica o desenvolvimento de produtos primários da oxidação lipídica. Porém, nos óleos de soja adicionados do antioxidante sintético TBHQ e da mistura de antioxidantes, observa-se uma formação de peróxidos menos acentuada ao longo dos tempos de aquecimento.

Tabela 6. Desdobramento da interação tratamentos x tempos de aquecimento para os dados do índice de peróxidos (meq/kg).

Tratamentos	Tempos de aquecimento (dias)				
	0	3	6	9	12
OSR	0,79 <sup>eA</sup>	2,11 <sup>dA</sup>	21,93 <sup>cA</sup>	46,28 <sup>bA</sup>	61,56 <sup>aA</sup>
OSR + EG	0,54 <sup>eA</sup>	1,78 <sup>dA</sup>	4,53 <sup>cB</sup>	14,46 <sup>bB</sup>	26,63 <sup>aB</sup>
OSR + TBHQ	0,89 <sup>dA</sup>	1,64 <sup>dA</sup>	3,03 <sup>cC</sup>	5,09 <sup>bC</sup>	6,08 <sup>aC</sup>
OSR + M	0,54 <sup>cA</sup>	1,43 <sup>cA</sup>	2,77 <sup>bC</sup>	4,27 <sup>aC</sup>	5,21 <sup>aC</sup>

(OSR) – óleo de soja refinado, (OSR + EG) – OSR + 2.500 mg/kg de extrato de gengibre, (OSR + TBHQ) – OSR + 50 mg/kg de TBHQ, (OSR + M) – OSR + 2.500 mg/kg de extrato de gengibre + 50 mg/kg de TBHQ.

a, b ... (linha) – em cada tratamento, médias de tempos de aquecimento seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

A, B ... (coluna) – em cada tempo de aquecimento, médias de tratamentos seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

Com relação aos tratamentos dentro de cada tempo de aquecimento, nota-se que em até 3 dias de aquecimento não foi observada diferença significativa entre as médias dos índices de peróxidos para os tratamentos estudados. Os tratamentos OSR + EG, OSR + TBHQ e OSR + M demonstraram um desempenho estatisticamente diferente do controle somente a partir de 6 dias de aquecimento na estufa. O TBHQ e a mistura de antioxidantes adicionados ao óleo de soja

apresentaram comportamento semelhante quanto à formação de peróxidos em todos os tempos de aquecimento. Além disso, ao final do experimento, as atividades antioxidantes do TBHQ e da mistura foram superiores à atividade do extrato de gengibre na concentração de 2.500 mg/kg.

Os tratamentos OSR + EG, OSR + TBHQ e OSR + M foram eficientes na proteção oxidativa do óleo; o extrato de gengibre reduziu em 57%, o TBHQ reduziu em 90% e a mistura do antioxidante sintético TBHQ com o extrato de gengibre reduziu em 92% a formação de peróxidos no óleo de soja após 12 dias de estocagem a 60°C. Nota-se que a adição de extrato de gengibre no óleo de soja não foi tão eficiente quanto o antioxidante sintético TBHQ e a mistura de antioxidantes, contra a formação de peróxidos.

Com relação à eficiência contra a formação dos compostos primários da oxidação durante o período de estocagem em estufa, pode-se classificar os tratamentos da seguinte maneira: OSR + M = OSR + TBHQ > OSR + EG > OSR.

O TBHQ tem se mostrado mais eficiente que os antioxidantes naturais, quando adicionados na dosagem máxima de 200 mg/kg. Gámez-Meza et al. (1999) verificaram que o TBHQ obteve melhor resultado que o extrato de bagaço de uvas, contra a formação de peróxidos, em óleo de soja, durante estocagem a 60°C.

Almeida-Doria e Regitano-D'Arce (2000) verificaram que o TBHQ, aplicado na dosagem de 200 mg/kg foi mais eficiente na proteção contra a formação de peróxidos em óleo de soja que extratos etanólico de alecrim e orégano, a partir de 5 e 7 dias em teste de estocagem acelerada a 63°C.

### 5.3.2. Dienos conjugados

A medida quantitativa dos dienos conjugados tem sido largamente utilizada para a determinação da oxidação de óleos e gorduras. A peroxidação dos ácidos graxos insaturados acompanha a mudança da dupla ligação na formação dos hidroperóxidos conjugados. Essa estrutura conjugada absorve fortemente a luz ultravioleta no comprimento de onda entre 232 e 234 nm (KULAS; ACKMAN, 2001; WHEATLEY, 2000).

O acompanhamento dos espectros de absorção na faixa do ultravioleta das



amostras de óleo fornece uma boa indicação das alterações que ocorrem durante o processo oxidativo, visto que o índice de peróxidos não reflete o aumento da degradação do óleo com o tempo de aquecimento. Por serem instáveis, os peróxidos são rapidamente formados e quebrados em compostos menores, porém, os dienos conjugados que se formam concomitantemente permanecem no óleo (CELLA; REGITANO-D'ARCE; SPOTO, 2002).

O Anexo B apresenta a análise de variância para a determinação de dienos conjugados. Como observado, o teste F foi significativo ( $P < 0,01$ ) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de aquecimento. Então, tornou-se necessário o desdobramento dessa interação, cujos resultados encontram-se na Tabela 7.

Como observado na Tabela 7, houve aumento na formação de dienos conjugados ao longo dos tempos de aquecimento, para o controle, para o extrato de gengibre e para o TBHQ, embora este aumento tenha sido mais drástico para o controle. No tratamento em que foi adicionada a mistura de antioxidantes, não houve aumento significativo na formação de dienos no óleo, ao longo do período de aquecimento na estufa, já que os valores mantiveram-se estáveis até o final do processo.

Tabela 7. Desdobramento da interação tratamentos x tempos de aquecimento para os dados de dienos conjugados (%).

Tratamentos	Tempos de aquecimento (dias)				
	0	3	6	9	12
OSR	0,23 <sup>dA</sup>	0,27 <sup>dA</sup>	0,45 <sup>cA</sup>	0,65 <sup>bA</sup>	0,89 <sup>aA</sup>
OSR + EG	0,26 <sup>cA</sup>	0,28 <sup>cA</sup>	0,29 <sup>cB</sup>	0,37 <sup>bB</sup>	0,50 <sup>aB</sup>
OSR + TBHQ	0,25 <sup>bA</sup>	0,22 <sup>bA</sup>	0,22 <sup>bC</sup>	0,27 <sup>abC</sup>	0,31 <sup>aC</sup>
OSR + M	0,27 <sup>aA</sup>	0,27 <sup>aA</sup>	0,30 <sup>aB</sup>	0,27 <sup>aC</sup>	0,29 <sup>aC</sup>

(OSR) – óleo de soja refinado, (OSR + EG) – OSR + 2.500 mg/kg de extrato de gengibre, (OSR + TBHQ) – OSR + 50 mg/kg de TBHQ, (OSR + M) – OSR + 2.500 mg/kg de extrato de gengibre + 50 mg/kg de TBHQ.

a, b ... (linha) – em cada tratamento, médias de tempos de aquecimento seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

A, B ... (coluna) – em cada tempo de aquecimento, médias de tratamentos seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

O aumento na formação de dienos conjugados para o controle começou a ser notado no tempo de aquecimento de 6 dias, apresentando valores cada vez maiores no decorrer do tempo de aquecimento. Já, para o extrato de gengibre e TBHQ, o aumento na formação de dienos conjugados no óleo começou a ser notado estatisticamente apenas no final do processo.

Em relação aos tratamentos em cada tempo de aquecimento, nota-se que não houve diferença estatística na formação de dienos conjugados entre os tratamentos estudados, até o tempo de aquecimento de 3 dias. Esta formação começou a ser detectada a partir do tempo de aquecimento de 6 dias em estufa. A partir daí, observa-se que os tratamentos OSR + EG, OSR + TBHQ e OSR + M foram eficientes contra a formação de dienos conjugados no óleo, pois diferiram do controle. A maior formação de dienos no óleo indica a presença de compostos primários de oxidação lipídica mais acentuada nesse óleo do que nos demais.

Ainda no tempo de aquecimento de 6 dias, nota-se que o TBHQ foi mais eficiente que o extrato de gengibre e a mistura na proteção do óleo quanto à formação de dienos conjugados, sendo possível observar também que o extrato natural e a mistura apresentaram níveis de proteção semelhantes. Porém, a partir daí, este comportamento foi alterado, pois o TBHQ e a mistura passaram a apresentar maior proteção ao óleo que o extrato de gengibre até o final do experimento.

Ao final do processo, pode-se verificar que o extrato de gengibre demonstrou efeito antioxidante durante a estocagem, embora tenha apresentado o menor nível de proteção, com 44% de redução da formação de dienos. A aplicação do antioxidante sintético TBHQ e da mistura de TBHQ e extrato de gengibre foram mais efetivas entre os tratamentos testados, embora não tenham apresentado diferença significativa entre si na proteção do óleo de soja estocado em estufa a 60°C. O óleo adicionado de TBHQ apresentou redução de 65%, e a mistura de TBHQ e extrato de gengibre apresentou 67% de redução na formação de dienos conjugados no tempo de aquecimento final.

Com relação à atividade de outros antioxidantes naturais, Ruth, Shaker e Morrissey (2001) observaram redução de 23% no valor de dienos conjugados em óleo de linhaça, com a adição de 4% de extrato metanólico de semente de soja.

Extrato etanólico de manjeriço retardou a formação de dienos conjugados durante a estocagem de carne de porco, evidenciando a utilização de extratos

naturais com características polares contra a oxidação lipídica (JUNTACHOTE et al., 2007).

A comparação entre antioxidantes sintéticos e naturais quanto à capacidade antioxidante depende do tipo do composto analisado e da concentração utilizada. Os valores de dienos conjugados em óleo de milho com adição de 20% de extrato etanólico de germe de trigo torrado foram inferiores ao do óleo contendo 0,02% de BHA, em estudo realizado por Krings et al. (2000).

Iqbal e Bhanger (2007) estudaram o comportamento dos dienos conjugados em óleo de girassol adicionado de extrato metanólico de alho, em estocagem acelerada. As concentrações de 250, 500 e 1.000 mg/kg foram comparadas com os antioxidantes sintéticos BHA e BHT (200 mg/kg). Após 80 minutos de aquecimento a 185°C, concluíram que o óleo de girassol adicionado de 200 mg/kg de BHT foi o mais eficiente na inibição da formação de dienos conjugados, seguido da amostra contendo 1.000 mg/kg de extrato metanólico de alho.

Em estudo realizado por Zandi e Gordon (1999), extrato metanólico de folhas de chá (0,25%) foi capaz de retardar a formação de dienos conjugados em óleo de canola, durante 20 dias de estocagem acelerada.

É importante ressaltar que o antioxidante sintético TBHQ apresentou comportamento semelhante quando adicionado ou não de extrato de gengibre, contra a formação de peróxidos e dienos conjugados, ao final do período de aquecimento. Portanto, não foi observado sinergismo entre eles, podendo-se atribuir o comportamento apresentado pela mistura de antioxidantes, resultante exclusivamente da atuação do TBHQ.

Ao final do Ensaio II, verifica-se que os resultados das determinações de índice de peróxidos e dienos conjugados correlacionam-se entre si, para as médias dos tratamentos utilizados, pois o coeficiente de correlação, calculado pelo programa Statistic, versão 5.0, foi de  $R^2 = 0,9991$ .

Conclui-se ainda, pela análise estatística dos resultados finais que, dentre os fatores estudados, os tratamentos apresentaram maior influência que os tempos de aquecimento para a oxidação dos óleos submetidos ao teste acelerado em estufa a 60°C.



#### 5.4. Ensaio III – termoxidação

A oxidação de lipídios pode ocorrer durante a estocagem, processamento e aquecimento dos alimentos e constitui uma das maiores causas de rancificação de produtos alimentícios, acelerando sua deterioração (DONELLY; ROBINSON, 1995). A deterioração oxidativa pode resultar em alterações das características sensoriais, como sabor e aroma, dos alimentos, tornando-os inaceitáveis pelos consumidores. Além disso, lipídios oxidados podem trazer efeitos indesejáveis para o organismo humano (BENZIE, 1996).

Os experimentos realizados em laboratório, envolvendo fritura ou termoxidação, buscam o entendimento dos efeitos indesejáveis causados pelas diferentes variáveis envolvidas nestes processos, tornando possível a melhoria da qualidade dos alimentos (STEEL, 2002).

##### 5.4.1. Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa, determinada no presente trabalho pelo Rancimat, é intimamente influenciada pela presença de antioxidante que, por sua vez, sofre a ação de elevadas temperaturas.

O equipamento da Metrohm (Rancimat) desenvolvido por Hadorn e Zurcher (1974), funciona baseado na produção de ácidos voláteis pela oxidação de lipídios (de MAN; TIE; de MAN, 1987).

Estes ácidos são coletados em água deionizada, alterando sua condutividade elétrica. Com este equipamento, a reação de oxidação das amostras pode ser acelerada usando condições pré-estabelecidas. A variação da condutividade com o tempo origina uma curva onde o período de indução (PI) pode ser determinado. Tal valor é um importante parâmetro relacionado à estabilidade oxidativa de óleos e gorduras (BARRERA-ARELLANO; ORSI-BERTON; ESTEVES, 1993).

O Anexo C apresenta a análise de variância para a estabilidade oxidativa. Como observado, o teste F foi significativo ( $P < 0,01$ ) para os efeitos principais e



para a interação tratamentos x tempos de aquecimento. Procedeu-se, então, ao desdobramento dessa interação cujos resultados encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8. Desdobramento da interação tratamentos x tempos de aquecimento para os dados da estabilidade oxidativa (horas).

Tratamentos	Tempos de aquecimento (horas)					
	0	4	8	12	16	20
OSR	13,99 <sup>aC</sup>	12,65 <sup>aC</sup>	8,62 <sup>bB</sup>	5,26 <sup>cB</sup>	4,38 <sup>cB</sup>	2,94 <sup>cB</sup>
OSR + EG	20,47 <sup>aB</sup>	17,63 <sup>abB</sup>	16,77 <sup>bA</sup>	12,10 <sup>cA</sup>	10,67 <sup>cA</sup>	9,90 <sup>cA</sup>
OSR + TBHQ	24,39 <sup>aA</sup>	16,61 <sup>bB</sup>	9,80 <sup>cB</sup>	6,34 <sup>dB</sup>	4,46 <sup>dB</sup>	3,47 <sup>dB</sup>
OSR + M	25,95 <sup>aA</sup>	21,24 <sup>bA</sup>	16,43 <sup>cA</sup>	10,00 <sup>dA</sup>	10,49 <sup>dA</sup>	7,74 <sup>dA</sup>

(OSR) – óleo de soja refinado, (OSR + EG) – OSR + 2.500 mg/kg de extrato de gengibre, (OSR + TBHQ) – OSR + 50 mg/kg de TBHQ, (OSR + M) – OSR + 2.500 mg/kg de extrato de gengibre + 50 mg/kg de TBHQ.

a, b ... (linha) – em cada tratamento, médias de tempos de aquecimento seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

A, B ... (coluna) – em cada tempo de aquecimento, médias de tratamentos seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

Pelos valores encontrados na Tabela 8, observa-se que houve diminuição no período de indução, ao longo dos tempos de aquecimento, para todos os tratamentos estudados, porém em níveis diferentes. A partir do tempo de aquecimento de 12 horas, todos os tratamentos não demonstraram diminuição significativa no período de indução.

Para os tratamentos dentro de cada tempo de aquecimento, observa-se na Tabela 8 que a estabilidade oxidativa dos tratamentos adicionados de substâncias antioxidantes diferiram do controle nos tempos de aquecimento 0 e 4 horas, indicando que apresentaram comportamento antioxidante. No tempo 0, o TBHQ e a mistura foram mais eficientes na proteção do óleo que o extrato natural. Porém, no tempo de aquecimento de 4 horas a mistura superou o extrato de gengibre e o TBHQ.

A partir do tempo de aquecimento de 8 horas, o óleo acrescido do TBHQ perdeu sua ação antioxidante, pois, a partir deste tempo de aquecimento, seu período de indução passou a ser similar à do controle. Verifica-se ainda que, a partir deste tempo de aquecimento, o extrato de gengibre e a mistura de antioxidantes continuaram promovendo a estabilidade ao óleo até 20 horas de termoxidação.

Pode-se concluir então que a estabilidade oxidativa do extrato de gengibre e da mistura dos antioxidantes no óleo de soja foi maior, em comparação com o antioxidante sintético TBHQ na concentração de 50 mg/kg.

Em estudo realizado por Murcia et al. (2004), amostras de especiarias irradiadas, dentre elas, o gengibre, foram testadas quanto à capacidade antioxidante quando adicionadas em óleo de girassol, milho, oliva, margarina e manteiga, através da estabilidade oxidativa, medida pelo Rancimat, a 110°C. Verificou-se, ao final do estudo, que o gengibre demonstrou capacidade antioxidante, nestas condições, quando adicionado aos óleos e gorduras estudadas.

Estudos recentes, simulando o processo de fritura para avaliar a capacidade antioxidante de extratos naturais, como no caso do presente trabalho, têm demonstrado que alguns vegetais possuem a capacidade de aumentar a estabilidade oxidativa de óleos e gorduras, mesmo depois de algumas horas de aquecimento em altas temperaturas. Yanishlieva et al. (1997) estudaram a adição do extrato etanólico de segurelha-dos-jardins em óleo de girassol, sob aquecimento a 180°C durante 50 horas. Avaliando a estabilidade oxidativa, através do Rancimat a 100°C, observaram a eficiência do extrato natural na proteção do óleo.

Gámez-Meza et al. (1999), ao adicionar 0,5% de compostos fenólicos totais do extrato etanólico de bagaço de uva em óleo de soja, avaliaram a estabilidade oxidativa a 110°C, pelo equipamento Rancimat. Foi realizada a comparação com o tratamento no qual se adicionou 200 mg/kg do antioxidante sintético TBHQ ao óleo. Ao final do estudo concluiu-se que o óleo acrescido do extrato natural apresentou maior período de indução que a amostra contendo TBHQ.

#### 5.4.2. Compostos polares totais

Entende-se por compostos polares totais todos aqueles que têm uma polaridade maior que os triacilgliceróis e que correspondem aos não voláteis, resultantes da alteração oxidativa, térmica e hidrolítica (POZO-DÍEZ, 1995). Em consequência, quanto maior a fração polar, pior a qualidade do óleo de fritura (STEEL, 2002).

A determinação da quantidade total dos produtos de alteração, originados como consequência do processo de aquecimento, constitui a base das limitações de uso dos óleos existentes em alguns países, estabelecida em torno de 24 a 27% de compostos polares (FIRESTONE; STIER; BLUMENTHAL, 1991).

O Anexo C apresenta a análise de variância para a determinação de compostos polares totais, utilizando os valores obtidos ao longo do período experimental. Observa-se que o teste F foi significativo ( $P < 0,01$ ) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de aquecimento. Dessa forma, procedeu-se ao desdobramento da interação, cujos resultados encontram-se na Tabela 9.

Tabela 9. Desdobramento da interação tratamentos x tempos de aquecimento para os dados de compostos polares totais (%).

Tratamentos	Tempos de aquecimento (horas)					
	0	4	8	12	16	20
OSR	4,30 <sup>fB</sup>	7,72 <sup>eA</sup>	13,84 <sup>dA</sup>	25,47 <sup>cA</sup>	28,70 <sup>bA</sup>	37,69 <sup>aA</sup>
OSR + EG	4,04 <sup>dB</sup>	6,16 <sup>cBC</sup>	6,16 <sup>cC</sup>	16,31 <sup>bC</sup>	16,40 <sup>bC</sup>	23,27 <sup>aD</sup>
OSR + TBHQ	3,46 <sup>eB</sup>	6,94 <sup>dAB</sup>	7,38 <sup>dB</sup>	21,37 <sup>cB</sup>	28,44 <sup>bA</sup>	32,72 <sup>aB</sup>
OSR + M	5,46 <sup>eA</sup>	5,66 <sup>eC</sup>	6,90 <sup>dBC</sup>	20,44 <sup>cB</sup>	22,35 <sup>bB</sup>	27,21 <sup>aC</sup>

(OSR) – óleo de soja refinado, (OSR + EG) – OSR + 2.500 mg/kg de extrato de gengibre, (OSR + TBHQ) – OSR + 50 mg/kg de TBHQ, (OSR + M) – OSR + 2.500 mg/kg de extrato de gengibre + 50 mg/kg de TBHQ.

a, b ... (linha) – em cada tratamento, médias de tempos de aquecimento seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

A, B ... (coluna) – em cada tempo de aquecimento, médias de tratamentos seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

A Tabela 9 mostra que houve um acréscimo nos valores de compostos polares totais, em todos os tratamentos, com o aumento do tempo de aquecimento. Do tempo 4 para o de 8 horas de termoxidação, o aumento na formação de compostos polares para o extrato de gengibre e para o TBHQ não foi detectado estatisticamente. Para a mistura de antioxidantes, a formação destes compostos iniciou-se a partir do tempo de aquecimento de 8 horas, aumentando progressivamente a partir deste ponto.

Quanto aos tratamentos dentro de cada tempo de aquecimento, verifica-se pela Tabela 9, que do tempo 4 até o final do processo de aquecimento, os tratamentos adicionados de substâncias antioxidantes demonstraram ação protetora

ao óleo quanto à formação de compostos polares totais, embora em diferentes níveis de eficiência.

Nota-se que no tempo de aquecimento de 4 horas, o óleo adicionado da mistura de antioxidantes apresentou menor formação de compostos polares; porém, no tempo de aquecimento de 8 horas, este valor foi menor para o extrato de gengibre, que apresentou menor formação de compostos polares no óleo até o final da termoxidação. No tempo de aquecimento de 12 horas, a porcentagem de compostos polares do TBHQ foi similar à da mistura de antioxidantes.

Em 20 horas de termoxidação dos tratamentos estudados, o TBHQ retardou em 13% a formação de compostos polares no óleo, a mistura de extrato de gengibre e TBHQ em 28% e o extrato de gengibre em 38%, demonstrando a eficiência de todos eles, com maior destaque, porém, para a aplicação de extrato de gengibre isoladamente no óleo de soja.

No Brasil, não há legislação que estabeleça limite máximo para o valor de compostos polares em óleos de frituras. Mas vale ressaltar que após as 20 horas de aquecimento a 180°C, o óleo adicionado de extrato de gengibre não atingiu o limite de 25%, recomendado pela legislação internacional. Já o TBHQ, mesmo sendo um antioxidante sintético muito utilizado em óleos para fritura, ultrapassou o limite, apresentando cerca de 33% de compostos polares, quando adicionado na concentração de 50 mg/kg. O mesmo ocorreu com o tratamento em que foi adicionada a mistura de antioxidantes, que atingiu 27% de compostos polares totais ao final das 20 horas de termoxidação.

Para Stevenson, Vaisey-Genser e Eskin (1984), do ponto de vista tecnológico e nutricional, o óleo de soja não é o mais indicado para uso em processos de aquecimento em altas temperaturas, como o processo de fritura, por exemplo, por apresentar alto teor de ácido linolênico, um ácido graxo poliinsaturado. Sabe-se que, durante o processo termoxidativo, quanto maior o grau de insaturação do óleo, maior a sua degradação.

Jorge e Lopes (2005) analisaram 50 amostras de óleo de soja, utilizadas para frituras, recolhidas em diferentes estabelecimentos comerciais. Destas 50 amostras, 19% atingiram valores superiores a 25% de compostos polares totais.

A formação de produtos degradativos em óleos de fritura depende das condições de fritura, como a temperatura, o tempo de aquecimento e o tipo de alimento a ser frito (CLARK; SÉRBIA, 1991). Malacrida e Jorge (2003) encontraram



valores de compostos polares próximos de 32% em óleo de soja utilizado para a fritura descontínua de batatas a 180°C durante um período de 7 horas. No presente estudo, este valor de compostos polares foi atingido somente após o tempo de aquecimento de 16 horas de termoxidação a 180°C.

Em geral, os valores encontrados para os compostos polares neste estudo encontram-se próximos aos encontrados na literatura. Neste trabalho, o óleo de soja refinado apresentou 13% de compostos polares no tempo de aquecimento de 8 horas e 25% no tempo de 12 horas de termoxidação a 180°C. Barrera-Arellano et al. (2002) encontraram 18,6% de compostos polares totais em óleo de soja aquecido durante 10 horas a 180°C. Ramalho (2005) também encontrou valores próximos para o óleo de soja, nas mesmas condições de aquecimento: cerca de 18% de compostos polares totais.

#### 5.4.3. Índice de peróxidos

Os peróxidos são compostos intermediários instáveis, resultantes da oxidação lipídica, sobretudo em temperaturas elevadas (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

O Anexo C apresenta a análise de variância para a determinação do índice de peróxidos. Como observado, o teste F foi significativo ( $P < 0,01$ ) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de aquecimento. Então, procedeu-se ao desdobramento dessa interação, cujo resultado é mostrado na Tabela 10.

Observa-se na Tabela 10 que houve um acréscimo no índice de peróxidos para o controle e para a mistura até o tempo de aquecimento de 12 horas. A partir daí, a formação destes compostos foi mais suave, pois não foram mais notadas diferenças significativas entre os tempos de aquecimento, até 20 horas de termoxidação.

O óleo adicionado de extrato de gengibre teve aumento no índice de peróxidos até o final da termoxidação. O tratamento em que foi adicionado TBHQ não apresentou aumento significativo na formação de peróxidos em até 4 horas de termoxidação. A presença destes compostos começou a ser detectada

estatisticamente no tempo de aquecimento de 8 horas, porém, a partir daí, a estabilidade do óleo foi mantida até o final do processo.

Tabela 10. Desdobramento da interação tratamentos x tempos de aquecimento para os dados do índice de peróxidos (meq/kg).

Tratamentos	Tempos de aquecimento (horas)					
	0	4	8	12	16	20
OSR	0,79 <sup>dA</sup>	2,07 <sup>cA</sup>	4,05 <sup>bA</sup>	4,95 <sup>aA</sup>	4,72 <sup>aA</sup>	5,00 <sup>aA</sup>
OSR + EG	0,59 <sup>dA</sup>	1,58 <sup>cAB</sup>	1,77 <sup>cB</sup>	3,81 <sup>bA</sup>	4,27 <sup>abA</sup>	4,71 <sup>aA</sup>
OSR + TBHQ	0,84 <sup>bA</sup>	1,18 <sup>bB</sup>	3,85 <sup>aA</sup>	4,61 <sup>aA</sup>	4,22 <sup>aA</sup>	4,40 <sup>aA</sup>
OSR + M	0,69 <sup>cA</sup>	1,53 <sup>bcAB</sup>	1,87 <sup>bB</sup>	4,82 <sup>aA</sup>	4,81 <sup>aA</sup>	4,93 <sup>aA</sup>

(OSR) – óleo de soja refinado, (OSR + EG) – OSR + 2.500 mg/kg de extrato de gengibre, (OSR + TBHQ) – OSR + 50 mg/kg de TBHQ, (OSR + M) – OSR + 2.500 mg/kg de extrato de gengibre + 50 mg/kg de TBHQ.

a, b ... (linha) – em cada tratamento, médias de tempos de aquecimento seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

A, B ... (coluna) – em cada tempo de aquecimento, médias de tratamentos seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

Em relação aos tratamentos dentro de cada tempo de aquecimento, observa-se que, no tempo de aquecimento de 4 horas, o TBHQ apresentou maior ação protetora ao óleo, seguido do extrato natural e da mistura. Observa-se também, que estes tratamentos tiveram uma rápida perda da ação antioxidante nessas condições de aquecimento, mas o TBHQ foi o primeiro a perder sua eficiência contra a formação de peróxidos no óleo termoxidado, no tempo de aquecimento de 8 horas. Os tratamentos OSR + EG e OSR + M perderam a ação protetora a partir do tempo de aquecimento de 12 horas, pois mantiveram valores estatisticamente iguais ao controle, até o final do processo.

Esses resultados não coincidem com os encontrados por Rehman, Salariya e Habib (2003), que obtiveram valores diferentes de peróxidos para o extrato diclorometano de gengibre em óleo de girassol aquecido a 180°C por 50 horas. O extrato natural apresentou inibição significativa na produção de peróxidos ao final do experimento, com 0,7 meq/kg, enquanto o óleo de girassol sem a adição de antioxidantes, utilizado como controle, apresentou 20,5 meq/kg de peróxidos.

Alguns autores (CUESTA et al., 1991; LIMA; GONÇALVES, 1995; MASSON et al., 1997) afirmam que há uma limitação na metodologia para determinação de peróxidos, esclarecendo que essas substâncias formadas durante o processo de

fritura aumentam seu peso molecular até que a estrutura se fracione em moléculas menores, que, mesmo presentes no óleo, nem sempre são detectadas pela análise. Segundo os mesmos autores, esse fato ocorre, principalmente, em tempos de aquecimento mais elevados, fazendo com que este índice não seja um bom indicador do estado de alteração do óleo, pois a velocidade de degradação é maior que a velocidade de formação de peróxidos. Portanto, as concentrações de produtos de oxidação, expressos em índice de peróxidos, podem não indicar a extensão atual da deterioração do óleo (YAGHMUR et al., 2001).

#### 5.4.4. Dienos conjugados

O Anexo C apresenta a análise de variância para a determinação de dienos conjugados. Como observado, o teste F foi significativo ( $P < 0,01$ ) para os efeitos principais e para a interação tratamentos x tempos de aquecimento, sendo, então, necessário proceder ao desdobramento dessa interação, cujos resultados encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11. Desdobramento da interação tratamentos x tempos de aquecimento para os dados de dienos conjugados (%).

Tratamentos	Tempos de aquecimento (horas)					
	0	4	8	12	16	20
OSR	0,23 <sup>dA</sup>	0,58 <sup>dA</sup>	1,29 <sup>cA</sup>	2,30 <sup>bA</sup>	2,47 <sup>bA</sup>	3,32 <sup>aA</sup>
OSR + EG	0,26 <sup>cA</sup>	0,47 <sup>cA</sup>	0,65 <sup>cB</sup>	1,47 <sup>bC</sup>	1,33 <sup>bC</sup>	2,02 <sup>aD</sup>
OSR + TBHQ	0,25 <sup>dA</sup>	0,63 <sup>cdA</sup>	0,90 <sup>cB</sup>	1,96 <sup>bAB</sup>	2,31 <sup>abAB</sup>	2,79 <sup>aB</sup>
OSR + M	0,27 <sup>dA</sup>	0,44 <sup>cdA</sup>	0,79 <sup>cB</sup>	1,85 <sup>bB</sup>	2,07 <sup>abB</sup>	2,39 <sup>aC</sup>

(OSR) – óleo de soja refinado, (OSR + EG) – OSR + 2.500 mg/kg de extrato de gengibre, (OSR + TBHQ) – OSR + 50 mg/kg de TBHQ, (OSR + M) – OSR + 2.500 mg/kg de extrato de gengibre + 50 mg/kg de TBHQ.

a, b ... (linha) – em cada tratamento, médias de tempos de aquecimento seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

A, B ... (coluna) – em cada tempo de aquecimento, médias de tratamentos seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

Na Tabela 11 pode-se observar que houve um acréscimo nos valores de dienos conjugados para todos os tratamentos, com o aumento do tempo de aquecimento. A formação de dienos conjugados iniciou-se a partir do tempo de aquecimento de 8 horas para o TBHQ e para a mistura. No tratamento em que foi adicionado o extrato de gengibre, esta formação começou a ser detectada mais tardiamente, a partir do tempo de aquecimento de 12 horas.

Até 4 horas de aquecimento não foi observada diferença significativa entre as médias dos valores de dienos conjugados, para os tratamentos. Tal fato demonstra que apresentaram atividade antioxidante semelhante nos primeiros tempos de aquecimento.

Os tratamentos OSR + EG, OSR + TBHQ e OSR + M demonstraram um desempenho estatisticamente diferente do controle somente a partir de 8 horas de termoxidação. Neste caso, pode-se concluir que tiveram formação de dienos conjugados semelhantes entre si. A partir do tempo de aquecimento de 12 horas até o final do processo, a atividade antioxidante do extrato de gengibre destacou-se, apresentando menores níveis de dienos conjugados que o TBHQ e a mistura de antioxidantes. O TBHQ e a mistura apresentaram níveis semelhantes de dienos conjugados em até 16 horas de aquecimento, porém, houve uma pequena diferenciação na formação destes compostos no tempo de aquecimento de 20 horas, em que o TBHQ apresentou maior formação de dienos conjugados que a mistura, seguidos do extrato de gengibre.

Ao final do processo, o extrato natural foi capaz de reduzir em 39% a formação de dienos conjugados. A mistura apresentou redução de 28% e o TBHQ reduziu em 16% a formação destes compostos.

O extrato de gengibre demonstrou eficiência contra a formação de dienos conjugados em emulsão de ácido linoléico:água, quando aquecido a 80°C durante 5 horas, apresentando valores inferiores ao antioxidante sintético BHT (STOILOVA et al., 2007).

Ramalho (2005) encontrou valores de dienos conjugados semelhantes aos determinados no presente trabalho, para o óleo de soja termoxidado a 180°C. Os valores de dienos conjugados para o óleo de soja no tempo zero e no tempo de aquecimento de 10 horas foram, respectivamente, 0,26 e 1,61%.

Ao final deste Ensaio, observa-se que o extrato de gengibre apresentou maior proteção ao óleo, em todas as determinações analíticas realizadas nos tratamentos

submetidos à termoxidação. Conclui-se que sua capacidade antioxidante, na concentração utilizada, superou o TBHQ, adicionado ao óleo na dosagem de 50 mg/kg, e o efeito sinérgico não foi satisfatório entre os antioxidantes nessas concentrações.

Mediante os resultados das determinações analíticas deste Ensaio, a análise estatística demonstrou que o fator tempos de aquecimento apresentou maior influência na deterioração dos óleos que o fator tratamentos estudados.

## 6. CONCLUSÕES

Ao final deste trabalho foi possível concluir que o extrato etanólico de gengibre apresentou eficiência quanto à ação antioxidante, podendo ser aplicado em alimentos como aditivo, retardando a oxidação lipídica.

O extrato de gengibre, na concentração de 2.500 mg/kg, assim como o antioxidante sintético TBHQ, adicionado ao óleo na concentração de 50 mg/kg, apresentaram capacidade de retardar a oxidação lipídica, quando adicionados em óleo de soja submetido ao aquecimento em baixas e em altas temperaturas. Porém, o extrato natural mostrou-se mais eficiente quanto à proteção das características do óleo que o TBHQ, em condições de termoxidação a 180°C durante 20 horas. Já, o antioxidante sintético TBHQ apresentou maior eficiência no teste acelerado em estufa a 60°C por 12 dias.

A mistura do extrato de gengibre com o TBHQ, que foi utilizada neste estudo para avaliar o sinergismo entre antioxidantes natural e sintético, não demonstrou resultados satisfatórios com relação à proteção do óleo. Este tratamento não melhorou a eficiência em retardar a oxidação lipídica, tanto na termoxidação como no teste de estocagem em estufa, nas concentrações utilizadas. Estes resultados demonstraram que o efeito sinérgico do antioxidante sintético com o natural não foi eficiente.

Vale ainda ressaltar a importância de se estudar mais detalhadamente a composição química do gengibre e as substâncias responsáveis pelo seu mecanismo de atuação contra a oxidação lipídica, com a aplicação de técnicas de extração e quantificação adequadas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIOVE – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÓLEOS VEGETAIS. Disponível em: <http://www.abiove.com.br>. Acesso em: 13 de Março, 2007.

ALMEIDA-DORIA, R. F.; REGITANO-D'ARCE, A. B. Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 20, n. 2, p. 197-203, 2000.

ALMEIDA, D. T. et al. Revisão de literatura: aspectos gerais do processo de fritura de imersão. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 20, n. 188, p. 42-47, 2006.

AMAROWICZ, R. et al. Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. **Food Chemistry**. London, v. 84, n. 4, p. 551-562, 2004.

ANS, V. G.; MATTOS, E. S.; JORGE, N. Avaliação da qualidade dos óleos de fritura usados em restaurantes, bares e similares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 19, n. 3, p. 1-16, 1999.

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

AOCS – AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, 1993.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2ª ed. Viçosa: UFV, 1999. p. 95-126.

ARO, A. et al. Trans fatty acids in dietary fats and oils from 14 European countries: The TRANS-FAIR study. **Journal of Food Composition and Analysis**. San Diego, v. 11, n. 2, p. 137-149, 1998.

ARUOMA, O. I. Free radicals and food. **Chemistry in Britain**. London, v. 29, n. 3, p. 210-214, 1993.

AZIZAH, A. H.; RUSLAWATI, N. M. N.; TEE, T. S. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. **Food Chemistry**. London, v. 64, n. 2, p. 199-202, 1999.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4<sup>a</sup> ed. Jaboticabal: Funep, 2006. 237 p.

BARRERA-ARELLANO, D. et al. Loss of tocopherols and formation of degradation compounds at frying temperatures in oils differing in the degree of unsaturation and natural antioxidant content. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. Wiley. v. 82, n. 14, p. 1696-1702, 2002.

BARRERA-ARELLANO, D.; ORSI-BERTON, M. A. ; ESTEVES, W. Determinação do período de indução de óleos vegetais pelo Rancimat. **Óleos e Grãos**. São Paulo, v. 11, p. 12-15, 1993.

BENZIE, I. F. F. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurement and dietary influences. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**. Basingstoke, v. 47, n. 3, p. 233-261, 1996.

BLUMENTHAL, M. M. Una nueva perspectiva en la química y física de las frituras por inmersión. **Alimentaria**. Madrid, v. 28, n. 9, p. 144-148, 1991.

BOSKOU, D. Non-nutrient antioxidants and stability of frying oils. In: BOSKOU, D.; ELMADFA, I. **Frying of food**: oxidation, nutrient and non-nutrient antioxidants, biologically active compounds and high temperatures. Lancaster: Technomic Publishing, 1999, p. 183-204.

BOTTERWECK, A. A. et al. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands cohort study. **Food and Chemical Toxicology**. Oxford, v. 38, n. 7, p. 599-605, 2000.

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

BRANEN, A. L. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole and butylated hydroxy toluene. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 52, n. 2, p. 59-63, 1975.



BRASIL. Resolução nº 482, de 23 de setembro de 1999. Regulamento de controle de qualidade do óleo de soja. Diário Oficial da União, Brasília-DF, v. 196. 13 out. 1999. Seção I, p. 82-87.

BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução nº 04/88. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTAÇÃO, *o m a s g l o A l m e n t o*. São Paulo: ABIA, 2001. v. 1, p. 3-26.

CARVALHO JÚNIOR, R. N. et al. Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. *o l u r e I F l u*. New York, v. 35, n. 3, p. 197-204, 2005.

CELLA, R. C. F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. Comportamento do óleo de soja refinado utilizado em fritura por imersão com alimentos de origem vegetal. *o l u r e A l m e n t o*. Campinas, v. 22, n. 2, p. 111-116, 2002.

CERRUITTI, P. P. Oxidant stress and carcinogenesis. *El o l u r e I l u r e g t o*. Oxford, v. 21, n. 1, p. 1-11, 1991.

CHEW, B. P. Antioxidant vitamins affected food animal immunity and health. *o l u r e*. Bethesda, v. 125, n. 6, p. S1804-S1808, 1993. Suplemento.

CLARK, W. L.; SÉRBIJA, G. W. Safety aspects of frying fats and oil. *o l u r e*. Chicago, v. 45, n. 2, p. 84-90, 1991.

COPPEN, P. P. The use of antioxidants. In: ALLEN, J. C.; HAMILTON, R. J. *R e l y o o*. 3<sup>th</sup> ed., London: Blackie Academic and Professional. 1994, p. 84-103.

CORRÊA-JÚNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. *o l u r e*. 2<sup>a</sup> ed. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 151 p.

COSGROVE, J. P.; CHURCH, D. F.; PRYOR, W. A. The kinetics of autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *o l u r e*. Champaign, v. 22, n. 5, p. 299-304, 1987.

CUESTA, C. et al. Modificaciones de un aceite de oliva durante las frituras sucesivas de patatas. Correlaciones entre distintos índices analíticos y de evaluación global de la degradación. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**. Valencia, v. 31, n. 4, p. 523-531, 1991.

CUVELIER, M. E.; BERSET, C.; RICHARD, H. Antioxidant constituents in sage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, v. 42, n. 3, p. 665-669, 1994.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. **The families of the monocotyledons**. New York: Springer, 1985, p. 360-364.

DELMAS-BEAUVIEUX, M. C. et al. The enzymatic antioxidant system in blood and glutathione status in human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients effects of supplementation with selenium or  $\beta$ -carotene. **American Journal of Clinical Nutrition**. Bethesda, v. 64, n. 1, p. 101-107, 1996.

DEL VALLE, J. M.; AGUILLERA, J. M. Review: high pressure CO<sub>2</sub> extraction. Fundamentals and applications in the food industry. **Food Science and Technology International**. London, v. 5, n. 1, p. 1-24, 1999.

de MAN, J.M.; TIE, F.; de MAN, L. Formation of short chain volatile organic acids in the automated OM method. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Champaign v. 64, n. 7, p. 993-996, 1987.

DOBARGANES, M. C.; PÉREZ-CAMINO, M. C.; MÁRQUEZ-RUIZ, G. High performance size exclusion chromatography of polar compounds in heated and non heated fats. **Fat Science Technology**. [S.l.], v. 90, p. 308-311, 1988.

DOBARGANES, M. C.; VELASCO, J.; DIEFFENBACHER, A. Determination of polar compounds, polymerized and oxidized triacylglycerols, and diacylglycerols in oils and fats. **Pure and Applied Chemistry**. Oxford, v. 72, n. 8, p. 1563-1575, 2000.

DONNELLY, J. K.; ROBINSON, D. S. Invited review: free radical in foods. **Free Radical Research**. Yverdon, v. 22, n. 2, p. 147-176, 1995.

DROZDOWSKI, B.; SZUKALSKA, E. A rapid instrumental method for the evaluation of the stability of fats. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 64, n. 7, p. 1008-1011, 1987.

DUTTON, H. J. Analysis of fats and oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 55, p. 806-808, 1978.

ESTERBAUER, H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. **American Journal of Clinical Nutrition**. Bethesda, v. 57, n. 5, p. S779-S786, 1993. Suplemento.

FARIA, J. A. F. Antioxidantes e estabilidade de óleos comestíveis. **Óleos e Grãos**. Curitiba, v. 20, n. 4, p. 32-34, 1994.

FERRARI, C. K. B. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 11, n. 1, p. 3-14, 1998.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J.; Oxidants, oxidative stress and biology of ageing. **Nature**

GORDON, M. Measuring antioxidant activity. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in food: practical applications**. Boca Raton: Woodhead Publishing, 2001, p. 71-84.

GOVINDARAJAN, V. S. Ginger: chemistry, technology and quality evaluation (part I). **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Boca Raton, v. 17, n. 1, p. 1-96, 1982.

GRAY, J. I. Measurement of lipid oxidation: a review. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 55, p. 538-546, 1978.

GRIGONIS, D. et al. Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*). **Journal of Supercritical Fluids**. New York, v. 33, n. 3, p. 223-233, 2005.

GUNSTONE, F. D. **Fatty acid and lipid chemistry**, London: Blackie Academic & Professional, 1996, p. 1-60.

GUTIÉRREZ-ROSALES, F. Determinación de la estabilidad oxidativa de aceites de oliva vírgenes: comparación entre el método del oxígeno activo (A.O.M.) y el método Rancimat. **Grasas y Aceites**. Sevilla, v. 40, n. 1, p. 1-5, 1989.

GUTIÉRREZ, J. B. **Ciencia y tecnología culinaria**. Madrid: Ediciones Dias de Santos S. A., 1998.

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

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods in Enzymology**. New York, v. 186, n. 1, p. 1-85, 1990.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; CROSS, C. E. Free radicals, antioxidants and human diseases: where are we now?. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**. Saint Louis, v. 119, n. 6, p. 598-620, 1992.

HALLIWELL, B. et al. The characterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**. Oxford, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.

HINNEBURG, I.; DORMAN, H. J. D.; HILTUNEN, R. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. **Food Chemistry**. London, v. 97, n. 1, p. 122-129, 2005.

HSIEH, R. J.; KINSELLA, J. E. Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. **Advances in Food and Nutrition Research**. San Diego, v. 3, p. 233-341, 1989.

HU, Q.; HUH, Y.; XU, J. Free radical-scavenging activity of Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) extracts by supercritical carbon dioxide extraction. **Food Chemistry**. London, v. 91, n. 1, p. 85-90, 2005.

IBÁÑEZ, E. et al. Supercritical fluid extraction and fractionation of different preprocessed rosemary plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, v. 47, n. 4, p. 1400-1404, 1999.

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.

JASWIR, I.; CHE-MAN, Y. B.; KITTS, D. D. Use of natural antioxidants in refined palm olein during repeated deep-fat frying. **Food Research International**. Barking, v. 33, n. 6, p. 501-508, 2000.

JEONG, S. H. et al. Effects of butylated hydroxyanisole on the development and functions of reproductive system in rats. **Toxicology**. Limerick, v. 208, n. 1, p. 49-62, 2005.

JITOE, A. et al. Antioxidant activity of tropical ginger extract and analysis of the contained curcuminoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, v. 40, n. 8, p. 1337-1340, 1992.

JOLY, A. B. **Botânica**. 7ª ed. São Paulo: Editora Nacional, 1985, p. 722-723.

JORGE, N.; LOPES, M. R. V. Determinação de compostos polares totais em óleos e gorduras de frituras. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 19, n. 134, p. 46-50, 2005.

JULKUNEM-TIITO, R. Phenolic constituents in the leaves of northern willows, methods for the analysis of certain phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, v. 33, n. 2, p. 213-217, 1985.

JUNTACHOTE, T. et al. Antioxidative effect of added dried Holy basil and its ethanolic extracts on susceptibility of cooked ground pork to lipid oxidation. **Food Chemistry**. London, v. 100, n. 1, p. 129-135, 2007.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**. Oxford, v. 37, n. 2, p. 153-161, 2002.

KEHRER, J. P. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. **Critical Reviews in Toxicology**. Boca Raton, v. 23, n. 1, p. 21-48, 1993.

KIKUGAWA, K.; KUNUGI, A.; KURECHI, T. Chemistry and implications of degradation of phenolic antioxidants. In: HUDSON, B. J. F. **Food antioxidants**. London: Elsevier Applied Science, 1990, p. 65-98.

KIKUZAKI, H.; NAKATANI, N. Antioxidant effects of some ginger constituents. **Journal of Food Science**. Chicago, v. 58, n. 6, p. 1407-1410, 1993.

KIM, S. Y. et al. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grapes seed extracts. **Food Chemistry**. London, v. 97, n. 3, p. 472-479, 2005.

KRINGS, U. et al. Antioxidant activity of extracts from roasted wheat germ. **Food Chemistry**, London, v. 71, n. 1, p. 91-95, 2000.

KRUMMEL, D. Lipídeos. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 9ª ed. São Paulo: Roca, 1998, p.49-62.

KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. **Free Radical Biology and Medicine**. New York, v. 12, n. 1, p. 63-81, 1992.

KUBOW, S. Lipid oxidation products in food and atherogenesis. **Nutrition Reviews**. New York, v. 51, n. 2, p. 33-40, 1993.

KULAS, E.; ACKMAN, R. Different tocopherols and the relationship between two methods for determination of primary oxidation products in fish oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, v. 49, n. 4, p.1724-1729, 2001.

LANGNER, E.; GREIFENBERG, S.; GRUENWALD, J. Ginger: history and use. **Advances in Therapy**. New York, v. 15, n. 1, p. 25-44, 1998.

LAUBLI, M. W. ; BRUTTEL, P. A. Determination of the oxidative stability of fats and oils: comparison between the active oxygen method (AOCS Cd12 57) and the Rancimat method. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 63, n. 6, p. 792-795, 1986.

LAWSON, H. **Food oils and fats: technology, utilization, and nutrition**. New York: Chapman & Hall, 1994, 339 p.

LEE, Y. B.; KIM, Y. S.; ASHMORE, C. R. Antioxidant properties in ginger rhizome and its application to meat products. **Journal of Food Science**. Chicago, v. 51, n. 1, p. 20-23, 1986.

LIMA, J. R.; GONÇALVES, L. A. G. Avaliação analítica de óleos utilizados em processo de fritura. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 29, n. 2, p. 186-192, 1995.

LINDSAY, D. G. Dietary contribution to genotoxicity risk and its control. **Food and Chemical Toxicology**. Oxford, v. 34, n. 4, p. 423-431, 1996.

LUENGTHANAPHOL, S. et al. Extraction of antioxidants from sweet Thai tamarind seed coat-preliminary experiments. **Journal of Food Engineering**. Essex, v. 63, n. 3, p. 247-253, 2004.

MALACRIDA, C. R.; JORGE, N. Alterações do óleo de soja e da mistura azeite de dendê-óleo de soja em frituras descontínuas de batatas *Chips*. **Brazilian Journal of Food and Technology**. Campinas, v. 6, n. 2, p. 245-249, 2003.

MALCOLMSON, L. J. et al. Sensory stability of canola oil: present status of shelf life studies. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 71, n. 4, p. 435-440, 1994.

MANSOUR, E. H.; KHALIL, A. H. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. **Food Chemistry**. London, v. 69, n. 2, p. 135-141, 2000.

MARINOVA, E. M.; YANISHLIEVA, N. V. I. Antioxidant activity of extracts from selected species of the family *Lamiaceae* in sunflower oil. ) RRG &KHPLVMU\ London, v. 58, n. 3, p. 245-248, 1997.

MÁRQUEZ-RUIZ, G.; PÉREZ-CAMINO, M. C.; DOBARGANES, M. C. Evaluación nutricional de grasas termoxidadas y de fritura. \*UDVDV \ \$FHLWHV. Sevilla, v. 41, p. 432-439, 1990.

MASSON, L. et al. Comportamiento de aceites poliinsaturados en la preparación de patatas fritas para consumo inmediato: formación de nuevos compuestos y comparación de métodos analíticos. \*UDVDV \ \$FHLWHV. Sevilla, v. 48, n. 5, p. 273-281, 1997.

MEHTA, U.; SWINBURN, B. A review of factors affecting fat absorption in hot chips. &ULWFD0 5HYLHZV LQ ) RRG 6FLHQFH DQG 1XWULWRQ. Boca Raton, v. 41, n. 2, p. 133-154, 2001.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. %R0HWLP GD 6RFLHGDPH %UDVLOHLUD GH &LrQFLD H 7HFQR0RJLD GH \$0LPHQWRV. São Paulo, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MENSOR, L. L. et al. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. 3K\WRWKHUDS\ 5HVHDUFK. London, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.

MONFERRER, A.; VILLALTA, J. La fritura desde un punto de vista práctico I. \$0LPHQWDFLyQ (TXLSRV \ 7HFQR0RJLD. Madrid, v. 21, n. 3, p. 85-90, 1993.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. ) RRG &KHPLVMU\ London, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.

MURCIA, M. A. et al. Antioxidant evaluation in dessert spices compared with common food additives. Influence of irradiation procedure. -RXUQD0 RI \$JULFX0WXUD0 DQG ) RRG &KHPLVMU\ Easton, v. 52, n. 7, p. 1872-1881, 2004.

NAKATANI, N. Antioxidants from spices and herbs. In: SHAIKI, F. 1DWXUD0 DQWLRLGLGDQIV: chemistry, health effects and applications. Champaign: AOCS Press, 1997. p. 64-75.



NAWAR, W. W. Lipids. In: FENNEMA, O. R. **Food chemistry**. 3<sup>th</sup> ed. New York: Marcel Dekker, 2000. p. 225-319.

NÓBREGA, L. P. et al. Comparison of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin obtained with ethanol and isopropanol with that obtained with pressurized CO<sub>2</sub>. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 17, n. 4, p. 408-412, 1997.

NOGUCHI, C.; NIKKI, E. Phenolic antioxidants: a rationale for design and evaluation of novel antioxidant drugs for atherosclerosis. **Free Radical Biology and Medicine**. New York, v. 28, n. 10, p. 1538-1546, 2000.

OARADA, M. et al. Degeneration of lymphoid tissues in mice with the oral intake of low molecular weight compounds formed during oil autoxidation. **Agriculture and Biological Chemistry**. Tokyo, v. 52, n. 8, p. 2101-2102, 1988.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. vol I. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 33-49.

ORTHOEFER, F. T. Vegetable oils. In: HUI, Y. H. **Bailey's industrial oil and fat products**. 5<sup>th</sup> ed. New York: John Wiley Interscience, 1996. v. 1, cap. 2, p. 19-43.

PAUL, S.; MITTAL, G. S. Regulating the use of degraded oil/fat in deep-fat/ oil food frying. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Boca Raton, v. 37, n. 7, p. 635-662, 1997.

PRATT, D. E. Antioxidants: technical and regulatory considerations. In: HUI, Y. H. **Bailey's industrial oil and fat products**. 5<sup>th</sup> ed. New York: John Wiley, 1996. v. 3, cap. 13, p. 523-545.

POZO-DÍEZ, R. M. **Estudio del proceso de fritura de alimentos frescos y congelados prefritos. Comportamiento del aceite de semilla de girasol de alto contenido en ácido oleico**. 1995, 338 f. Tese (Doutorado em Farmácia) - Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá de Henares, Alcalá de Henares, 1995.

RABABAH, T. M.; HETTIARACHCHY, N. S.; HORAX, R. Total phenolics and antioxidant activities of fenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, gotu kola, and ginkgo extracts, vitamin E, and tert-butylhydroquinone. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, v. 52, n. 16, p. 5183-5186, 2004.

RAMALHO, V. C. **Ação antioxidante de  $\alpha$ -tocoferol e extrato de alecrim em óleo de soja submetido à termoxidação**. 2005. 155 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto-SP, 2005.

RAVENTÓS, M.; DUARTE, S.; ALARCÓN, R. Application and possibilities of supercritical CO<sub>2</sub> extraction in food processing industry: an overview. **Food Science and Technology International**. London, v. 8, n. 5, p. 269-284, 2002.

REHMAN, Z. U.; HABIB, F.; SHAH, W. H. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. **Food Chemistry**. London, v. 85, n. 2, p. 215-220, 2004.

REHMAN, Z. U.; SALARIYA, A. M; HABIB, F. Antioxidant activity of ginger extract in sunflower oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. Wiley, v. 83, n. 7, p. 624-629, 2003.

REISCHE, D. W.; LILLARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. Antioxidants. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. **Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. 2<sup>th</sup> ed. New York: Marcel Dekker, 2002, cap. 15, p. 489-516.

RIZNER-HRAS, A. et al. Comparison of antioxidative and synergistic effect of rosemary extract with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food Chemistry**. London, v. 71, n. 2, p. 229-233, 2000.

RUTH, S. M. V.; SHAKER, E. S.; MORRISSEY, P. A. Influence of methanolic extracts of soybean seeds and soybean oil on lipid oxidation in linseed oil. **Food Chemistry**. London, v. 75, n. 2, p. 177-184, 2001.

SAGUY, S. I.; DANA, D. Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. **Journal of Food Engineering**. Essex, v. 56, n. 2-3, p. 143-142, 2003.

SALINAS, R. D. **Alimentos e nutrição: introdução a bromatologia**. 3<sup>a</sup> ed., Porto Alegre: Artmed, 2002. p.99-131.

SANÍBAL, E. A. A.; MANCINI-FILHO, J. Alterações físicas, químicas e nutricionais de óleos submetidos ao processo de fritura. **Food Ingredients**. São Paulo, ed. 18, p. 52, 2002.

SHAIIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Boca Raton, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SHAIIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics**: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: Technomic Publishing, 1995. p. 281-319.

SHAIIDI, F. Natural antioxidants: an overview. In: SHAIIDI, F. **Natural antioxidants**: chemistry, health effects and applications. Champaign: AOAC, 1996, cap. 1, p. 1-11.

SHOBANA, S.; NAIDU, K. A. Antioxidant activity of selected Indian spices. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**. Edinburgh, v. 62, n. 2, p. 107-110, 2000.

SHYAMALA, B. N. et al. Leafy vegetable extracts – antioxidant activity and effect on storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. Berlin, v. 6, n. 2, p. 239-245, 2005.

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

SIMIC, M. G.; JAVANOVIC, S. V. Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. In: HO, C. T.; OSAWA, T.; HUANG, T. M.; ROSEN, R. T. **Food phytochemicals for cancer prevention**. Washington: American Chemical Society, 1994. p. 20-33.

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

SIPOS, E. F.; SZUHAJ, B. F. Soybean oil. In: HUI, Y. H. **Bailey's industrial oil and fat products**. 5<sup>th</sup> ed. New York: John Wiley Interscience, 1996. v. 2, cap. 11, p. 497-601.

SLATER, T. F. et al. Free radical mechanisms in relation to tissue injury. **Proceedings of the Nutrition Society**. London, v. 46, n. 1, p. 1-12, 1987.  
SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidante. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SONNTAG, N. O. V. Structure and composition of fats and oils. In: SWERN, D. **Bailey's industrial oil and fat products**. 4<sup>th</sup> ed. New York: John Wiley Interscience, 1979. v. 1, p. 1-98.

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**. London, v. 88, n. 3, p. 411-417, 2004.

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.

STEVENSON, S. G.; VAISEY-GENSER, M.; ESKIN, N. A. M. Quality control in the use of deep frying oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 61, n. 6, p. 1102-1108, 1984.

STOILOVA, I. et al. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). **Food Chemistry**. London, v. 102, n. 3, p. 764-770, 2007.

TAKEOKA, G. R.; FULL, G. H.; DAO, L. T. Effect of heating on the characteristics and chemical composition of selected frying oils and fats. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 45, n. 8, p. 3244-3249, 1997.

TYAGI, V. K. et al. Changes in the characteristics and comparison of the oils during deep-fat frying. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 73, n. 4, p. 499-506, 1996.

TOLEDO, M. C. F.; ESTEVES, W.; HARTMANN, E. M. Eficiência de antioxidantes em óleo de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 5, n. 1, p. 1-11, 1985.

VALLE, J. M. et al. Extraction of boldo (*Peumus boldus* M.) leaves with supercritical CO<sub>2</sub> and hot pressurized water. **Food Research International**. Barking, v. 38, n. 2, p. 203-213, 2005.

VISIOLI, F.; BORSANI, L.; GALLI, C. Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. **Cardiovascular Research**. London, v. 47, n. 3, p. 419-425, 2000.

WAN, P. J. Accelerated stability methods. In: WARNER, K.; ESKIN, N. A. M. **Methods to assess quality and stability of oils and fat-containing foods**. Champaign: AOCS Press, 1995. p. 179-189.

WANASUNDARA, U. N.; SHAIDI, F. Antioxidant and prooxidant activity of green tea extracts in marine oils. **Food Chemistry**. London, v. 63, n. 3, p. 335-342, 1998.

WARNER, K. Chemistry of frying oils. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. **Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. 2<sup>th</sup> ed. New York: Marcel Dekker, 2002. p. 205-221.

WARNER, K.; FRANKEL, E. N.; MOUNTS, T. L. Flavor and oxidative stability of soybean, sunflower and low erucic acid rapeseed oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 66, n. 4, p. 558-564, 1989.

WHEATLEY, R. A. Some trends in the analytical chemistry of lipid peroxidation. **Trends in Analytical Chemistry**. Amsterdam, v. 19, n. 10, p. 617-628, 2000.

WILLETT, W. C.; ASCHERIO, A. Trans fatty acids: are the effects only marginal? **American Journal of Public Health**. Washington, v. 84, n. 5, p. 722-724, 1994.

WILLIAMS, G. M.; IATROPOULOS, M. J.; WHYSNER, J. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. **Food and Chemical Toxicology**. Oxford, v. 37, n. 9-10, p. 1027-1038, 1999.

YAGHMUR, A. et al. Evaluation of argan oil for deep-fat-frying. **Lebensmittel - Wissenschaft und - Technologie**. London, v. 34, n. 3, p. 124-130, 2001.

YANISHLIEVA, N. V. et al. Effect of an ethanol extract from Summer savory (*Satureja hortensis* L) on the stability of sunflower oil at frying temperature. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. Wiley, v. 74, n. 4, p. 524-530, 1997.

YANISHLIEVA-MASLAROVA, N. V. Inhibiting oxidation. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in food: practical applications**. Boca Raton: Woodhead Publishing, 2001, p. 22-70.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A. A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago, v. 49, p. 4083-4089, 2001.

ZANCAN, K. C. et al. Extraction of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) oleoresin with CO<sub>2</sub> and co-solvents: a study of the antioxidant action of the extracts. **Journal of Supercritical Fluids**. New York, v. 24, n. 1, p. 57-76, 2002.

ZANDI, P.; GORDON, M. H. Antioxidant activity of extracts from old teas leaves. **Food Chemistry**. London, v. 64, n. 2, p. 285-288, 1999.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago, v. 49, p. 5165-5170, 2001.

## 8. ANEXOS

ANEXO A – Análise de variância da regressão polinomial para a estabilidade oxidativa do óleo de soja refinado adicionado de extrato etanólico de gengibre.

Causas de variação	G.L.	SQ	QM	F	R <sup>2</sup>
Regressão grau 1	1	20,8749	20,8749	137,2595**	0,9336
Regressão grau 2	1	0,8571	0,8571	5,6360 <sup>NS</sup>	0,9718
Regressão grau 3	1	0,2171	0,2171	1,4273 <sup>NS</sup>	0,9815
Desvios de Regressão	2	0,4141	0,2071	1,3614 <sup>NS</sup>	–
(Tratamentos)	(5)	(22,3632)	4,4726		
Resíduo	6	0,9125	0,1521		

\*\* teste significativo (P < 0,01).

NS teste não significativo (P > 0,05).

Desvio-padrão = 0,3900

Coef. de variação = 2,33%

ANEXO B – Análise de variância para os dados de índice de peróxidos (IP) e dienos conjugados (DC) do Ensaio II.

Causas de variação	G.L.	Quadrados médios	
		IP	DC
Tratamentos	3	1225,6354**	0,1191**
Tempos de aquecimento	4	869,4306**	0,0841**
Tratamentos x Tempos	12	279,2718**	0,0300**
Resíduo	20	0,1061	0,0004
Desvio padrão		0,3257	0,0211
Coef. de variação (%)		3,08	6,20

\*\* teste significativo (P < 0,01).

ANEXO C – Análise de variância para os dados da estabilidade oxidativa (EO), compostos polares totais (CPT), índice de peróxidos (IP) e dienos conjugados (DC) do Ensaio III.

Causas de variação	G.L.	Quadrados médios			
		EO	CPT	IP	DC
Tratamentos	3	140,1895**	122,2506**	1,3294**	0,9455**
Tempos de aquecimento	5	287,2265**	910,2836**	23,5551**	7,1932**
Tratamentos x Tempos	15	9,3233**	16,2590**	0,5867**	0,1205**
Resíduo	24	1,0176	0,1284	0,0816	0,0167
Desvio padrão		1,0088	0,3584	0,2857	0,1291
Coef. de variação (%)		8,28	2,27	9,02	9,41

\*\* teste significativo ( $P < 0,01$ ).



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)