



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA



Reaproveitamento do extrato da torta de girassol como antioxidante em óleo de soja

Autora: Fernanda Walper da Cunha

Orientadora: Prof^a Júlia Ribeiro Sarkis

Co-orientador: Doutorando Ivanor Zardo

Porto Alegre, novembro de 2016

Agradecimentos

Às professoras Júlia e Ligia, pela orientação, suporte e atenção.

Ao Ivanor, pela disponibilidade e todo auxílio.

Aos que se envolveram de alguma forma neste trabalho.

Ao Thiago, pela compreensão e confiança.

Aos meus amigos, e também colegas, que deixaram esses longos anos de curso mais divertidos.

A todos que aguentaram minhas lamentações sobre o TCC durante o semestre.

E aos meus pais, Deisi e Renato, por tudo.

Resumo

A oxidação lipídica é o principal meio de degradação dos óleos e, para prevenir esta reação, antioxidantes sintéticos são amplamente utilizados. Os mais comuns para uso em alimentos são o butil-hidroxitolueno (BHT), butil-hidroxi-anisol (BHA) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ), entretanto eles estão sendo associados a diversos efeitos colaterais e problemas à saúde dos consumidores. A alternativa que vem sendo estudada é o uso de extratos naturais, obtidos, principalmente, de frutas, de vegetais e de sementes, cuja atividade antioxidante está relacionada à presença de compostos fenólicos. Neste contexto, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar a capacidade de um extrato natural, rico em compostos fenólicos, em retardar os efeitos da oxidação de um óleo vegetal. O extrato foi obtido a partir da torta de girassol, e o experimento foi realizado com óleo de soja. Seis amostras com diferentes tratamentos foram estudadas: Controle, sem qualquer adição; antioxidante sintético, com 100 ppm de BHT adicionados; Mistura, 50 ppm de BHT e 50 ppm de compostos fenólicos; e amostras com concentrações de 100, 500 e 1200 ppm de compostos fenólicos. Os tratamentos foram submetidos a um teste de estocagem acelerada, no qual permaneceram em estufa, por 17 dias, a aproximadamente 64 °C. Alíquotas foram coletadas nos dias 3, 6, 10 e 17 e analisadas quanto ao índice de peróxidos, dienos e trienos conjugados. Os resultados indicaram que o extrato é eficiente para atender ao que foi proposto e, quanto maior a concentração de compostos fenólicos, maior é este efeito. O tratamento com 1200 ppm, além de apresentar os melhores resultados durante todas as análises, foi o único que, ao final do processo, apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) quando comparado ao controle, com uma redução de 22% de peróxidos e quase 50 % de trienos conjugados. Para os dienos, não houve diferença estatística entre as amostras.

Lista de Figuras

Figura 2.1 - Produção mundial de óleos vegetais de 1995 a 2014, expressa em 1000 toneladas.	2
Figura 2.2 - Principais óleos e quantidades produzidas por diferentes países em 2014, expressos em 1000 toneladas.	3
Figura 2.3 - Estrutura química genérica de triglicerídeos	3
Figura 2.4 - Fluxograma do processo de obtenção dos óleos.....	4
Figura 2.5 - Esquema do mecanismo de oxidação lipídica	5
Figura 3.1 - Amostras adicionadas de antioxidantes: (a) antes do ultrassom, com a presença de duas fases naquelas que tiveram extrato adicionado; e (b) depois do ultrassom, com essas amostras apresentando turbidez.	12
Figura 3.2 - Formação de duplas ligações conjugadas durante oxidação de lipídios poliinsaturados	13
Figura 4.1 - Amostras submetidas ao teste de estocagem acelerada fotografadas em cada dia de coleta.	15
Figura 4.2 - Amostra de 1200 ppm de compostos fenólicos, no décimo dia, com a presença de sólidos aderidos à superfície do recipiente.	18
Figura 4.3 - Avaliação de alteração na cor entre os dias 10 e 17: (a) das amostras controle (com o primeiro frasco coletado no dia 17 do experimento, seguido de frasco com coleta no dia 10) e sintético (terceiro frasco coletado no dia 17 do experimento, seguido de frasco com coleta no dia 10) e (b) amostras 500 ppm (com o primeiro frasco coletado no dia 17 do experimento, seguido de coleta no dia 10) e 1200 ppm (terceiro frasco coletado no dia 17 do experimento, seguido de coleta no dia 10).	19
Figura 4.4 - Índice de peróxidos (IP), expresso em mEq/1000g de óleo, ao longo dos 17 dias de experimento, para todos os tratamentos realizados.	20
Figura 4.5 - Dienos conjugados, expressos em extinção específica de solução a 1% de óleo no solvente especificado, numa espessura de 1 cm e comprimento de onda 232nm, ao longo dos 17 dias de experimento, para todos os tratamentos realizados.	23
Figura 4.6 - Trienos conjugados, expressos em extinção específica de solução a 1% de óleo no solvente especificado, numa espessura de 1 cm e comprimento de onda 270nm, ao longo dos 17 dias de experimento, para todos os tratamentos realizados.	24

Lista de Tabelas

Tabela 2.1 - Classes de compostos fenólicos	7
Tabela 3.1 - Amostras de óleo preparadas para estudo de estabilidade oxidativa	11
Tabela 4.1 - Índice de peróxidos (mEq/1000 g) com análise de diferenças significativas para todos os tratamentos durante os dias de coleta.	21

Lista de Abreviaturas e Siglas

ABIOVE – Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOCS – American Oil Chemists' Society

BHA – butil-hidroxi-anisol

BHT – butil-hidroxitolueno

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FEDIOL – EU Oil and Proteinmeal Industry

ICTA - Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos

IP – Índice de Peróxidos

LATEPA - Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos

RDC - Resolução de Diretoria Colegiada

TBHQ – terc-butil-hidroquinona

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Lista de Símbolos

R volume (mL) da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N gasto na titulação da amostra no teste de índice de peróxidos

S volume (mL) da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N gasto na titulação do branco no teste de índice de peróxidos

N normalidade da solução de tiosulfato de sódio

f fator da solução de tiosulfato de sódio

m massa (g) pesada da amostra no teste de índice de peróxidos;

E extinção específica ou absortividade

A absorbância

c concentração da solução (g/100mL)

l largura da cubeta (cm)

Sumário

1	Introdução	1
2	Revisão Bibliográfica	2
2.1	Óleos Vegetais	2
2.2	Oxidação	5
2.3	Compostos Fenólicos	7
2.4	Girassol	8
3	Materiais e Métodos	10
3.1	Materiais	10
3.2	Caracterização do Extrato	10
3.3	Teste de Estocagem Acelerada	11
3.4	Índice de Peróxidos	12
3.5	Dienos e Trienos Conjugados	13
3.6	Análise Estatística	14
4	Resultados e Discussões	15
4.1	Caracterização do Extrato	15
4.2	Teste de Estocagem Acelerada	15
4.3	Índice de Peróxidos	20
4.4	Dienos e Trienos Conjugados	22
5	Conclusões e Trabalhos Futuros	26
6	Referências	27

1 Introdução

Óleos são lipídios que se encontram no estado líquido quando em temperatura ambiente. Os óleos vegetais são extraídos, principalmente, de sementes de oleaginosas, sendo suas principais aplicações em fármacos, cosméticos, lubrificantes, tintas, polímeros, combustíveis e na alimentação humana. As moléculas de óleo são formadas por três longas cadeias de ácidos graxos contendo duplas ligações. Podem ser obtidos por meio de prensagem das sementes e/ou extração por solvente, tendo como subproduto a torta e o farelo, respectivamente.

A oxidação, especialmente a autooxidação, é a reação de degradação mais comum em óleos, afetando as propriedades organolépticas, vida de prateleira e qualidade nutricional. É uma reação em cadeia, que pode ser dividida em 3 etapas: iniciação, propagação e término. Basicamente, consiste na formação de um radical, seguido da incorporação de oxigênio com consequente formação de produtos primários e secundários.

A aplicação de antioxidantes é o método mais utilizado para retardar a oxidação. Eles podem atuar de diferentes maneiras, seja evitando a reação em cadeia ou a interrompendo. Os antioxidantes mais comuns são os sintéticos, no entanto, eles vêm sendo associados a problemas, tais como toxicidade e carcinogenicidade. Aliado a esses problemas, a busca dos consumidores por produtos mais naturais está exigindo o desenvolvimento de novas substâncias para serem utilizadas para esse fim.

Diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas para o uso de extratos naturais como antioxidantes. Os extratos podem ser obtidos, principalmente, de frutas, vegetais e sementes. Sua capacidade antioxidante é atribuída à presença de compostos fenólicos, que, além de atuarem na conservação de alimentos, estão relacionados à prevenção de doenças, tais como neurológicas, cardiovasculares, inflamatórias e cancerígenas. Isso se deve à sua habilidade em conter os radicais livres presentes no organismo.

O girassol (*Helianthus annuus L.*) é uma planta de ampla adaptabilidade a diversos climas e solos. Suas principais aplicações estão na produção de biodiesel e óleo comestível. Do processo de extração do óleo, obtêm-se subprodutos com alto teor de proteínas, podendo ser utilizados para alimentação animal. A presença de compostos fenólicos, contudo, pode reduzir a qualidade nutricional do concentrado protéico, podendo ser necessária a remoção desses compostos por extração.

Diante do exposto acima, o objetivo deste trabalho é a aplicação de um extrato, obtido a partir da torta de girassol, em óleo de soja para avaliar sua capacidade de prevenção à oxidação lipídica em óleos. Deste modo, visa-se a uma torta com qualidade nutricional para alimentação animal e à substituição parcial ou completa de antioxidantes sintéticos através do reaproveitamento de um extrato natural.

2 Revisão Bibliográfica

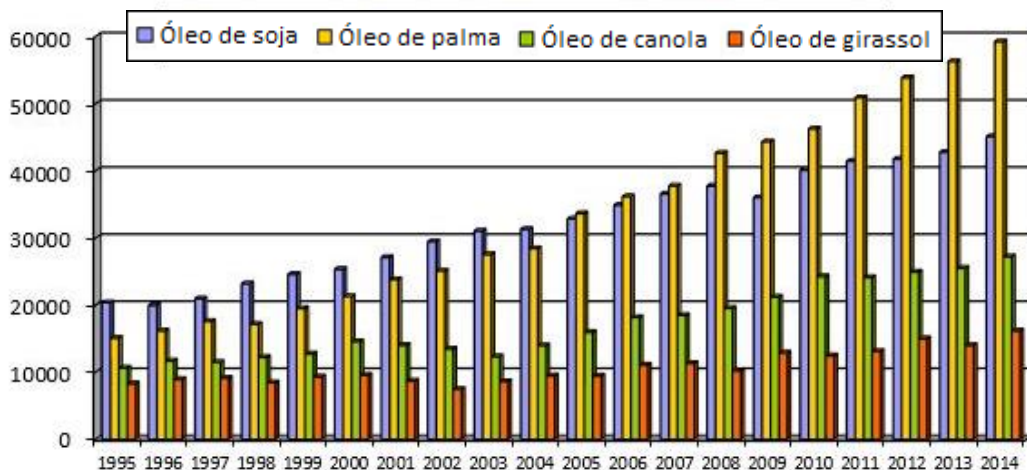
2.1 Óleos Vegetais

Lipídios é o termo designado para diversas substâncias que apresentam solubilidade em solventes orgânicos e são insolúveis em água. São chamados de gordura, se sólidos à temperatura ambiente, e de óleos, quando líquidos (Jorge, 2009). O óleo vegetal é um produto extraído, principalmente, de sementes de oleaginosas. Os mais comuns são o de palma, canola, soja, girassol, coco e amêndoas, mas podem ser obtidos a partir de mais de 350 culturas (Mcnutt e He, 2016).

Óleos vegetais são mais comumente utilizados em cosméticos, fármacos, lubrificantes, tintas, polímeros, combustíveis e na alimentação. Sua utilização em combustíveis acontece na produção do biodiesel, um combustível biodegradável e de fonte renovável, podendo ser mais benéfico ao meio ambiente se comparado aos combustíveis fósseis. Quanto à alimentação, seu principal uso é em frituras. Vale ressaltar que o óleo de cozinha, após sua utilização, tem um poder altamente poluidor, portanto alternativas para seu reaproveitamento, como na produção de sabão e biodiesel, são incentivadas (Balat, 2006; Zucatto *et al.*, 2013; retirado do site FEDIOL^a).

A produção de óleos vegetais no mundo tem aumentado cada vez mais, como é possível observar na Figura 2.1. Isso acontece devido à sua ampla aplicabilidade nas indústrias, mas também por poder ser obtido a partir de diversas fontes, o que o torna amplamente disponível no mundo. Além disso, são óleos de fontes renováveis, natureza não-tóxica, custo competitivo e têm potencial para transformações químicas (Alagi *et al.*, 2016).

Figura 2.1 - Produção mundial de óleos vegetais de 1995 a 2014, expressa em 1000 toneladas.

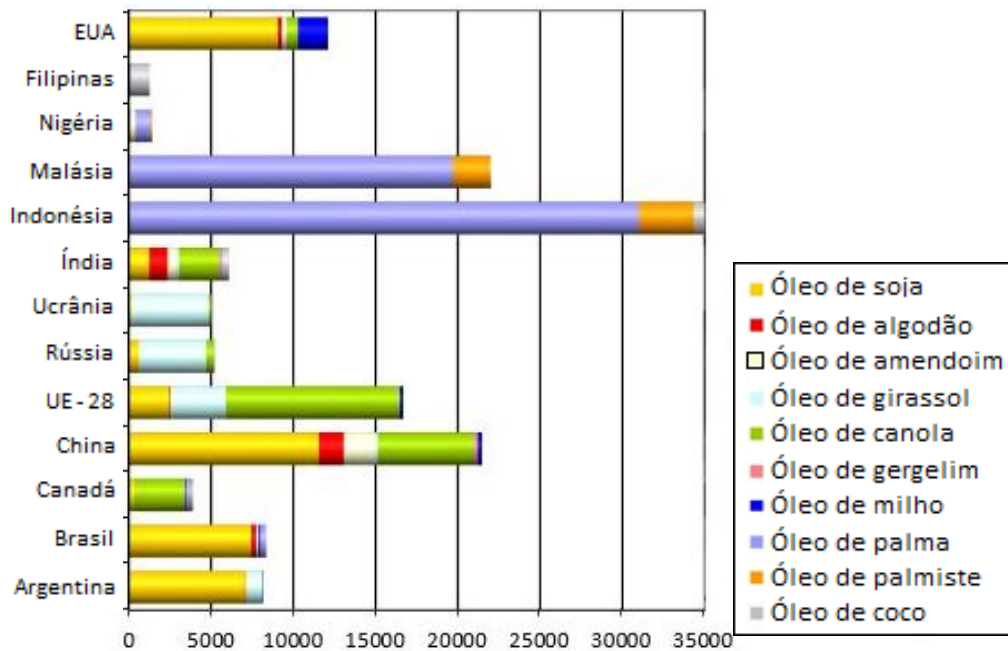


Fonte: retirado e adaptado do site FEDIOL^d.

Quanto ao cenário no Brasil, o país é um dos principais produtores de soja e palma (retirado do site FEDIOL^b), sendo duas culturas importantes para a economia, devido às exportações e à geração de empregos (retirado do site da ABIOVE). Em relação às perspectivas de mercado até 2030, projeta-se que a produção de soja atingirá 165 milhões de toneladas, o que representa um crescimento médio anual de 2,5% de área plantada. Quanto ao cultivo de palma, a área plantada está expandindo e calcula-se que, até o mesmo período, tenha-se a geração de 2,4 milhões de toneladas de óleo (ABIOVE,

2016). Na Figura 2.2, é possível observar os principais óleos vegetais produzidos por diferentes países no ano de 2014.

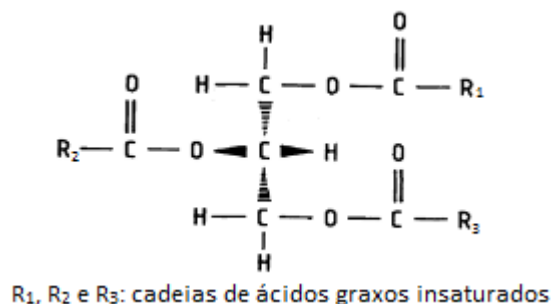
Figura 2.2 - Principais óleos e quantidades produzidas por diferentes países em 2014, expressos em 1000 toneladas.



Fonte: retirado e adaptado do site FEDIOL^d.

Os óleos vegetais são constituídos basicamente por triglicerídeos, que variam de 95 a 98%. O restante é formado por diversos compostos, tais como mono e diglicerídeos, fitoesteróis, tocoferóis, ácidos graxos livres, entre outros (Sripalakit e Saraphanchotiwitthaya, 2016). As moléculas majoritárias dos óleos vegetais são formadas por três longas cadeias de ácidos graxos contendo duplas ligações, conforme ilustrado na figura 2.3. O tamanho da cadeia e as insaturações são os fatores que influenciam nas propriedades físico-químicas dos óleos (Alagi, Choi e Hong, 2016).

Figura 2.3 - Estrutura química genérica de triglicerídeos

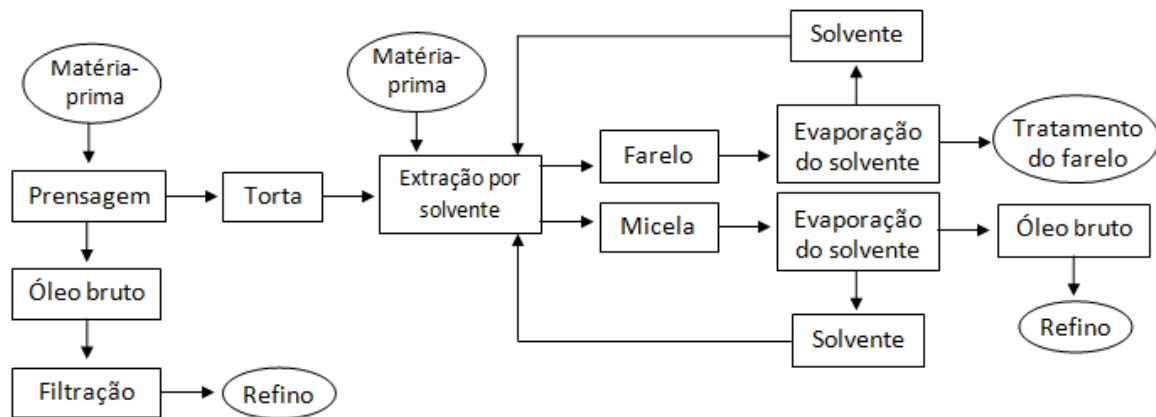


Fonte: adaptado de Conn e Stumpf (2014)

Os métodos para obtenção de óleos mais comuns são a prensagem e a extração por solvente. Quando a matéria-prima apresenta teor de óleo abaixo de 20%, apenas a extração por solvente é utilizada. Nos casos em que o teor é maior, os dois processos são usados em sequência (Ramalho e Suarez, 2013). O processo de obtenção de óleo está apresentado, em forma de fluxograma, na Figura 2.4. O termo torta refere-se ao

subproduto da prensagem; farelo, ao subproduto da extração por solvente; e micela é a mistura do óleo extraído com o solvente (Gioielli, 1996).

Figura 2.4 - Fluxograma do processo de obtenção dos óleos



Fonte: própria autora

A matéria-prima é prensada para extração parcial do óleo. Desta etapa, obtém-se a torta e o óleo bruto. A torta segue para o processo de extração por solvente, enquanto o óleo é encaminhado para purificação. Quando não há necessidade de refino após a prensagem, dependendo da temperatura que ocorreu o processo, o óleo recebe a denominação de virgem (aproximadamente 70°C) ou extravirgem (temperatura ambiente) (Jorge, 2009; Ramalho e Suarez, 2013).

Na extração por solvente, este entra em contato com o óleo remanescente na torta, e formam-se a micela e o farelo. Ambos, ao saírem do extrator, passam por um processo de evaporação do solvente, que retorna ao processo. Os produtos obtidos são o óleo bruto e o farelo. O primeiro também é encaminhado para refino, enquanto o outro segue para tratamento, podendo ser utilizado como ração, por exemplo (Jorge, 2009; Ramalho e Suarez, 2013).

O refino é o processo responsável por tornar o óleo bruto próprio para consumo. Para isso, alguns componentes devem ser removidos a fim de não afetarem características como cor, odor, sabor e vida de prateleira. Este tratamento é constituído por quatro etapas principais, a saber: degomagem, neutralização, clarificação e desodorização (McClements, 2007).

Na degomagem, o objetivo é remover especialmente os fosfolipídeos, proteínas e substâncias coloidais, responsáveis pela formação de gomas. Basicamente, a remoção ocorre pela adição de água, com formação de emulsões e então a mistura é centrifugada. Em seguida, ocorre a neutralização, em que se adiciona hidróxido de sódio ao óleo para reagir com os ácidos graxos livres e formar sabão. Os ácidos graxos são responsáveis por acelerar a oxidação, bem como por causar sabor desagradável e por formar fumaça e espuma (Jorge, 2009; McClements, 2007).

A clarificação, também conhecida por branqueamento, é uma etapa para remoção de coloração indesejada, causada por corantes naturais, como carotenoides e clorofila. Para a remoção, são utilizados adsorventes, como argila, sílica e carvão ativado. Por fim, tem-se a desodorização, etapa destinada para retirada de componentes responsáveis pelo mau odor e sabor, tais como aldeídos, cetonas e álcoois. Esse processo consiste numa

destilação por arraste de vapor, em que os compostos mais voláteis são separados do óleo (Jorge, 2009; McClements, 2007).

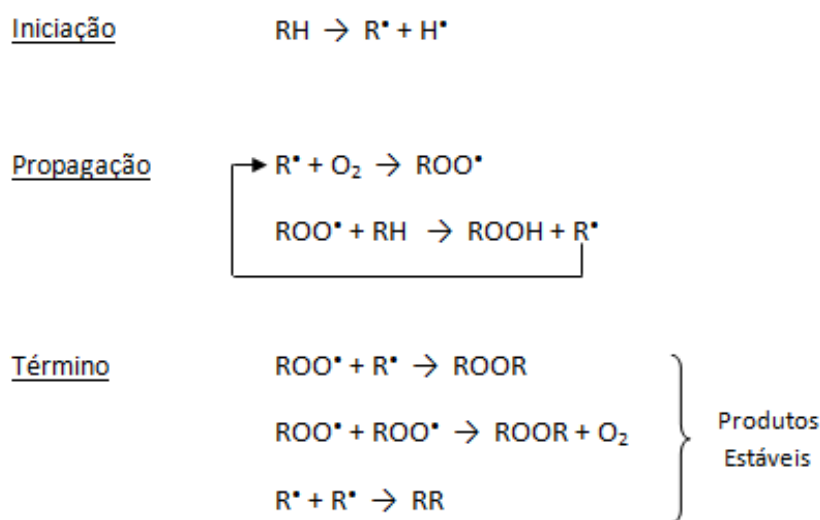
2.2 Oxidação

A oxidação é a alteração mais frequente em lipídeos. Os triacilgliceróis presentes nos óleos são o produto da reação de esterificação de uma molécula de glicerol, com até três de ácidos graxos. Os ácidos graxos insaturados são os componentes dos óleos mais susceptíveis a oxidação (Food Ingredients Brasil, 2014).

Essa reação é um processo espontâneo, que afeta as propriedades organolépticas, a vida de prateleira e a qualidade nutricional, causando descoloração, formação de aromas e sabores desagradáveis e comprometendo a segurança do alimento. Luz, calor, presença de oxigênio e umidade são alguns dos fatores que contribuem para a oxidação. Esta reação pode acontecer por mecanismos de oxidação enzimática, reações hidrolíticas, fotoxidação ou autooxidação, sendo o último o mecanismo mais comum em óleos e o que será estudado neste trabalho (Abdelazim *et al.*, 2013; Ramalho e Jorge, 2006).

A autooxidação é uma reação em cadeia com um mecanismo que envolve um radical livre. A reação é mais rápida em óleos que contêm maior quantidade de ácidos graxos insaturados. A presença de catalisadores - como íons de metais de transição, enzimas, exposição à luz e/ou alta temperatura e grande quantidade de oxigênio disponível - é necessária. As etapas desta reação são: iniciação, propagação e término, sendo as duas últimas simultâneas (Aluyor e Ori-Jesu, 2008; Patil, 2013). As etapas estão representadas na Figura 2.5.

Figura 2.5 - Esquema do mecanismo de oxidação lipídica



onde: RH - Ácido graxo insaturado; R^{\bullet} - Radical livre; ROO^{\bullet} - Radical peróxido e ROOH - Hidroperóxido

Fonte: Ramalho e Jorge (2006)

A primeira etapa é a de iniciação. Nesta fase, ocorre a formação dos radicais livres por meio da retirada de um hidrogênio alílico, devido à ação de algum dos catalisadores anteriormente mencionados. Na fase de propagação, há um elevado consumo de oxigênio e tem-se a formação dos produtos primários da oxidação. O radical formado reage com o oxigênio atmosférico, originando um radical peroxila. Este é considerado um propagador da reação, já que remove um átomo de hidrogênio de outra molécula de

ácido graxo, originando um hidroperóxido e outro radical, que poderá repetir este processo (Jorge, 2009; Ramalho e Jorge, 2006).

Na propagação, começam as alterações das propriedades organolépticas. O hidroperóxido é instável e se decompõe, originando os produtos secundários da oxidação, responsáveis pelo surgimento de odor e sabor desagradáveis. Esses produtos são estáveis e são de cadeias orgânicas menores, tais como álcoois, cetonas, aldeídos, ésteres e outros hidrocarbonetos, sendo também formados na etapa de término. Na etapa final, ocorre a diminuição dos ácidos graxos insaturados, bem como do consumo de oxigênio. Os radicais, então, ligam-se, formando os produtos secundários da oxidação e consolidam a degradação do óleo (Jorge, 2009; Ramalho e Jorge, 2006).

Para retardar essa reação de degradação, o método mais utilizado é a adição de antioxidantes. Esses devem estar presentes em concentrações muito pequenas, serem estáveis, não alterarem características do óleo, como cor, odor e sabor e não serem, e nem formarem, produtos de oxidação tóxicos. Além disso, quando adicionados em alimentos, os antioxidantes devem ser de fácil aplicação, compatíveis com o alimento e estáveis nas condições de processo e armazenamento deste, atentando sempre à legislação vigente (Inanç e Maskan, 2012; Ramalho e Jorge, 2006).

Existem diferentes classificações de antioxidantes, que variam de acordo o seu mecanismo de ação. As duas principais são as seguintes: antioxidantes primários e antioxidantes secundários. Os primários atuam doando um elétron ou um átomo de hidrogênio para os radicais livres, interrompendo, deste modo, a reação em cadeia. Os secundários, por sua vez, possuem diferentes mecanismos de ação, tais como remoção de oxigênio, complexação de íons metálicos, absorção de radiação UV e decomposição dos hidroperóxidos em espécies não radicalares. Há, ainda, as substâncias sinergistas, que possuem pouca atividade antioxidante, entretanto potencializam a ação dos primários quando combinados (Luzia e Jorge, 2009; Ramalho e Jorge, 2006).

Os principais antioxidantes utilizados na indústria alimentícia são o butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ). São sintéticos, possuem boa efetividade, apresentam custo baixo e alta estabilidade, entretanto sua utilização vem sendo questionada. Isso porque estão sendo associados a efeitos colaterais e considerados tóxicos e carcinogênicos. Em alguns países, seu uso é proibido, enquanto que, no Brasil, de acordo com a RDC nº 3, de 15 de janeiro de 2007, o uso para BHA e TBHQ é limitado em 200 mg/kg, e para BHT, em 100 mg/kg (ANVISA, 2007; Inanç e Maskan, 2012).

Tendo em vista os problemas associados aos antioxidantes sintéticos e a crescente busca do consumidor por produtos mais saudáveis e com menos aditivos, diversas pesquisas estão voltadas para estabilização de óleos e gorduras, utilizando antioxidantes naturais. Esses podem ser encontrados em frutas, vegetais, ervas, sementes, cascas e oleaginosas. Os estudos já realizados mostram que antioxidantes naturais, ou uma mistura deles, têm igual ou maior eficiência em prevenir a oxidação do que os sintéticos. Essa atividade se deve, principalmente, à presença de compostos fenólicos encontrados em sua composição (Asnaashari *et al.*, 2015; Embuscado, 2015; Kmiecik *et al.*, 2015).

2.3 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias facilmente encontradas na natureza. Estão presentes, principalmente, em frutas e vegetais, na forma de pigmento ou produtos de metabolismo secundário, para proteção contra micro-organismos e auxiliando no crescimento e reprodução. Eles influenciam na qualidade do alimento, especialmente na cor, na atividade antipatogênica, no aroma, na textura, adstringência e na estabilidade oxidativa (Angelo e Jorge, 2007; Rocha *et al.*, 2011).

Os compostos fenólicos são formados por, pelo menos, um anel aromático, ligado a um ou mais substituintes hidroxílicos, apresentando-se de forma simples ou como estruturas com alto grau de polimerização. Os compostos que apresentam mais de um anel aromático são chamados de polifenóis. A grande variedade dessas substâncias na natureza acontece devido às diversas combinações que podem ser formadas (Angelo e Jorge, 2007; Cheynier, 2012).

Há diversas classificações diferentes utilizadas para esses compostos. De maneira geral, as classes dos fenólicos são apresentadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Classes de compostos fenólicos

Classe	Estrutura
Fenólicos simples, benzoquinonas	C ₆
Ácidos hidroxibenzoicos	C ₆ -C ₁
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C ₆ -C ₂
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanoides	C ₆ -C ₃
Nafitoquinonas	C ₆ -C ₄
Xantonas	C ₆ -C ₁ -C ₆
Estilbenos, antoquinonas	C ₆ -C ₂ -C ₆
Flavonoides, isoflavonoides	C ₆ -C ₃ -C ₆
Lignanas, neolignanas	(C ₆ -C ₃) ₂
Biflavonoides	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂
Ligninas	(C ₆ -C ₃) _n
Taninos condensados	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n

Fonte: Angelo e Jorge (2007)

Dentre as classes mencionadas acima, destacam-se os flavonoides e os ácidos fenólicos. Os flavonoides são compostos de baixa massa molar e estão amplamente presentes na natureza em frutas e vegetais. São encontrados, principalmente, no café, maçã, cebola, vinho tinto e chá. Apresentam estrutura C₆-C₃-C₆, isto é, são formados por dois anéis aromáticos interligados por outros três carbonos, sendo estes, normalmente, uma cadeia heterocíclica. Substituições nos anéis originam diferentes compostos, como flavonóis, flavonas, catequinas, antocianinas e isoflavonas, transformando-os no grupo mais diversificado do reino vegetal (Balasundram *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2010).

Os ácidos fenólicos estão divididos em dois grupos: os hidroxibenzoicos e os hidroxicinâmicos. Os primeiros são derivados do ácido benzoico e apresentam estrutura C₆-C₁, entretanto são menos abundantes nos vegetais. Como exemplo, pode-se citar os ácidos gálico, vanílico e siríngico. Já os hidroxicinâmicos estruturam-se em C₆-C₃ e podem ser exemplificados pelo ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico e sinápico. Normalmente, estão ligados a outros componentes ou moléculas e estão presentes em diversos

alimentos, tais como café, erva mate, maçã, cereais, entre outros (Lee *et al.*, 2016; Oliveira e Bastos, 2011).

Devido à sua atividade antioxidante, os compostos fenólicos estão sendo amplamente estudados. Eles agem como quelantes dos íons metálicos que catalisam a reação ou pelo sequestro de radicais livres. No primeiro, o mecanismo de ação é com atuação dos compostos antes da etapa de iniciação, evitando a formação dos radicais livres. No segundo, o princípio é a interrupção da reação em cadeia, evitando a propagação da oxidação, por meio da doação de um átomo de hidrogênio. Apesar de ter a formação de um radical fenólico, a reação não é prosseguida, devido à estabilização por ressonância do anel aromático (Zamora e Hidalgo, 2016).

Os compostos fenólicos, além da conservação do alimento e de suas propriedades, estão sendo associados à prevenção de diversas doenças, tais como as neurológicas, cardiovasculares, inflamatórias e cancerígenas. Isto porque, nos processos biológicos, há a formação de radicais livres, que podem alterar as células do organismo e, com isso, desenvolverem patologias. Apesar de contribuírem positivamente para a saúde humana e para qualidade do alimento, esses compostos não devem ser utilizados em grandes concentrações, sob o risco de apresentarem interação com proteínas, carboidratos e minerais, além de escurecimento enzimático (Rocha *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2010).

2.4 Girassol

O girassol (*Helianthus annuus L.*) é uma planta originária do continente americano e tem como característica ampla adaptabilidade a diferentes condições de clima e de solo (EMBRAPA, 1996). Isso contribui para que seja uma espécie que se desenvolve bem na maioria dos solos agriculturáveis, podendo ser cultivada em diferentes latitudes e longitudes. Suas principais aplicações estão na indústria de óleos comestíveis, na produção de biodiesel, na alimentação animal (na forma de grãos para pássaros e na forma de farelo para outros animais) e, até mesmo, na ornamentação (retirado do site da EMBRAPA).

Devido à ampla adaptabilidade, o girassol é cultivado no mundo todo, sendo o principal produtor a Rússia, seguido de países do leste europeu e Argentina. A produtividade média mundial é de, aproximadamente, 1300 kg/ha, enquanto, no Brasil, este valor é de 1500 kg/ha. Nacionalmente, ele é cultivado, principalmente nos estados de Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso e Rio Grande do Sul, e estima-se que, tanto a produtividade, quanto a área cultivada, aumentarão nos próximos anos (Conab, 2016; retirado do site da EMBRAPA; retirado do site FEDIOL^c).

Existem dois tipos de semente de girassol: as não oleosas e as oleosas. As primeiras são maiores, com listras pretas e com casca grossa, sendo consumidas em misturas de granolas, bolos, *snacks* e ração para pássaros. Já as oleosas são mais importantes economicamente, pois é possível a obtenção do farelo e do óleo de girassol. A composição das sementes varia de acordo com as condições de cultivo, mas, em geral, são compostas por água, proteína, óleo, carboidratos, minerais e vitaminas (Embrapa, 1994).

O principal método para obtenção do óleo de girassol é por prensagem, seguido da extração por solvente. O óleo é considerado de alta qualidade nutricional devido à boa relação de ácidos graxos poliinsaturados/saturados (65%/11%), sendo a maior parte dos ácidos graxos poli-insaturados composta pelo ácido linoleico, um componente essencial, que não pode ser sintetizado pelo organismo. Para cada tonelada de grãos, em média, obtém-se 400 kg de óleo, 250 kg de casca e 350 kg de torta (EMBRAPA, 1996; retirado do site FEDIOL^c).

Devido à quantidade de proteína, as tortas e os farelos são aproveitados para alimentação animal. Seu uso, porém, deve ser limitado em função da quantidade de fibras oriundas da casca, que podem influenciar no seu valor energético (Louvandini *et al.*, 2007). Além disso, o farelo apresenta teor de lisina muito baixo, sendo necessária uma suplementação para atender às necessidades nutricionais dos animais. Entretanto, conforme estudos já realizados, a inclusão do girassol não influi significativamente na fase de crescimento e terminação dos animais (Costa *et al.*, 2005).

O farelo de girassol apresenta grandes quantidades de componentes fenólicos, sendo o principal o ácido clorogênico, seguido do cafeico (Salgado *et al.*, 2012). O ácido clorogênico, apesar de não ser tóxico, é indesejável, pois, sob processamento em meio aquoso ou alcalino, devido a reações enzimáticas, resulta em coloração verde escura e marrom. Além disso, os compostos fenólicos afetam a qualidade da proteína do girassol, alterando suas propriedades funcionais e organolépticas, sua estabilidade, sua vida de prateleira e reduzem sua digestibilidade (Antoniassi e Gonçalves, 2011; EMBRAPA, 1992).

Não há um método que seja aplicável para extração de todos os compostos fenólicos. Diversos processos são propostos, pois fatores como natureza química, tamanho de partícula, tempo e condições de armazenamento, presença de substâncias interferentes e tipo de solvente influenciam na sua extração. Contudo, solventes orgânicos como metanol, etanol, propanol, acetona, acetato de etila, dimetilformamida e suas combinações, juntamente com água, são frequentemente utilizados para a remoção desses componentes (Naczki e Shahidi, 2004).

Para o ácido clorogênico, segundo Antoniassi e Gonçalves (2011), a extração com metanol é mais eficiente do que com etanol anidro. Devido ao seu caráter tóxico, porém, o extrato com o primeiro solvente teria aplicação na oleoquímica, sendo o etanol mais recomendado para uso na alimentação. Além disso, o aumento do tempo de contato e da temperatura influencia positivamente no rendimento.

Após o processo de extração dos compostos fenólicos, são produtos finais a torta ou farelo (com qualidade nutricional adequada para alimentação animal) e o extrato com componentes fenólicos como resíduo. Estudos comprovam que extratos naturais de gengibre (Andreo e Jorge, 2007), sementes de limão (Luzia e Jorge, 2009), gergelim (Mohdaly *et al.*, 2011) e framboesa (Asnaashari *et al.*, 2015), por exemplo, podem retardar a oxidação lipídica em óleos vegetais. De Leonardis *et al.* (2005) estudaram a atividade antioxidante do extrato de girassol, que, após a extração dos compostos fenólicos, foi submetido à hidrólise. Esse extrato foi adicionado ao óleo de girassol, em que a capacidade antioxidante foi avaliada com o equipamento Rancimat, a 130 °C, mostrando que esse extrato também pode ser eficaz para tal finalidade.

3 Materiais e Métodos

Este capítulo tem como objetivo abordar os materiais e métodos utilizados para avaliar a eficácia do extrato de girassol como antioxidante em óleos. Nele, serão apresentados a metodologia, bem como os equipamentos, os reagentes e os métodos analíticos empregados. Os experimentos e análises ocorreram no Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos (LATEPA) e na Central Analítica, ambos situados no Anexo I da Saúde, no departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

3.1 Materiais

Óleo

O óleo utilizado para o desenvolvimento do trabalho foi o de soja, tendo passado somente pelo processo de degomagem. O óleo foi fornecido pela empresa Oleoplan S.A., situada na cidade de Veranópolis, cuja principal atividade é a produção de óleo para biodiesel. O óleo estava isento de qualquer tipo de antioxidantes.

Antioxidantes

O extrato natural foi obtido do trabalho de doutorado do aluno do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da UFRGS, Ivanor Zardo. Esse extrato foi produzido a partir da torta de girassol, fornecida pela indústria Pazze Indústria de Alimentos LTDA (Panambi, RS, Brasil) como subproduto da produção de óleo de girassol. O método de obtenção do mesmo foi por extração sólido-líquido, com solvente de concentração fixa de 45% de etanol em água. Utilizou-se o extrato concentrado, tendo em vista a redução de volume a ser adicionado nas amostras, a imiscibilidade da água com o óleo e a possibilidade de formação de gomas.

Quanto ao antioxidante sintético, o BHT foi utilizado no desenvolvimento do trabalho para comparação com o antioxidante natural. O BHT foi cedido sob forma de pó pela professora Simone Flores, do ICTA (Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS).

Reagentes

Os reagentes clorofórmio 99,8%, iodeto de potássio P.A., tiosulfato de sódio 0,01N e isoctano P.A. foram adquiridos da NEON (São Paulo, Brasil). Já o ácido acético (glacial) P.A. foi adquirido da Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), enquanto a solução amido 1% foi adquirida da MediQuímica Indústria Ltda. (Rio Grande do Sul, Brasil). O reagente de Folin-Ciocalteu foi adquirido da Fator 1 (Rio Grande do Sul, Brasil), e o carbonato de sódio da empresa Dinâmica Química Contemporânea Ltda. (São Paulo, Brasil).

3.2 Caracterização do Extrato

O método modificado de Singleton *et al.*(1999) foi adotado para determinação dos compostos fenólicos totais, a fim de caracterizar o extrato. Em função deste ser

concentrado, primeiramente diluiu-se a amostra 250 vezes. Adicionou-se 850 μL de água destilada em tubo falcon de 15 mL, seguido de 200 μL do extrato e 100 μL do reagente de Folin-Ciocalteu.

A mistura foi então agitada em vórtex (Phoenix Luterco, modelo AP 56) e aguardou-se 5 minutos até adição de 850 μL de solução carbonato de sódio 7%. Após nova agitação no mesmo equipamento, transferiu-se a amostra para cubetas de plástico, que ficaram uma hora em repouso, à temperatura ambiente e ao abrigo de luz.

A medida da absorbância foi realizada em um espectrofotômetro (PG Instruments Ltd, modelo T80 UV/VIS Spectrometer), no comprimento de onda de 765 nm. Para quantificação do teor de compostos fenólicos da amostra, foi utilizada uma curva de calibração previamente elaborada no LATEPA. A curva de concentração de ácido gálico (mg/L) *versus* absorbância foi elaborada usando soluções de ácido gálico (Sigma Aldrich, St. Louis, Estados Unidos) com concentrações de, aproximadamente, 10, 20, 30, 50, 70 e 80 mg/L. Os resultados são apresentados em miligramas de equivalentes de ácido gálico por litro.

3.3 Teste de Estocagem Acelerada

Para avaliar alterações devido à oxidação, os óleos são comumente submetidos a testes de oxidação acelerada, em que o aumento da temperatura e da pressão de oxigênio, a adição de metais, a exposição à luz e agitação são alguns parâmetros para acelerar a reação. Em condições ambientes, esse processo ocorre de forma muito lenta, dificultando avaliação das mudanças e reprodutibilidade, visto que não há um controle das condições do meio. Deve-se ter a noção, entretanto, de que as características do processo poderão ser alteradas, conforme o parâmetro escolhido e que os valores poderão variar de acordo com a área superficial em contato com o oxigênio. A adição de calor, através do uso de temperatura controlada, é o fator mais utilizado para este tipo de experimento, pois traz menores diferenças em relação às condições geralmente encontradas no armazenamento de óleos (Frankel, 1993).

No experimento realizado, comparou-se a estabilidade oxidativa de seis amostras. Primeiramente, aproximadamente 50 g de óleo foram pesados em recipientes cilíndricos de alumínio, com diâmetro de 7 cm. Dissolveu-se o BHT em etanol a fim de obter uma solução de concentração conhecida para ser adicionada na quantidade necessária ao óleo. Quanto ao extrato da torta de girassol, a concentração de compostos fenólicos no momento da adição já era conhecida, conforme seção 3.2.

As amostras preparadas estão apresentadas na tabela 3.1:

Tabela 3.1 - Amostras de óleo preparadas para estudo de estabilidade oxidativa

Amostra	Adição
Controle	Sem qualquer adição de antioxidante
Sintético	100 ppm de BHT
Mistura	50 ppm de BHT + 50 ppm de compostos fenólicos
100 ppm	100 ppm de compostos fenólicos
500 ppm	500 ppm de compostos fenólicos
1200 ppm	1200 ppm de compostos fenólicos

Os experimentos foram realizados em duplicata. O óleo adicionado de extrato natural ficou heterogêneo, sendo necessária a utilização de ultrassom (Sonics, modelo Vibra-Cell), por 15 segundos, com 90% de potência, o que corresponde à amplitude de onda de 103 μm , para melhor homogeneização. Para manter um padrão de igualdade, todas as amostras passaram por este processo. Os óleos que continham o extrato, após essa homogeneização, apresentaram-se turvos. Fotografias das amostras preparadas estão apresentadas na Figura 3.1.

Figura 3.1 - Amostras adicionadas de antioxidantes: (a) antes do ultrassom, com a presença de duas fases naquelas que tiveram extrato adicionado; e (b) depois do ultrassom, com essas amostras apresentando turbidez.



As amostras foram armazenadas em estufa (De Leo, modelo A3, Brasil), por 17 dias, sob temperatura de 64 ± 2 °C. Tais parâmetros foram escolhidos com base na literatura. É importante ressaltar que, nos dias 11 e 12 do armazenamento, a estufa foi desligada não intencionalmente e a variação destes dias não entrou na média da temperatura. Avaliou-se que a situação pode comprometer somente o valor final das amostras, e não a relação entre as mesmas, de modo que o experimento ainda é válido para o objetivo do trabalho. O óleo foi analisado antes do início da armazenagem e coletas de, aproximadamente, 9 g foram feitas nos dias 3, 6, 10 e 17. As amostras retiradas foram armazenadas refrigeradas a 5 °C, vedadas e ao abrigo de luz até o momento da análise, não excedendo o período de uma semana.

3.4 Índice de Peróxidos

Um método bastante comum para avaliar a oxidação de óleos é medir o índice de peróxidos, visto que é um dos principais produtos iniciais da reação. A técnica consiste na capacidade desses componentes oxidarem um componente indicador. O mais comum é a medição do iodo liberado, a partir da oxidação do iodeto de potássio pelos hidroperóxidos. Este método pode ser empregado para todos os óleos e gorduras (McClements, 2007).

Para realização da análise, baseou-se no método da American Oil Chemists' Society (AOCS, 1990), descrita na 1ª Edição Digital de Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, do Instituto Adolfo Lutz, de 2008. Pesou-se 2,5 gramas de óleo a ser analisado em um frasco Erlenmeyer, seguido da adição e posterior agitação de 15 mL de solução ácido acético-clorofórmio (3:2). Foi, então, adicionado 250 μL de solução saturada de

iodeto de potássio e a solução foi mantida em repouso, ao abrigo de luz, por um minuto. Logo depois, adicionou-se 15 mL de água destilada e agitou-se.

A etapa seguinte constituiu-se na titulação com tiosulfato de sódio, 0,01 N, até diminuição da cor amarela. Neste momento, acrescentou-se 250 µL da solução indicadora de amido 1% e prosseguiu-se com a titulação até desaparecimento da cor azul. Para as análises realizadas no dia 10, reduziu-se à metade as quantidades de amostra e dos reagentes, mantendo-se as mesmas proporções, em função do consumo excessivo de solução titulante de tiosulfato de sódio 0,01 N. Foram preparadas amostras em branco para descontar o valor obtido. As análises foram feitas em duplicata e os resultados foram expressos em miliequivalentes de oxigênio (mEq) por 1000 gramas de óleo. A Equação (1) foi utilizada para cálculo do índice de peróxidos de cada amostra.

$$IP \text{ (mEq/1000 g de amostra)} = \frac{(R-S) \times N \times f \times 1000}{m} \quad (1)$$

onde:

R: volume, em mililitros, da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N gasto na titulação da amostra;

S: volume, em mililitros, da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N gasto na titulação do branco;

N: normalidade da solução de tiosulfato de sódio, no caso 0,01;

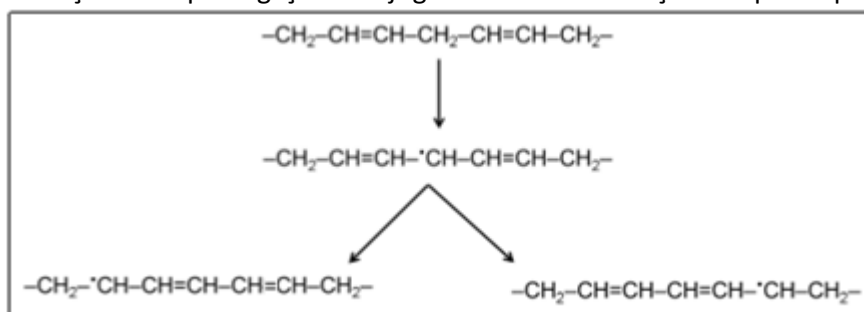
f: fator da solução de tiosulfato de sódio, no caso 1,0109;

m: massa da amostra em gramas.

3.5 Dienos e Trienos Conjugados

Outro método utilizado para avaliar a estabilidade oxidativa dos óleos é pela quantidade de dienos e trienos conjugados. Conforme explicado no Capítulo 2, com a remoção do hidrogênio na etapa inicial, tem-se a formação de um radical e deslocamento das duplas ligações, com conseqüente formação de dienos conjugados (Jorge, 2009). Os dienos conjugados são os produtos primários da oxidação, enquanto que os trienos, os secundários. A formação de dienos conjugados está representada na Figura 3.2.

Figura 3.2 - Formação de duplas ligações conjugadas durante oxidação de lipídios poliinsaturados



Fonte: adaptado de Vieira *et al.* (2015)

A técnica foi baseada no método da American Oil Chemists' Society (AOCS, 2004) e consiste na diluição do óleo em solvente adequado, seguido de medida da absorbância em espectrofotômetro. Os dienos têm um máximo de absorbância em comprimento de onda 232 nm e os trienos, em 270 nm. Deve-se ter o cuidado, entretanto, para que não haja compostos presentes no meio que absorvam em comprimentos de onda próximo, a fim de evitar interferências.

Experimentalmente, pesou-se 100 mg de óleo em um balão volumétrico de 5 mL e completou-se o volume com isoctano. Em seguida, transferiu-se determinado volume deste balão para outro, também de 5mL, a fim de rediluir a amostra, completando-se o volume com isoctano novamente. A quantidade retirada do primeiro balão para rediluição foi medida de forma que a absorbância ficasse dentro da faixa ideal de leitura (de 0,2 a 0,8).

Para medição da absorbância, utilizou-se cubetas de quartzo e espectrofotômetro (PG Instruments Ltd, modelo T80 UV/VIS Spectrometer). As análises foram feitas em duplicata, e a quantidade de dienos e trienos conjugados de cada amostra foi avaliada através da Equação (2), nos comprimentos de onda de 232 e 270 nm, respectivamente. O resultado foi expresso como extinção específica ($E^{1\%}_{1cm}$), ou seja, a absorvidade da solução a 1% de óleo no solvente especificado, numa espessura de 1 cm.

$$E^{1\%}_{1cm} = \frac{A}{c \times l} \quad (2)$$

onde:

$E^{1\%}_{1cm}$: extinção específica ou absorvidade no comprimento de onda λ ;

A: absorbância no comprimento de onda λ ;

c: concentração da solução, em g/100 mL;

l: largura da cubeta, em cm.

3.6 Análise Estatística

Os resultados obtidos das análises foram expressos em função da média e desvio padrão. Para comparar a influência dos tipos de antioxidantes e das diferentes concentrações do extrato, os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey, com nível de 5% de significância. O programa utilizado para realização da análise estatística foi o Statistica 7.0 (StaSoft, USA, 2005). Todos os experimentos e análises foram realizados em duplicata.

4 Resultados e Discussões

Este capítulo é destinado à apresentação dos resultados obtidos no presente trabalho. Inicialmente, está apresentada a caracterização do extrato, seguida do comportamento do óleo quando submetido ao teste de estocagem acelerada. Os resultados a cada dia de coleta são discutidos, e as análises de índice de peróxidos e dienos e trienos conjugados realizadas estão interpretadas.

4.1 Caracterização do Extrato

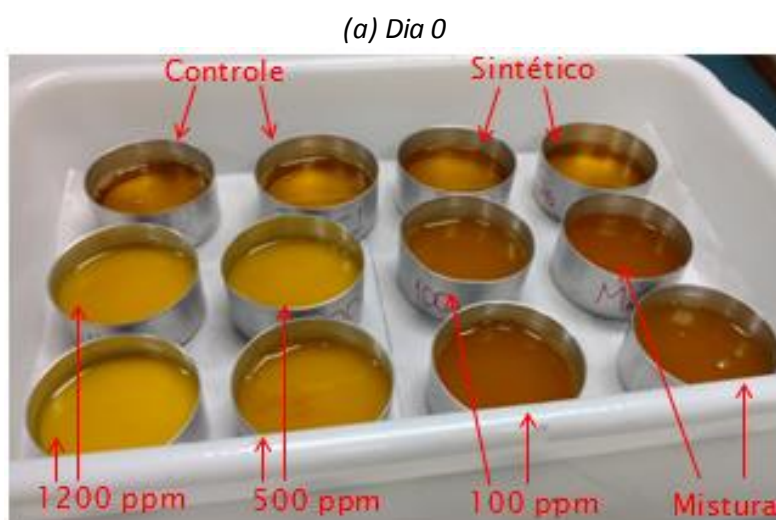
A fim de caracterizar o extrato, determinou-se o teor de compostos fenólicos totais. Para quantificação dos fenólicos presentes no extrato, utilizou-se uma curva padrão previamente preparada. A equação $y = 0,0121 x + 0,0330$ foi gerada a partir desta, em que y é a concentração em miligramas de equivalentes de ácido gálico por litro e x é a absorvância. O coeficiente de correlação foi de 0,9982.

Deste modo, após a obtenção da média dos resultados das análises realizadas em triplicata deste extrato, a concentração de compostos fenólicos totais do extrato da torta de girassol foi de 13.651 ± 41 mg de ácido gálico por litro (mg EAG/L). Esta concentração foi utilizada para calcular o volume de extrato a ser adicionado nas amostras, de acordo com a concentração desejada.

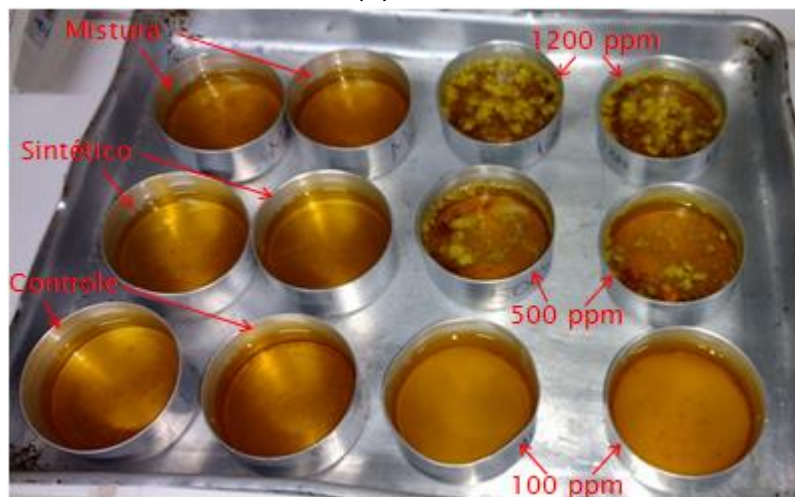
4.2 Teste de Estocagem Acelerada

Em função da oxidação ser um processo lento, os testes acelerados, apesar de não simularem exatamente o mesmo processo oxidativo, são importantes para se ter uma noção do comportamento das amostras quando ocorre reação de oxidação. Eles permitem uma avaliação relativamente rápida da qualidade do óleo ao longo do experimento. Sendo assim, é possível observar desde mudanças na composição deles, até mesmo na cor e odor. Na figura 4.1, são apresentadas fotografias das amostras em cada dia de coleta.

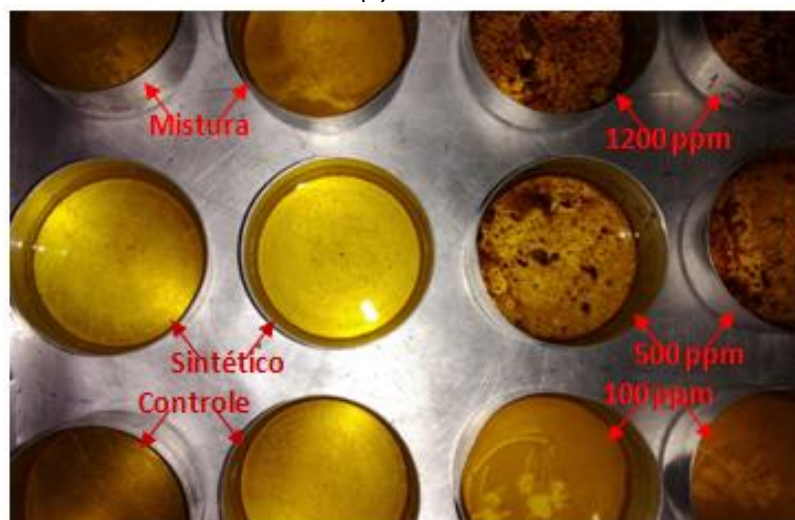
Figura 4.1: Amostras submetidas ao teste de estocagem acelerada fotografadas em cada dia de coleta.



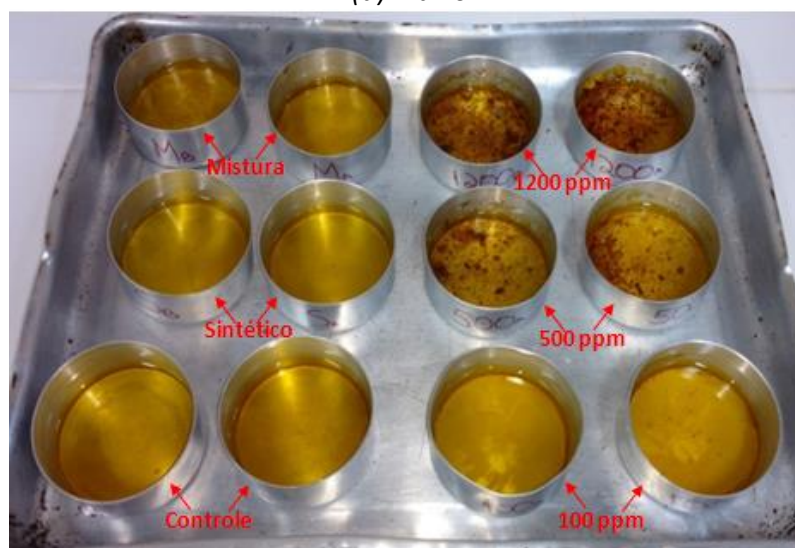
(b) Dia 3

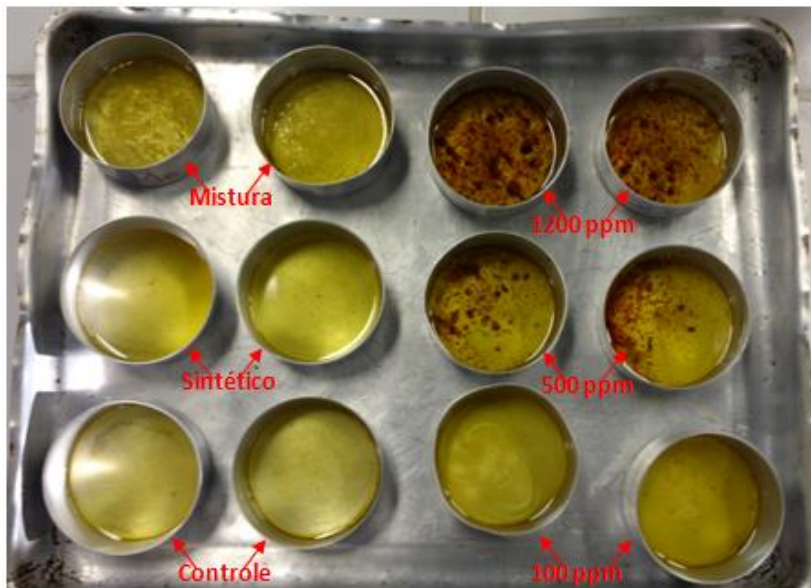


(c) Dia 6



(d) Dia 10



(e) *Dia 17*

Dia 3

Ao coletar as amostras para realização da primeira análise, uma avaliação visual foi feita, em que dois fatores são observados. O primeiro, com bastante destaque, é a presença de sólidos na superfície de algumas amostras, conforme mostra a Figura 4.1 (b).

Os sólidos foram observados nas amostras em que tinham sido adicionadas extrato de torta de girassol. A amostra com 1200 ppm de compostos fenólicos totais foi a que apresentou maior quantidade de sólidos, seguida da de 500 ppm. As amostras de 100 ppm e a Mistura, que contém 50 ppm de extrato, não apresentaram diferenças físicas quando comparadas com a Controle e a adição de antioxidante sintético. Isto indica que, acima de uma determinada quantidade de extrato adicionada, ocorre o surgimento destes sólidos, aumentando sua presença quanto maior é o volume de extrato adicionado.

Ao comparar a Figura 4.1 (b) com a Figura 4.1 (a), referente ao dia zero, observa-se outra alteração física. Na Figura 4.1 (a), após o uso do ultrassom, as amostras com maiores quantidades de extrato ficaram turvas, não apresentando transparência como a Controle e a Sintético. Na Figura 4.1 (b), é possível observar que esta diferença não existe mais e que, desconsiderando a presença dos sólidos citados anteriormente, todas as amostras se apresentam livres de turbidez.

Dia 6

No dia 6, o segundo dia de coleta, foi possível observar que os sólidos presentes na superfície no dia 3 haviam diminuído. Entretanto, ficou visível a presença de precipitados em algumas amostras. A aparência das amostras no dia 6 está exposta na Figura 4.1 (c).

Como era de se esperar devido ao histórico, as amostras que apresentaram precipitados em maior quantidade foram as com concentração de compostos fenólicos de 1200 ppm, seguidas das amostras com 500 ppm. Novamente, as amostras com 100 ppm e

a Mistura não apresentaram resultados tão expressivos, mas é possível notar no fundo do recipiente uma certa deposição. Já as amostras Controle e Sintético não apresentaram alterações.

Dia 10

No décimo dia do experimento, equivalente ao terceiro dia de coleta, não apareceram novas alterações físicas nas amostras. É possível observar que o óleo com 500 e 1200 ppm de compostos fenólicos totais apresenta grande quantidade de precipitados. Conforme as alíquotas das amostras foram sendo retiradas e o nível de óleo foi baixando, os sólidos, que inicialmente estavam na superfície das amostras, ficaram aderidos na parede do recipiente. A Figura 4.1 (d) representa as amostras no dia 10 e a Figura 4.2, os sólidos formados na amostra de 1200 ppm.

Figura 4.2 - Amostra de 1200 ppm de compostos fenólicos, no décimo dia, com a presença de sólidos aderidos à superfície do recipiente.



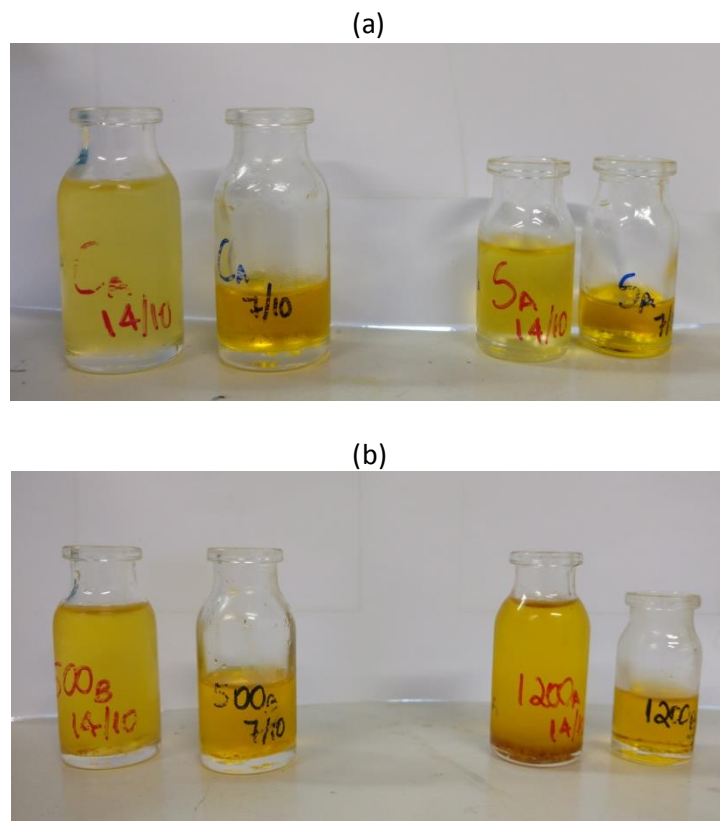
Dia 17

Ao final do experimento, no último dia de coleta, outra alteração física foi observada. As amostras estavam mais claras, sem tanta coloração amarela, e menos viscosas. Tal fato pode ser observado na Figura 4.1 (e), que também evidencia a presença dos precipitados nas amostras 1200 e 500 ppm.

Conforme mencionado no Capítulo 2, como consequência das reações de oxidação, os óleos podem apresentar alterações em sua coloração e viscosidade. Segundo Hrašet *al.* (2000), uma das consequências da oxidação em lipídios é a descoloração do mesmo. Já a viscosidade é afetada por diversos fatores, tais como densidade, ponto de fusão, massa molar e grau de insaturação (Igwe, 2004).

A Figura 4.3 mostra alguns frascos com óleo para representar as alterações visuais que ocorreram entre os dias 10 e 17.

Figura 4.3 - Avaliação de alteração na cor entre os dias 10 e 17: (a) das amostras controle (com o primeiro frasco coletado no dia 17 do experimento, seguido de frasco com coleta no dia 10) e sintético (terceiro frasco coletado no dia 17 do experimento, seguido de frasco com coleta no dia 10) e (b) amostras 500 ppm (com o primeiro frasco coletado no dia 17 do experimento, seguido de coleta no dia 10) e 1200 ppm (terceiro frasco coletado no dia 17 do experimento, seguido de coleta no dia 10).



Na Figura 4.3, é possível observar uma alteração de cor nas amostras. Essa modificação é mais fácil de ser visualizada nas amostras controle e sintético. Na amostra 500 ppm, a alteração na cor não é tão evidente, enquanto que na amostra 1200 ppm, não é possível observar diferença. Isso pode significar que a modificação na cor, de fato, está relacionada com o grau de oxidação das amostras e que, então, a adição do extrato, especialmente em concentração de 1200 ppm de compostos fenólicos, se mostra eficiente para retardar a oxidação do óleo.

Quanto à viscosidade, já é sabido que o aumento da temperatura provoca uma diminuição desta propriedade em óleos. No experimento, entretanto, a diferença na viscosidade só foi percebida no último dia, sendo que não houve alteração na temperatura quando comparada aos outros dias. Ainda, esta alteração estava presente nas amostras que apresentaram descoloração. Segundo Melo (2014), a viscosidade decresce com o grau de insaturação, podendo ser esta uma justificativa para o fenômeno observado, já que a amostra estaria mais oxidada. Quando em temperatura de fritura, entretanto, é esperado escurecimento e aumento na viscosidade dos óleos (Sanibal e Mancini-Filho, 2002).

Em relação à presença dos sólidos, o fato de estarem presentes somente nas amostras de 1200 e 500 ppm leva a crer que a presença do extrato é o que os formou. A quantidade de extrato adicionada também influi e pode estar relacionada à formação de gomas. Como há a presença de água no extrato, quando em contato com o óleo, pode

ocorrer a formação de uma emulsão e posterior formação das gomas. Quando se tentou a evaporação completa de água do extrato, este tornou-se extremamente viscoso, não sendo possível sua utilização. A possibilidade de o sólido ser um produto de reação de polimerização pode ser desprezada em função de terem aparecido somente nas amostras com extrato e logo no início do experimento, quando elas ainda estavam pouco oxidadas.

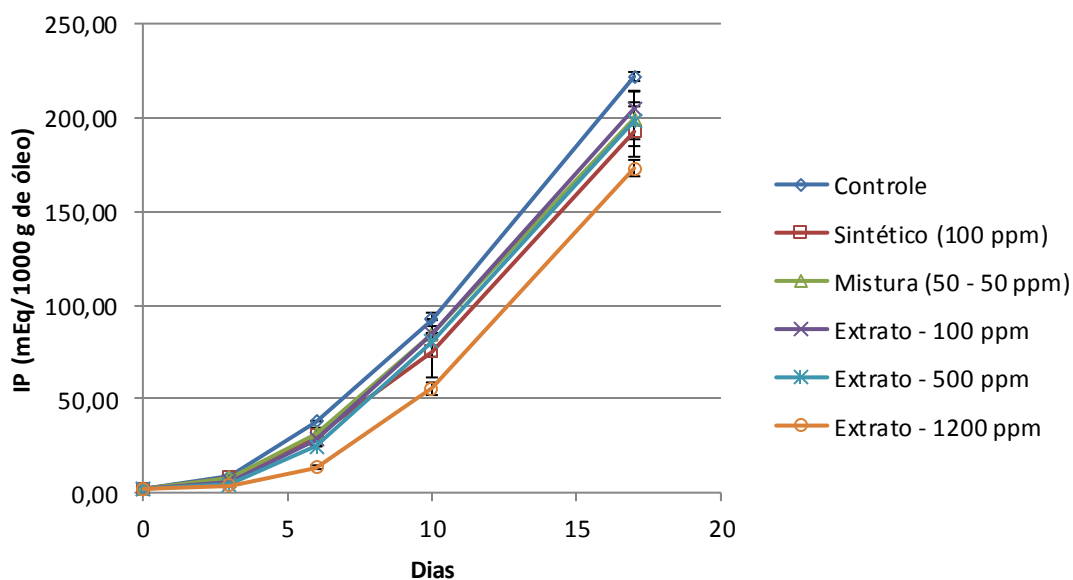
Cabe ressaltar que um dos objetivos em retirar os compostos fenólicos da torta após obtenção de óleo é para que não prejudiquem a qualidade nutricional do subproduto. Essa perda de qualidade se dá por meio da interação e precipitação das proteínas (Balasundram *et al.*, 2006). Na extração dos compostos fenólicos, proteínas também são removidas da torta, permanecendo dissolvidas no meio. Acredita-se que os precipitados observados nas amostras sejam decorrentes da precipitação destas proteínas presentes no extrato.

4.3 Índice de Peróxidos

O índice de peróxidos é um dos métodos mais comuns para avaliar a oxidação de lipídios no estágio inicial. De acordo com a RDC nº. 270, de 22 de setembro de 2005, o limite máximo para óleos e gorduras refinadas é de 10 mEq/kg, enquanto para óleos prensados à frio e não refinados, o limite é de 15 mEq/kg (ANVISA, 2005). A medida dos peróxidos é limitada, devido à rápida decomposição desses elementos, especialmente em temperaturas elevadas. Deste modo, é uma análise que determina a diferença entre formação e decomposição dos peróxidos, aumentando somente quando a taxa de formação supera a de destruição (Poiana, 2012; Silva *et al.*, 1999).

Os resultados obtidos para o índice de peróxidos estão expressos na Figura 4.4, onde tem-se o índice de peróxidos (IP) plotado em função do tempo. Os pontos experimentais deste gráfico foram unidos por retas para facilitar a visualização. A Tabela 4.1, mostra esses valores com seus desvios-padrão seguidos do teste de Tukey para um mesmo dia de análise.

Figura 4.4 - Índice de peróxidos (IP), expresso em mEq/1000g de óleo, ao longo dos 17 dias de experimento, para todos os tratamentos realizados.



Com base neste gráfico, é possível verificar, visualmente, um aumento do índice de peróxidos em todos os tratamentos ao longo do tempo. Segundo a análise de variância, o aumento no índice de peróxidos foi significativo no terceiro dia em relação ao dia zero somente para a amostra Controle. Para as outras, esse valor foi significativo a partir do dia 6.

Com base nesses resultados, é possível observar que, no dia 3, as amostras Controle, Sintético e Mistura não tiveram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre si, apresentando os maiores IP. A amostra contendo 100 ppm de compostos fenólicos apresentou um resultado inferior de IP em relação àqueles obtidos para a Controle, Sintético e Mistura. Já as amostras contendo 500 e 1200 ppm apresentaram os menores resultados e não tiveram diferença significativa entre si. Isso indica que, desde o início, as amostras contendo somente o extrato foram mais eficientes para evitar a formação dos produtos primários de oxidação, indicando efetividade para retardar a reação.

No sexto dia, a amostra com 1200 ppm apresentou o menor valor de IP, com diferença significativa dos demais tratamentos, evidenciando sua eficácia para ser utilizada como antioxidante. Quanto ao restante das amostras, a Sintético, a Mistura e a 100 ppm não mostraram diferenças entre si, o que indica que poderia ser possível a substituição do BHT parcial ou totalmente, sem alterações estatísticas no resultado. As amostras de 100 e 500 ppm não diferiram entre si também.

No décimo dia, o terceiro ponto de coleta, os resultados não foram tão significativos, pois apenas o controle diferiu estatisticamente da amostra de 1200 ppm. Isso evidencia, porém, que este tratamento foi superior a todos os outros em termos de redução da formação de peróxidos e conseqüente retardo da reação de oxidação após 10 dias de estocagem acelerada.

Ao final do experimento, o índice de peróxidos aumentou consideravelmente para todas as amostras, indicando aumento na degradação dos óleos por oxidação. Significativamente, entre as amostras, o resultado repetiu o do dia 10: apenas a amostra Controle e a de 1200 ppm diferiram. A amostra de 1200 ppm apresentou quantidade de peróxidos 22% menor em relação àquela sem adições. Isso confirma que a adição do extrato utilizado é eficaz para retardar a oxidação.

A avaliação das amostras com diferença significativa para os mesmos dias de coleta podem ser melhor visualizadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Índice de peróxidos (mEq/1000g) com análise de diferenças significativas para todos os tratamentos durante os dias de coleta.

	Dia 0	Dia 3	Dia 6	Dia 10	Dia 17
Controle	2,01 ± 0,27	8,57 ± 0,44 ^a	38,17 ± 0,17 ^a	92,27 ± 0,31 ^a	221,8 ± 2,43 ^a
Sintético	2,01 ± 0,27	7,91 ± 0,40 ^a	30,49 ± 0,17 ^b	75,11 ± 13,69 ^{ab}	192,47 ± 13,44 ^{ab}
Mistura	2,01 ± 0,27	7,95 ± 0,45 ^a	31,68 ± 2,93 ^b	84,22 ± 11,71 ^{ab}	199,47 ± 14,76 ^{ab}
100ppm	2,01 ± 0,27	5,69 ± 0,26 ^b	28,38 ± 1,07 ^{bc}	84,94 ± 0,21 ^{ab}	204,76 ± 9,03 ^{ab}
500ppm	2,01 ± 0,27	4,34 ± 0,07 ^c	24,74 ± 0,05 ^c	80,47 ± 1,92 ^{ab}	198,22 ± 9,86 ^{ab}
1200ppm	2,01 ± 0,27	3,69 ± 0,21 ^c	13,57 ± 1,02 ^d	55,39 ± 3,36 ^b	172,98 ± 4,37 ^b

As médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Iqbal *et al.* (2008) avaliou a capacidade antioxidante de compostos fenólicos extraídos da romã. Foram adicionados ao óleo de girassol o extrato em concentração de 250, 500 e 1000 ppm, e 200 ppm de BHT para comparação. A oxidação foi avaliada a 65 °C, por 24 dias. Todas as amostras tiveram um aumento na quantidade de peróxidos, sendo os valores mais elevados observados nos seguintes tratamentos, em ordem decrescente: amostra controle, seguida de 250 ppm, 500 ppm, BHT e 1000 ppm. No vigésimo dia, o controle apresentou um máximo e, então, o índice de peróxidos decresceu, fato que pode ser atribuído à degradação dos peróxidos formados.

Em outro estudo, a capacidade antioxidante de extrato de cogumelo foi estudada quando adicionado em óleo de soja refinado. Adicionou-se 0,1% de compostos fenólicos e comparou-se ao BHT (100 ppm), ao TBHQ (50 ppm) e à amostra controle. No teste de armazenamento acelerado, por 16 dias a 60 °C, todos os tratamentos apresentaram um aumento no índice de peróxidos. O tratamento com TBHQ, contudo, foi o mais eficiente para proteção do óleo contra a formação destes compostos, seguido do extrato de cogumelo e BHT. A diferença entre os tratamentos começou a ser significativa estatisticamente a partir do quarto dia (Silva *et al.*, 2009).

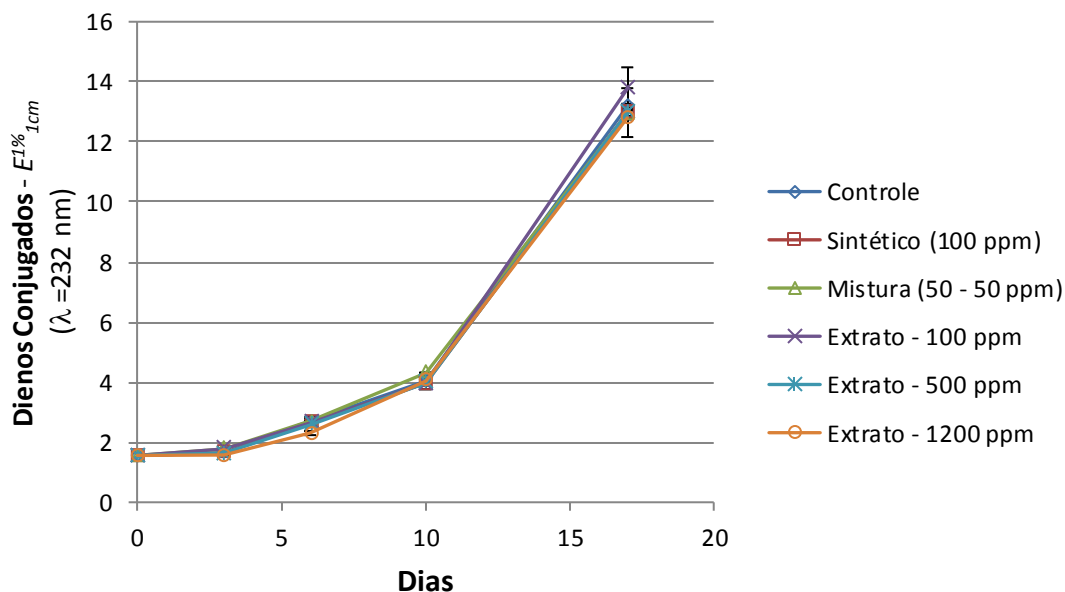
Quando a capacidade antioxidante de sementes de girassol foi avaliada, utilizou-se óleo da mesma semente e o experimento ocorreu a 30 °C, por 180 dias. Para todas as amostras, o índice de peróxidos aumentou exponencialmente em função do tempo. Deste modo, pode-se concluir que, nesta temperatura, o extrato fenólico de girassol em concentração de 300 ppm foi mais eficiente na estabilização do óleo de mesma semente do que o antioxidante sintético BHA, na mesma concentração (De Leonardis *et al.*, 2003).

4.4 Dienos e Trienos Conjugados

A quantificação de dienos e trienos conjugados é um bom método para saber o grau de oxidação do óleo. Sua vantagem para avaliação da oxidação primária sobre o índice de peróxidos está na simplicidade e na rapidez, não sendo dependente de uma reação química ou do surgimento de cor que necessite ser detectados a olho nu. Ainda, a quantidade de amostra utilizada é muito pequena, cerca de 100 mg foi utilizado para este trabalho. Contudo, o método é menos específico e sensível do que a medida do índice de peróxidos e não pode ser utilizado para comparar amostras de diferentes óleos, em virtude das insaturações não serem iguais (Shahidi e Zhong, 2005; Telles, 2006).

Os resultados das análises dos dienos e trienos conjugados foram organizados em forma de gráfico para melhor visualização das alterações ao longo do período de armazenamento. Os valores obtidos para os dienos estão apresentados na Figura 4.5.

Figura 4.5 - Dienos conjugados, expressos em extinção específica de solução a 1% de óleo no solvente especificado, numa espessura de 1 cm e comprimento de onda 232nm, ao longo dos 17 dias de experimento, para todos os tratamentos realizados.



Observando a Figura 4.5, é possível observar um aumento na quantidade de dienos conjugados em todas as amostras. Inicialmente, o aumento foi de forma gradual, sendo que do dia zero até o dia três, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) para nenhuma amostra. A partir do dia 3, o aumento passou a ser de forma mais acentuada, sendo que, do dia 10 ao dia 17, a taxa de formação de dienos aumentou drasticamente, para todas as amostras.

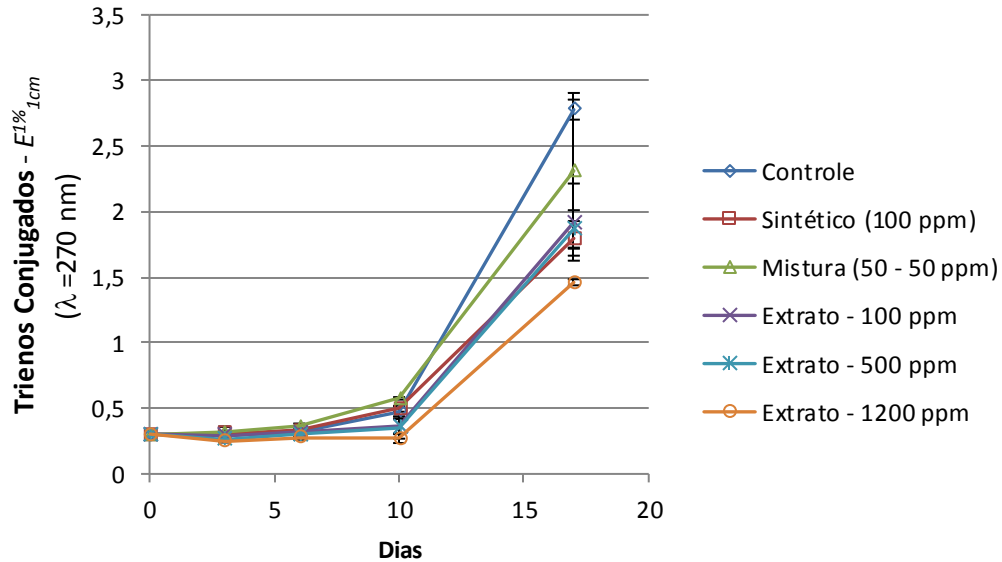
A análise de variância indica que, no terceiro dia, a amostra contendo 1200 ppm de extrato fenólico apresentou quantidade de dienos significativamente menor do que a Mistura e a de 100 ppm, entretanto foi estatisticamente igual a de 500 ppm. A amostra de 500 ppm, por sua vez, foi diferente da amostra de 100 ppm. No dia seis, a amostra de 1200 ppm apresentou o menor teor de dienos estatisticamente em relação a todas as outras amostras, exceto a de 500 ppm. Para os dias dez e dezessete, não houve diferença significativa entre as amostras.

O resultado obtido para esta análise é compatível com aquele obtido para o índice de peróxidos. O acompanhamento das alterações é feito com base na formação de radical livre, seguido da incorporação do oxigênio e consequente formação de peróxidos e dienos conjugados nos estágios iniciais da oxidação (Andreo e Jorge, 2007). Desta forma, um aumento na quantidade de dienos, juntamente com os peróxidos, indicam que a reação de oxidação está de fato acontecendo, podendo ser retardada com a presença de antioxidantes adicionados.

A medição dos produtos de oxidação secundários é feita com base nos trienos conjugados. Quando um ácido graxo insaturado é oxidado e possui mais de duas duplas ligações, a conjugação é estendida para inclusão de outra dupla ligação, formando, então, os trienos conjugados. Isso ocorre porque em alta temperatura os dienos são instáveis e acabam se decompondo (Douny *et al.*, 2016; Poiana, 2012).

A Figura 4.6 demonstra a evolução dos trienos conjugados durante os 17 dias de estocagem acelerada.

Figura 4.6 - Trienos conjugados, expressos em extinção específica de solução a 1% de óleo no solvente especificado, numa espessura de 1 cm e comprimento de onda 270nm, ao longo dos 17 dias de experimento, para todos os tratamentos realizados.



De acordo com a análise estatística realizada, para a amostra Controle, o aumento na quantidade de trienos conjugados passou a ser significativo somente após o sexto dia. Para os outros tratamentos, esse valor foi a partir do dia 10. Analisando o gráfico, entretanto, é possível observar um aumento gradual, exceto para o 1200 ppm, na extinção específica das amostras até o dia 10. Do dia 10 ao 17, houve um aumento brusco nesse valor para todos os tratamentos.

Embora, visualmente, algumas das amostras possam diferir entre si, de acordo com a análise estatística realizada, no terceiro e sexto dia de experimento, não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos. Isto significa que, segundo os resultados deste teste, até o dia 6, a escolha do método para retardar a oxidação é indiferente. No dia 10, porém, diferenças estatísticas entre os resultados começaram a ser observadas. A amostra com 1200 ppm de compostos fenólicos apresentou uma menor formação de trienos, quando comparada às amostras sem o extrato natural. Já a Mistura, quando comparada com os recipientes de 100, 500 e 1200 ppm, apresentou uma maior formação dos componentes.

No último dia, porém, apesar de a Figura 4.6 indicar uma diferença entre as amostras, apenas a 1200 ppm e a Controle apresentaram diferença significativa, devido ao elevado erro obtido em algumas análises. Quando comparada ao Controle, a amostra de 1200 ppm diminuiu a formação dos trienos em 47,48%, ou seja, quase metade do valor. Isso mostra que a adição de 1200 ppm de compostos fenólicos do extrato obtido a partir da torta de girassol foi eficiente na prevenção da formação dos trienos conjugados.

Em outro estudo, o extrato de alho foi utilizado em concentrações de 250, 500 e 1000 ppm como antioxidante natural para óleo de girassol. A formação de dienos e trienos conjugados, após a aplicação deste extrato, foi comparada com amostras contendo 200 ppm de BHA, 200 ppm de BHT e sem adição de antioxidantes (controle), em experimento

de estocagem acelerada por 24 dias, a 65 °C. A quantidade de produtos de oxidação primários e secundários cresceu gradativamente, com a taxa de formação de trienos aumentando ao longo do armazenamento. Para os dienos, a amostra controle e a com menor concentração de extrato apresentaram quantidade consideravelmente superior das demais, enquanto que os trienos apresentaram resultados significativamente diferentes, sendo esta a ordem decrescente de quantidade: amostra controle, 250 ppm, 500 ppm, BHA, 1000 ppm e BHT (Iqbal e Bhanger, 2007).

De Leonardis *et al.* (2003) analisaram os compostos fenólicos das sementes de girassol como antioxidantes para o óleo da mesma semente. Amostras foram submetidas a 30 °C, por 120 dias, e comparadas com BHA. Concluiu-se que as amostras com o extrato foram as que apresentaram as menores quantidades de dienos formados.

Mohdaly *et al.* (2011) avaliaram o potencial do extrato da torta de gergelim como antioxidante para os óleos de soja e girassol, a 70 °C, por 72 horas. Como resultado para o teste de dienos e trienos formados no óleo de soja, foi verificado um aumento no teor desses produtos com o passar do tempo. A taxa de formação de dienos foi caindo ao longo do período de estocagem, enquanto que o inverso aconteceu com os trienos. Para a formação dos dienos e trienos, com exceção do controle, que teve uma quantidade bem maior, o restante das amostras que continha diferentes antioxidantes sintéticos e concentrações de extrato apresentou valores bastante próximos entre si, resultado também observado neste trabalho.

5 Conclusões e Trabalhos Futuros

Com base na pesquisa e no experimento realizado, pode-se concluir que o extrato natural obtido a partir da torta de girassol possui capacidade de retardar os efeitos da oxidação lipídica. Foi observado, também, que, quanto maior a quantidade de compostos fenólicos adicionados ao óleo, maior foi a eficiência antioxidante observada. Tais resultados ainda mostraram que, dependendo da quantidade adicionada, o extrato natural pode apresentar efeito superior ao do BHT.

As análises de índice de peróxidos e trienos conjugados, além de indicarem que a presença do extrato reduz a formação de produtos de oxidação primários e secundários, indicaram que a amostra contendo 1200 ppm de compostos fenólicos foi a única que mostrou diferença significativa em relação ao controle após 17 dias de estocagem acelerada. Tais análises mostram que houve uma redução de 22% de peróxidos e de 47% de trienos, quando comparadas com a amostra sem adições. Já para os dienos conjugados, a escolha de qualquer um dos tratamentos utilizados não influenciou no resultado, pois não houve diferenças estatísticas entre eles ao final do experimento.

Diante do que foi exposto, os compostos fenólicos, especialmente o ácido clorogênico (composto fenólico majoritário da torta de girassol), pode ser considerado como um potencial substituto, parcial ou até mesmo total, dos antioxidantes sintéticos. Para aplicação na indústria, entretanto, outros fatores precisam ser avaliados. Em função de aceitação no mercado, a presença dos precipitados e gomas não deve existir. Além disso, deve-se avaliar se o extrato não altera as propriedades organolépticas dos óleos.

Para trabalhos futuros, sugere-se um estudo de termoxidação. Este estudo consiste na avaliação da capacidade antioxidante dos extratos, comparando com uma amostra controle e com um antioxidante sintético a 180 °C. Esta temperatura é escolhida para simular e para observar o comportamento dos óleos, quando em condição de fritura. Tal experimento ocorre em menor período de tempo, em um dia, por exemplo, com amostras sendo coletadas em intervalos de algumas horas.

Outra sugestão é purificar o extrato antes da adição nos óleos com o uso de filtros para remoção das proteínas. Acredita-se que essa remoção evitaria a formação de precipitados no óleo. Além disso, a presença de água nos extratos pode ser evitada, utilizando apenas etanol para extrair os compostos fenólicos da torta de girassol. Deste modo, não haveria a presença de água para formar emulsões e gomas após aplicação nas amostras.

6 Referências

ABDELAZIM, A. A. et al. Oxidative stability of vegetable oils as affected by sesame extracts during accelerated oxidative storage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 5, p. 868-878, 2013// 2013.

ABIOVE, A. B. D. I. D. Ó. V. Importância Econômica e Social. Disponível em: <<http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=importancia-economica-e-social&area=NC0yLTI=>>. Acesso em: 29 de setembro de 2016.

_____. Biodiesel: oportunidades e desafios no longo prazo. 2016. Disponível em: <[http://www.abiove.org.br/site/_FILES/Portugues/07102016-131231-07_10_2016_n-_cenario_para_o_biodiesel_em_2030\(2\).pdf](http://www.abiove.org.br/site/_FILES/Portugues/07102016-131231-07_10_2016_n-_cenario_para_o_biodiesel_em_2030(2).pdf)>.

ALAGI, P.; CHOI, Y. J.; HONG, S. C. Preparation of vegetable oil-based polyols with controlled hydroxyl functionalities for thermoplastic polyurethane. **European Polymer Journal**, v. 78, p. 46-60, 5// 2016.

ALAGI, P. et al. Efficient and quantitative chemical transformation of vegetable oils to polyols through a thiol-ene reaction for thermoplastic polyurethanes. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 78-88, 9// 2016.

ALUYOR, E. O.; ORI-JESU, M. The use of antioxidants in vegetable oils—A review. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 25, 2008.

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

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos-uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 66, n. 1, p. 01-09, 2007.

ANTONIASSI, P. M. D. R. R.; GONÇALVES, E. B. Extração de ácido clorogênico de farelo de girassol desengordurado. **Ciência Rural**, v. 41, n. 4, 2011.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005**.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 3, de 15 de janeiro de 2007**.

AOCS. **American Oil Chemists' Society** 1990.

_____. **American Oil Chemists' Society** 2004.

ASNAASHARI, M. et al. Antioxidant activity of raspberry (*Rubus fruticosus*) leaves extract and its effect on oxidative stability of sunflower oil. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 8, p. 5180-5187, 2015.

BALASUNDRAM, N. et al. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, // 2006.

BALAT, M. Fuel Characteristics and the Use of Biodiesel as a Transportation Fuel. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects**, v. 28, n. 9, p. 855-864, 2006/07/01 2006.

CHEYNIER, V. Phenolic compounds: from plants to foods. **Phytochemistry reviews**, v. 11, n. 2-3, p. 153-177, 2012.

CONAB, C. N. D. A. **Girassol - Conjuntura Mensal - Janeiro de 2016** .

CONN, P. M.; STUMPF, W. Lipids: Structure and Function: The Biochemistry of Plants. v. 9, p. 363, 2014.

COSTA, M. C. R. D. et al. Utilização da torta de girassol na alimentação de suínos nas fases de crescimento e terminação: efeitos no desempenho e nas características de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 1581-1588, 2005.

DE LEONARDIS, A. et al. A first pilot study to produce a food antioxidant from sunflower seed shells (*Helianthus annuus*). **European journal of lipid science and technology**, v. 107, n. 4, p. 220-227, 2005.

DE LEONARDIS, A. et al. Oxidative stabilization of cold-pressed sunflower oil using phenolic compounds of the same seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 6, p. 523-528, 2003.

DOUNY, C. et al. Linseed oil presents different patterns of oxidation in real-time and accelerated aging assays. **Food Chemistry**, v. 208, p. 111-115, 10/1/ 2016.

EMBRAPA. **Girassol**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/girassol>>. Acesso em: 20 de outubro de 2016.

_____. **Girassol Derivados Protéicos**: 31 p. 1994.

_____. **A Cultura do Girassol**: 38 p. 1996.

EMBRAPA, E. B. D. P. A. **Características Bioquímicas e Nutricionais do Óleo e do Farelo de Girassol**: 26 p. 1992.

EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, Part B, p. 811-819, 10// 2015.

FEDIOL^a. Applications. Disponível em: <
<http://www.fediol.be/web/applications/1011306087/list1187970079/f1.html> >.
Acesso em: 14 de outubro de 2016.

FEDIOL^b. Raw materials. Disponível em: <
<http://www.fediol.be/web/raw%20materials/1011306087/list1187970076/f1.html> >.
Acesso em: 14 de outubro de 2016.

FEDIOL^c. Sunflower seed. Disponível em: <
<http://www.fediol.be/web/sunflower%20seed/1011306087/list1187970107/f1.html> >.
Acesso em: 14 de outubro de 2016.

FEDIOL^d. World Production Data. Disponível em:
<<http://www.fediol.be/web/world%20production%20data/1011306087/list1187970075/f1.html>>. Acesso em: 14 de outubro de 2016.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Dossiê Óleos**. Nº 31: 38 - 55 p. 2014.

FRANKEL, E. N. In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. **Trends in Food Science & Technology**, v. 4, n. 7, p. 220-225, 1993/07/01 1993.

GIOIELLI, L. A. Óleos e gorduras vegetais: composição e tecnologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, n. 2, p. 211-232, 1996.

HRAŠ, A. R. et al. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 229-233, 11// 2000.

IGWE, I. O. The effects of temperature on the viscosity of vegetable oils in solution. **Industrial Crops and Products**, v. 19, n. 2, p. 185-190, 3// 2004.

INANÇ, T.; MASKAN, M. The potential application of plant essential oils/extracts as natural preservatives in oils during processing: a review. **Journal of Food Science and Engineering**, v. 2, n. 1, p. 1, 2012.

Instituto Adolfo Lutz. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**: 1000 p. 2008.

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

IQBAL, S. et al. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. **Food Research International**, v. 41, n. 2, p. 194-200, // 2008.

JORGE, N. **Química e Tecnologia de Óleos Vegetais**. São Paulo: 2009. 165.

KMIECIK, D. et al. Stabilisation of phytosterols by natural and synthetic antioxidants in high temperature conditions. **Food chemistry**, v. 173, p. 966-971, 2015.

LEE, J. et al. Identification/quantification of free and bound phenolic acids in peel and pulp of apples (*Malus domestica*) using high resolution mass spectrometry (HRMS). **Food Chemistry**, v. 215, p. 301-310, 1/15/ 2016.

LOUVANDINI, H. et al. Desempenho, características de carcaça e constituintes corporais de ovinos Santa Inês alimentados com farelo de girassol em substituição ao farelo de soja na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 603-609, 2007.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Atividade antioxidante do extrato de sementes de limão (*Citrus limon*) adicionado ao óleo de soja em teste de estocagem acelerada. **Química Nova**, v. 32, p. 946-949, 2009.

MCCLEMENTS, D. J. A. D., ERIC A. **Fennema's Food Chemistry** 4th edition. 2007. 1158 p.

MCNUTT, J.; HE, Q. Development of biolubricants from vegetable oils via chemical modification. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 36, p. 1-12, 4/25/ 2016.

MOHDALY, A. A. A. et al. Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 1, p. 952-959, 7// 2011.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, 10/29/ 2004.

OLIVEIRA, D. M. D.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, v. 34, p. 1051-1056, 2011.

PATIL, D. Role of antioxidants in stability of edible oil. **Trends in Post Harvest Technology**, p. 68-73, 2013.

POIANA, M.-A. Enhancing oxidative stability of sunflower oil during convective and microwave heating using grape seed extract. **International journal of molecular sciences**, v. 13, n. 7, p. 9240-9259, 2012.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A química dos óleos e gorduras e seus processos de extração e refino. **Revista Virtual Química**, v. 5, p. 2-15, 2013.

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

ROCHA, W. S. et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.

SALGADO, P. R. et al. Production and characterization of sunflower (*Helianthus annuus* L.) protein-enriched products obtained at pilot plant scale. **LWT - Food Science and Technology**, v. 45, n. 1, p. 65-72, 1// 2012.

SANIBAL, E. A. A.; MANCINI-FILHO, J. Alterações físicas, químicas e nutricionais de óleos submetidos ao processo de fritura. **Food Ingr South Am**, v. 1, n. 3, p. 64-71, 2002.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Lipid oxidation: measurement methods. **Bailey's industrial oil and fat products**, 2005.

SILVA, A. C. D. et al. Utilização de extrato de cogumelo como antioxidante natural em óleo vegetal. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 1103-1108, 2009.

SILVA, F. A. M. et al. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, p. 94-103, 1999.

SILVA, M. L. C. et al. **Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais**: Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010 2010.

SINGLETON, V. L. et al. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: (Ed.). **Methods in Enzymology**: Academic Press, v. Volume 299, 1999. p.152-178.

SRIPALAKIT, P.; SARAPHANCHOTIWITTHAYA, A. Utilization of phytosterol-containing vegetable oils as a substrate for production of androst-4-ene-3,17-dione and androsta-1,4-diene-3,17-dione by using *Mycobacterium* sp. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 8, p. 18-23, 10// 2016.

TELLES, M. M. Caracterização dos grãos, torta e óleo de três variedades de girassol (*Helianthus annuus* L.) e estabilidade do óleo bruto. 2006.

VIEIRA, A. D. S. et al. **Influência do cobre(0) e cobre(II) sobre a degradação de óleos de canola e de girassol submetidos a estresse térmico**. Tese (Doutorado)-

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química 2015.

ZAMORA, R.; HIDALGO, F. J. The triple defensive barrier of phenolic compounds against the lipid oxidation-induced damage in food products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 54, p. 165-174, 8// 2016.

ZUCATTO, L. C.; WELLE, I.; SILVA, T. N. D. Cadeia reversa do óleo de cozinha: coordenação, estrutura e aspectos relacionais. **Revista de Administração de Empresas**, v. 53, p. 442-453, 2013.