

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

SABRINA MATOS DE CARVALHO

**EFEITO DA ADIÇÃO DE TOCOFERÓIS SOBRE A QUALIDADE DE ÓLEO DE
SOJA EMBALADO EM PET**

Florianópolis – SC, junho de 2007



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

SABRINA MATOS DE CARVALHO

**EFEITO DA ADIÇÃO DE TOCOFERÓIS SOBRE A QUALIDADE DE ÓLEO DE
SOJA EMBALADO EM PET**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dra. Jane Mara Block

Florianópolis – SC, junho de 2007

**EFEITO DA ADIÇÃO DE TOCOFERÓIS SOBRE A QUALIDADE DE ÓLEO DE SOJA
EMBALADO EM PET**

Por

Sabrina Matos de Carvalho

Dissertação aprovada como requisito final para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, pela Comissão formada por:

Presidente:

Profa. Dra. Jane Mara Block (UFSC)

Membro:

Prof. Dr. Daniel Barrera-Arellano (UNICAMP)

Membro:

Profa. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira (UFSC)

Membro:

Prof. Dr. Pedro Luiz Manique Barreto (UFSC)

Coordenadora:

Profa. Dra. Marilde Terezinha Bordignon Luiz (UFSC)

Florianópolis, 22 de junho de 2007.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos - PGCAL - pela oportunidade.

A Pró-Reitoria de Pós-Graduação da UFSC pelo apoio financeiro quando solicitado.

A professora Dra. Jane Mara Block pela orientação, estímulo e paciência.

Ao professor Daniel Barrera-Arellano e a equipe do Laboratório de Óleos e Gorduras – FEA/Unicamp, pela contribuição neste trabalho.

A Cargill Agrícola S.A. pelas amostras concedidas e em especial aos julgadores e a Ulisses Dias e Daniela Vieira pela contribuição na análise sensorial.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

A todos os (as) professores (as) do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos pelo conhecimento compartilhado.

Ao professor Dr. Paulo José Ogliari pela atenção e ajuda.

A todos os funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aos colegas e amigos Tatiana Oro, Ana Cristina Prado, Jefferson Rotta, Michele Telles, Bianca Beal, Roberta Ramos e Janaína Baggio pela ajuda, companheirismo e amizade.

As amigas Silvana Ohse, Márcia Oliveira e Eunice Ilha pelo apoio e amizade.

Ao casal Renata Ozório e Roberto Derner, amigos com quem eu pude contar em todas as horas, e

A Deus e minha família pelo amor.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 Lipídios.....	15
3.2 Óleo de Soja	16
3.3 Deterioração de Óleos	18
3.3.1 Autooxidação	19
3.3.2 Fotoxidação.....	21
3.4 Decomposição de Hidroperóxidos	22
3.5 Fatores que Afetam a Oxidação Lipídica nos Alimentos.....	23
3.5.1 Composição em ácidos graxos.....	23
3.5.2 Oxigênio.....	23
3.5.3 Temperatura	24
3.5.4 Sistema lipídico.....	24
3.5.5 Luz	24
3.5.6 Umidade.....	24
3.5.7 Pró-oxidantes	25
3.5.8 Antioxidantes	25
3.6 Controle da Oxidação.....	26
3.7 Processamento do Óleo de Soja	26
3.8 Embalagem PET [poli (tereftalato de etileno)]	27
3.9 Antioxidantes	28
3.10 Tocoferóis.....	30
3.10.1 Mecanismo de ação.....	32
3.10.2 Fonte e biogênese.....	32
3.10.3 Obtenção	34
3.10.4 Fatores que Afetam a Ação Antioxidante dos Tocoferóis	35
3.11 Métodos para Avaliar o Estado Oxidativo e a Estabilidade.....	39
3.11.1 Índice de peróxido	39
3.11.2 Extinção específica	41
3.11.3 Índice de iodo.....	42
3.11.4 Índice de acidez	42
3.11.5 Umidade e compostos Voláteis.....	43
3.11.6 Ponto de fumaça.....	43
3.11.7 Teste de estabilidade oxidativa	43
3.11.8 Teor de tocoferóis	44
3.11.9 Análise sensorial	45
4 MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1 Material	47
4.1.1 Preparação da amostra	47
4.2 Métodos.....	47
4.3 Procedimento Experimental	48

4.3.1 Caracterização do padrão de tocoferóis e do óleo de soja	48
4.3.2 Avaliação da qualidade do óleo durante o armazenamento.....	49
4.3.3 Análise sensorial	49
4.4 Análise Estatística dos Dados	50
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1 Caracterização do Padrão de Tocoferóis	51
5.2 Caracterização do Óleo de Soja	51
5.3 Avaliação da Estabilidade do Óleo de Soja Durante o Período de Estocagem.....	54
5.4 Correlação Linear entre as Variáveis Físico-Químicas e Sensoriais.....	60
5.5 Estabilidade dos tocoferóis durante a estocagem.....	61
6 CONCLUSÕES.....	64
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXOS	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição típica de óleo de soja bruto e refinado.....	17
Tabela 2: Parâmetros de identidade e qualidade do óleo de soja refinado	18
Tabela 4: Preparação das amostras e o valor real dos tocoferóis por tratamento	47
Tabela 5: Composição do Grindox Toco-70	51
Tabela 6: Características de identidade e qualidade do óleo de soja.	52
Tabela 7: Teor de tocoferóis e estabilidade oxidativa do óleo de soja adicionado de diferentes concentrações de tocoferóis naturais.....	53
Tabela 8: Mudanças nos índices de qualidade peróxido, extinção específica (232 e270 nm) e nota sensorial para os quatro tratamentos de óleo de soja durante a estocagem.....	55
Tabela 9: Evolução do índice de acidez, da umidade e do ponto de fumaça para os quatro tratamentos de óleo de soja durante a estocagem*.	58
Tabela 10: Matriz de correlação linear entre as determinações físico-químicas e sensoriais.	60
Tabela 11: Resultados iniciais do teor de tocoferóis (tempo = 0) e durante seis meses de estocagem para os tratamentos adicionados de 0, 100, 200 e 300 ppm da mistura de tocoferóis naturais.....	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Etapas básicas da autoxidação de lipídios.....	20
Figura 2: Esquema representativo da fotoxidação de lipídios.....	22
Figura 3: Estruturas dos tocoferóis (a) e tocotrienóis (b)	31

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A - Evolução dos índices de peróxido dos tratamentos T0, T100, T200 e T400 do óleo de soja durante a estocagem.....	74
ANEXO B - Extinção específica do óleo de soja a 232 nm dos tratamentos T0, T100, T200 e T400 durante a estocagem.....	75
ANEXO C - Notas sensoriais do óleo de soja para os tratamentos T0, T100, T200 e T400 durante a estocagem.....	76
ANEXO D - Índice de acidez do óleo de soja para os tratamentos T0, T100, T200 e T400 durante a estocagem.....	77
ANEXO E - Umidade do óleo de soja para os tratamentos T0, T100, T200 e T400 durante a estocagem.....	78
ANEXO F - Ponto de fumaça do óleo de soja para os tratamentos T0, T100, T200 e T400 durante a estocagem.....	79
ANEXO G - Teores de tocoferóis do óleo de soja para os tratamentos T0, T100, T200 e T400 durante a estocagem.	80
ANEXO H - Artigo aceito para publicação no Brazilian Journal of Food Technology	81

CARVALHO, S. M. de. **Efeito da adição de tocoferóis sobre a qualidade de óleo de soja embalado em PET**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC.

RESUMO

Em função do seu elevado teor de ácidos graxos insaturados o óleo de soja é bastante susceptível às reações de oxidação, principalmente em embalagens do tipo PET, que apresentam permeabilidade elevada para luz e oxigênio, catalisadores importantes do processo de oxidação. A adição de antioxidantes pode aumentar a vida de prateleira dos óleos e, entre os compostos naturais com atividade antioxidante os tocoferóis tem sido muito estudados. No presente trabalho foi avaliado o efeito da adição de 100, 200 e 300 mg/Kg de uma mistura de tocoferóis naturais, sobre a qualidade do óleo de soja embalado em PET, armazenado em caixas de papelão e mantido a temperatura ambiente por 12 meses. O óleo foi caracterizado através da composição em ácidos graxos, composição em tocoferóis, índice de peróxidos, extinção específica a 232 e 270 nm, análise sensorial, estabilidade oxidativa OSI, índice de iodo, umidade, índice de acidez, ponto de fumaça. As mudanças na qualidade do óleo durante o armazenamento foram monitoradas mensalmente através da determinação dos seguintes parâmetros: umidade, índice de acidez, ponto de fumaça, índice de peróxido, extinção específica a 232 e 270 nm, análise sensorial e teor de tocoferóis. Todas as análises foram realizadas de acordo com a metodologia oficial da AOCS. O óleo de soja apresentou um teor de 81% de ácidos graxos insaturados, sendo 4.4% de ácido linolênico e, teor de tocoferóis totais de 1137 mg/Kg, sendo a principal fração de γ -tocoferol (680,3 mg/Kg). A estabilidade oxidativa OSI foi de 6,3 horas para o óleo controle (sem a adição de tocoferóis); 6,6 horas para os tratamentos com adição de 100 e 200 mg/kg de tocoferóis e, de 6,5 horas para o tratamento com adição de 300 mg/Kg. Após 12 meses de armazenamento, o teor de umidade e índice de acidez apresentaram variações significativas ($p < 0,05$) em relação aos valores iniciais e entre os tratamentos (0,03-0,06 % e 0,07-0,35, respectivamente). O ponto de fumaça diminuiu de 231 para 209°C (valores médios para os 4 tratamentos). Houve um aumento do índice de peróxido de 0,7 mEq/Kg para valores entre 3,7 e 5,6 mEq/Kg. Foi observada uma redução no teor de tocoferóis totais de 13.6; 11.6; 14.1 e 4.7% para os tratamentos controle e com adição de 100; 200 e 300 ppm respectivamente. A nota sensorial inicial diminuiu de 7.7 para 5,6 (0, 100 e 300 mg/Kg) e para 6,1 (200 mg/Kg). As análises de regressão simples e de contraste entre os tratamentos indicaram que as diferenças entre os parâmetros avaliados não foram significativas ($p > 0,05$) durante o armazenamento. De acordo com os resultados obtidos a adição de tocoferóis naturais nas concentrações utilizadas não teve efeito sobre a qualidade do óleo embalado em PET.

Palavras chaves: óleo de soja, PET, tocoferóis, qualidade

Carvalho, Sabrina Matos de. **Effect of addition of natural tocopherols on quality of refined soybean oil packed in pet during storage.** 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC.

ABSTRACT

Due to its high content of unsaturated fatty acids, soybean oil is highly susceptible to oxidation reactions, especially in PET type packaging, that presents high permeability to light and oxygen, important catalysts of the oxidation process. The addition of antioxidants can increase the shelf-life of the oils and, among natural compounds with antioxidant activity, tocopherols have been widely studied. In this work, the effect of the addition of 100, 200 and 300 mg/kg of a mixture of natural tocopherols on the quality of soybean oil packaged in PET, stored in carton boxes and kept at ambient temperature for 12 months was evaluated. The oil was characterized through its fatty acid composition, tocopherol composition, peroxide value, specific extinction at 232 and 270 nm, sensory analysis, OSI oxidative stability, iodine value, moisture content, acid value and smoke point. The quality alterations of the oil during storage were monitored monthly through the determination of the following parameters: moisture content, acid value, smoke point, peroxide value, specific extinction at 232 and 270 nm, sensory analysis and tocopherol content. All analyses were carried out according to official AOCS methodology. Soybean oil presented 81% unsaturated fatty acids, of which 4.4% was linolenic acid, and a total tocopherol content of 1137 mg/kg, with gamma-tocopherol as the main fraction (680.3 mg/kg). The OSI oxidative stability was 6.3 hours for the control oil (without tocopherol addition); 6.6 hours for the treatments with the addition of 100 and 200 mg/kg tocopherols and, 6.5 hours for the treatment with the addition of 300 mg/kg. After 12 months storage, moisture content and acid value did present significant variations with respect to the initial values and among treatments (0.03-0.06 % and 0.07-0.35, respectively). The smoke point decreased from 231 to 209°C (mean values for the 4 treatments). There was an increase in the peroxide value from 0.7 mEq/kg to values between 1.7 and 2.1 mEq/kg. Reductions of total tocopherol content of 13.6; 11.6; 14.1 and 4.7% were observed for the control treatment and treatments with the addition of 100; 200 and 300 mg/kg, respectively. The initial sensory score decreased from 7.7 to 5,6 (0, 100 e 300 mg/Kg) and to 6,1 (200 mg/Kg). Analyses of simple regression and contrast between treatments indicated that the differences among the parameters evaluated were not significant ($p>0.05$) during storage. According to the results obtained, the addition of natural tocopherols in the concentrations used in this study did not have an effect on the quality of the oil packaged in PET.

Key-words: soybean oil, PET, tocopherols, quality.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é responsável por aproximadamente 28% da produção mundial de soja, com a safra de 2006 ao redor de 57 milhões de toneladas. O país é o segundo maior produtor e exportador mundial de soja em grão, farelo e óleo de soja. O Complexo Soja é um dos principais itens da Balança Comercial Brasileira e exportou cerca de US\$ 9,5 bilhões em 2005, colocando o país na liderança mundial nas exportações do setor em valor. De acordo com dados da Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais - ABIOVE, em 2005 foram consumidos 3,1 milhões de toneladas de óleo de soja, que, em função de sua qualidade e baixo custo, é o mais importante dos óleos vegetais produzidos no Brasil (ABIOVE, 2006).

O cultivo da soja teve grande participação na aceleração da mecanização das lavouras brasileiras, pela modernização do sistema de transportes, expansão da fronteira agrícola, profissionalização e incremento do comércio internacional e pela modificação e enriquecimento da dieta alimentar dos brasileiros (EMBRAPA, 2004).

Com relação à composição, o óleo de soja é rico em ácidos graxos insaturados, apresentando alto teor de ácido linoléico (49,8-59,0%) e, quantidade relativamente elevada de ácido linolênico (5 a 11%) (BRASIL, 2005 e 2006; CODEX, 1999). Tais ácidos graxos são altamente suscetíveis às reações de oxidação, tornando o óleo de soja um dos óleos comestíveis menos estáveis às deteriorações (BOCKISCH, 1998).

A reação de oxidação é uma das principais causas de deterioração de óleos vegetais e, possui como consequência, o desenvolvimento da rancidez oxidativa, caracterizada por modificações na cor, flavor e aroma do óleo, que levam geralmente à rejeição do produto, além da diminuição da qualidade nutricional dos mesmos com consequências importantes para a saúde (WAGNER; ELMADFA, 2001; HRAS et al., 2000; ANDERSON; LINGNERT, 1999; QUINTERO; VIANNI, 1995).

A oxidação de óleos pode ser retardada através do controle de alguns fatores que favorecem este processo, como temperatura, luz e oxigênio (RAMALHO; JORGE, 2006; GUPTA, 2000; NAWAR, 1985). Sendo assim, a utilização de embalagens adequadas e a adição de antioxidantes (naturais ou sintéticos) podem aumentar a vida de útil de muitos produtos alimentícios (HILST, 1999; HRAS et al., 2000).

A embalagem possui papel fundamental no controle das interações entre o óleo e o ambiente, protegendo contra a oxidação e auxiliando na manutenção da qualidade do produto. Atualmente cerca de 80% dos óleos comercializados no Brasil são envasados em embalagens

de poli (tereftalato de etileno) - PET (DATAMARK, 2006). Embora elas sejam boa barreira contra o oxigênio e odores, o produto fica mais exposto à luz, o que pode afetar a estabilidade oxidativa do óleo (TAWFIK; HUYGHEBAERT, 1999).

A utilização de antioxidantes sintéticos, como BHA (butilhidroxianisol), BHT (butilhidroxitolueno) e TBHQ (t-butil-hidroquinona), apresenta restrições em diversos países devido aos seus possíveis efeitos indesejáveis para saúde humana, mas ainda são muito utilizados pela indústria alimentícia devido a sua alta estabilidade, entre outras vantagens (HRAS et al., 2000). A utilização destes produtos vem diminuindo pela suspeita de serem promotores do processo de carcinogênese (SUJA et al., 2004; HILST, 1999). Sendo assim, o uso de antioxidantes naturais na indústria de alimentos tem aumentado significativamente e muitos compostos têm sido testados em sua eficácia como antioxidantes, principalmente os tocoferóis (NOGALA-KALUCKA et al., 2005; ISNARDY et al., 2003).

Dentre os constituintes da matéria insaponificável de óleos e gorduras, os tocoferóis despertam grande interesse em função do seu caráter vitamínico (vitamina E) e antioxidante (SÁNCHEZ-PÉREZ et al., 2000). Os tocoferóis estão presentes naturalmente em muitos óleos vegetais e, de acordo com a localização e grau de substituição de grupos metila no anel, são denominados α , β , γ e δ -tocoferol. A atividade antioxidante dos tocoferóis é devida, principalmente, à sua capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos, interrompendo a propagação em cadeia e depende, além da estrutura química, de fatores como temperatura; composição; estado físico da gordura (líquida, emulsão); concentração de tocoferóis e; presença de espécies químicas que podem atuar como pró-oxidantes (NOGALA-KALUCKA et al., 2005; LAMBELET et al., 2001; WHITE, 2000).

Muitos estudos foram realizados sobre a influência dos tocoferóis na estabilidade dos óleos vegetais e gorduras, porém na maioria dos trabalhos publicados foram utilizados métodos acelerados, que não refletem a realidade da comercialização dos óleos, dificultando a correlação dos resultados com a vida de prateleira do produto.

Desta forma, o presente trabalho estudou o efeito da adição de diferentes concentrações de tocoferóis naturais sobre a qualidade de óleo de soja refinado e embalado em PET mantido ao abrigo da luz por um período de 12 meses.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Determinar o efeito da adição de diferentes concentrações de tocoferóis naturais da soja sobre o processo de oxidação de óleo de soja refinado e embalado em PET durante o armazenamento ao abrigo da luz.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o óleo de soja através da análise sensorial e dos seguintes métodos físico-químicos: composição em ácidos graxos, teor de tocoferóis, índice de iodo, ponto de fumaça, umidade, ácidos graxos livres, índice de peróxido e extinção específica a 232 e 270 nm;
- Avaliar a qualidade do óleo de soja durante o armazenamento;
- Determinar as mudanças no teor de tocoferóis do óleo durante o armazenamento;
- Determinar o efeito da adição de diferentes concentrações de tocoferóis sobre as mudanças na qualidade do óleo de soja;
- Determinar a vida de prateleira do óleo de soja embalado em garrafas PET armazenado ao abrigo da luz, através da determinação das mudanças nos índices físico-químicos e da avaliação sensorial.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Lipídios

Lipídios constituem um grupo de diversos compostos biológicos não solúveis em água (hidrofóbicos) e solúveis em solventes orgânicos (como clorofórmio, éter e benzeno) (FENNEMA, 2000; NOVAIS, 2000). Esse grupo de substâncias inclui os óleos, as gorduras, algumas vitaminas e hormônios, além de muitos componentes não protéicos das membranas celulares. Nas células vivas os lipídios fazem parte da estrutura da membrana funcionando de modo a manter energia disponível para a célula, além de iniciarem a síntese de prostaglandinas, vitaminas e hormônios (NOVAIS, 2000) e de contribuírem para o sabor no cozimento e no processamento dos alimentos (FAO, 1994).

Os óleos vegetais e as gorduras são constituídos predominantemente por triglicerídios (mais de 98%), que são ésteres de três ácidos graxos com glicerol. A molécula de glicerol possui três grupos hidroxila nos quais as moléculas de ácidos graxos podem formar ligações éster, resultando na molécula de triglicerídio (GUNSTONE, 2005).

As propriedades físicas e químicas de um óleo estão relacionadas principalmente com a sua composição em ácidos graxos, com o grau de insaturação e posição destes na molécula de glicerol e com o comprimento da cadeia carbônica dos mesmos. A diferença entre uma gordura e um óleo está no estado físico em temperatura ambiente, isto é, uma gordura é um sólido e um óleo é um líquido (O'BRIEN, 2000; WHITE, 2000). Geralmente, as gorduras sólidas são indicadas por uma dominância em ácidos graxos saturados, e os líquidos por um alto nível de ácidos graxos insaturados (O'BRIEN, 2000). Quanto menor a cadeia carbônica, menor seu ponto de fusão, e quanto maior o número de insaturações dos ácidos graxos, menor será seu ponto de fusão e sua estabilidade para oxidação (LIN, 1991).

Entre os fatores que afetam a composição dos ácidos graxos dos óleos vegetais está o clima, o tipo de solo, estação de desenvolvimento, maturidade e saúde da planta, fatores microbiológicos, posição da semente dentro da flor e variação genética da planta. A composição em ácidos graxos das gorduras animais varia de acordo com a espécie animal, dieta, saúde, localização da gordura na carcaça e maturidade (GUNSTONE, 2005).

Estão também presentes nos óleos, em menor quantidade, outros constituintes de grande interesse, os componentes minoritários, tais como tocoferóis, diglicerídios, ácidos graxos livres, esteróis, fosfolipídios e pigmentos (FERRARI, 2001; O'BRIEN et al., 2000).

3.2 Óleo de Soja

A soja [*Glycine max* (L.) Merr.] é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae, à sub-família das Papilionoidea e do grupo das Faseoleas, originária do atual território do Vietnam, no leste da Ásia. Seu cultivo é conhecido na China à cerca de 5000 anos (GARCÍA, 2001; POUZET, 2001; BOCKISCH, 1998; GUNSTONE, 1997). A semente de *Glycine max* desenvolveu-se como uma fonte de proteínas de alta qualidade e é usada em muitos alimentos para humanos e como proteína predominante na alimentação animal (GUNSTONE, 2005).

O teor de lipídios no grão de soja varia entre 18 e 22% (GUNSTONE, 2005; BOCKISCH, 1998; GUNSTONE, 1997). O óleo de soja surgiu como um subproduto do processamento do farelo de soja e tornou-se um dos líderes mundiais no mercado de óleos (MORETTO; FETT, 1998). O óleo de soja é produzido em maior quantidade que outros óleos vegetais e foi desenvolvido primeiramente nos EUA, Brasil, Argentina e China, sendo parte significativa da dieta desses países (GUNSTONE, 2005). Possui excelente qualidade e baixo custo e é o mais importante óleo vegetal do mundo contemporâneo (GARCÍA, 2001; SIPOS, SZUHAJ, 2001). A utilização do óleo de soja abrange uma ampla gama de produtos entre os quais podemos citar óleos para saladas, frituras, margarinas, emulsificantes, etc. (GUPTA, 2001).

A composição do óleo de soja pode ser afetada pelas diferenças de variedade e pelos vários fatores geográficos e do meio ambiente (HAMMOND et al., 2005), principalmente condições climáticas. É rico em ácidos graxos insaturados (aproximadamente 85% do total), apresentando em torno de 50 a 59% de ácido linoléico; de 20 a 27% de ácido oléico e, entre 5 e 11% de ácido linolênico. O teor elevado de ácidos graxos insaturados e, o teor relativamente elevado de ácido linolênico, torna o óleo de soja muito suscetível às reações de oxidação. (GUNSTONE, 2005; PEREIRA et al., 1991).

O óleo de soja bruto possui em sua composição matéria insaponificável, bem como outros constituintes, tais como ácidos graxos livres e metais, que precisam ser reduzidos e/ou eliminados através do refino para torná-lo comestível e com qualidade (GUPTA, 1993). Porém, a matéria insaponificável do óleo de soja também possui vários componentes minoritários com valor comercial, tais como os tocoferóis e os fitosteróis (SIPOS, SZUHAJ, 2001). Alguns destes podem ser recuperados durante o processo de refino. Os fosfolipídios podem ser recuperados como lecitina e as misturas de esteróis e os tocoferóis (vitamina E)

servem como matéria-prima para a produção de vários produtos farmacêuticos (GUNSTONE, 2005).

Na Tabela 1 podem ser observadas as composições típicas dos óleos de soja bruto e refinado.

Tabela 1: Composição típica de óleo de soja bruto e refinado.

Parâmetro característico	Óleo Bruto	Óleo Refinado
Triglicerídios (%)	95 – 97	>99
Fosfolipídios (%)	1,5 – 2,5	0,003 – 0,045
Matéria insaponificável (%)	1,6	0,3
Fitosteróis (%)	0,33	0,13
Tocoferóis (%)	0,15 – 0,21	0,11 – 0,18
Hidrocarbonetos (Esqualeno) (%)	0,014	0,01
Ácidos Graxos Livres (%)	0,3 – 0,7	<0,05
Traços de Metais		
Ferro (ppm)	1 – 3	0,1 – 0,3
Cobre (ppm)	0,03 – 0,05	0,02 – 0,06

Fonte: HAMMOND et al. (2005); SIPOS; SZUHAI (2001).

O óleo de soja deve atender essencialmente às características sensoriais, como cor, odor e sabor característicos, aspecto límpido e isento de impurezas a 25°C; e as características físico-químicas, como índice de iodo (Wijs), índices acidez e de peróxido devem estar de acordo com o preconizado pelos órgãos responsáveis por sua regulamentação. Na Tabela 2 podem ser observados os principais parâmetros de identidade e qualidade do óleo de soja refinado e os valores recomendados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2006), pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005) e pelo Codex Alimentarius (1999).

Tabela 2: Parâmetros de identidade e qualidade do óleo de soja refinado

Parâmetro	Refinado¹	Refinado²
Índice de Iodo (Wijs)	124-139	124-139
Índice de Peróxido, mEq/Kg	≤ 10	≤ 2,5
Extinção Específica (232 nm)	-	-
Extinção Específica (270 nm)	-	-
Acidez, mg KOH/g	0,6	0,2
Umidade %	0,2	≤ 0,1
Ponto de Fumaça, em °C	-	≥ 210
Ácidos Graxos (%)		
Ácido Mirístico C14:0	≤ 0,2	≤ 0,2
Ácido Palmítico C16:0	8,0-13,5	8,0-13,5
Ácido Palmitoléico C16:1	≤ 0,2	≤ 0,2
Ácido Esteárico C18:0	2,0-5,4	2,0-5,4
Ácido Oléico C18:1	17,7-28,0	17,0-30,0
Ácido Linoléico C18:2	49,8-59,0	48,0-59,0
Ácido Linolênico C18:3	5,0-11,0	3,5-8,0
Ácido Araquídico C20:0	0,1-0,6	0,1-0,6
Ácido Eicosenóico C20:1	≤ 0,5	≤ 0,5
Ácido Behênico C22:0	≤ 0,7	≤ 0,7
Tocoferóis (ppm)		
Totais	600-3370	-
Frações		
α	90-352	-
β	0-36	-
γ	89-2307	-
δ	154-932	-

¹ Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005); Codex Alimentarius (1999).

² Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2006).

3.3 Deterioração de Óleos

Nos óleos e gorduras comestíveis, a rancidez representa a principal causa de deterioração (HRAS et al., 2000). Ocorre principalmente durante o processamento e armazenagem e resulta em alterações dos principais parâmetros de qualidade como a cor e, na produção de compostos voláteis responsáveis pela formação de sabores e odores estranhos (*off-flavors*). Afeta também o valor nutritivo, pela inativação de vitaminas (A, D, E, K e C) e modificação na estrutura de ácidos graxos essenciais, clorofilas, carotenos, aminoácidos, proteínas e enzimas (NOGALA-KALUCKA et al., 2005; HRAS et al., 2000; O'BRIEN, 2000).

A rancidez pode ser proveniente de reações hidrolíticas (rancidez hidrolítica) ou de reações de oxidação (rancidez oxidativa). A rancidez hidrolítica pode ser promovida pela presença de água ou catalisada por lipases, resultando na hidrólise da molécula de

triglicerídeo, com formação de glicerol e ácidos graxos livres. A rancidez oxidativa é iniciada por espécies reativas do oxigênio, envolvendo o ataque destes à porção insaturada dos ácidos graxos presentes nos óleos e gorduras, sendo favorecida por agentes como UV, radiação ionizante, calor, presença de metais e concentração de duplas ligações nas moléculas lipídicas (NOGALA-KALUCKA et al., 2005; HRAS et al., 2000; HAMILTON, et al., 1997). Ainda que as causas originais e as conseqüências dos processos de degradação hidrolítica e oxidativa sejam muito diferentes, parecem interagir e contribuem para a redução da vida útil do óleo (FREGA et al., 2001).

Os produtos primários da oxidação são os hidroperóxidos, que não possuem sabores nem odores. Os produtos de degradação dos hidroperóxidos, ou, produtos secundários da oxidação, como os aldeídos, cetonas e álcoois, apresentam limites de percepção muito baixos; assim, a oxidação de uma fração ínfima do óleo pode torná-lo inaceitável sensorialmente (HRAS et al., 2000; O'BRIEN, 2000).

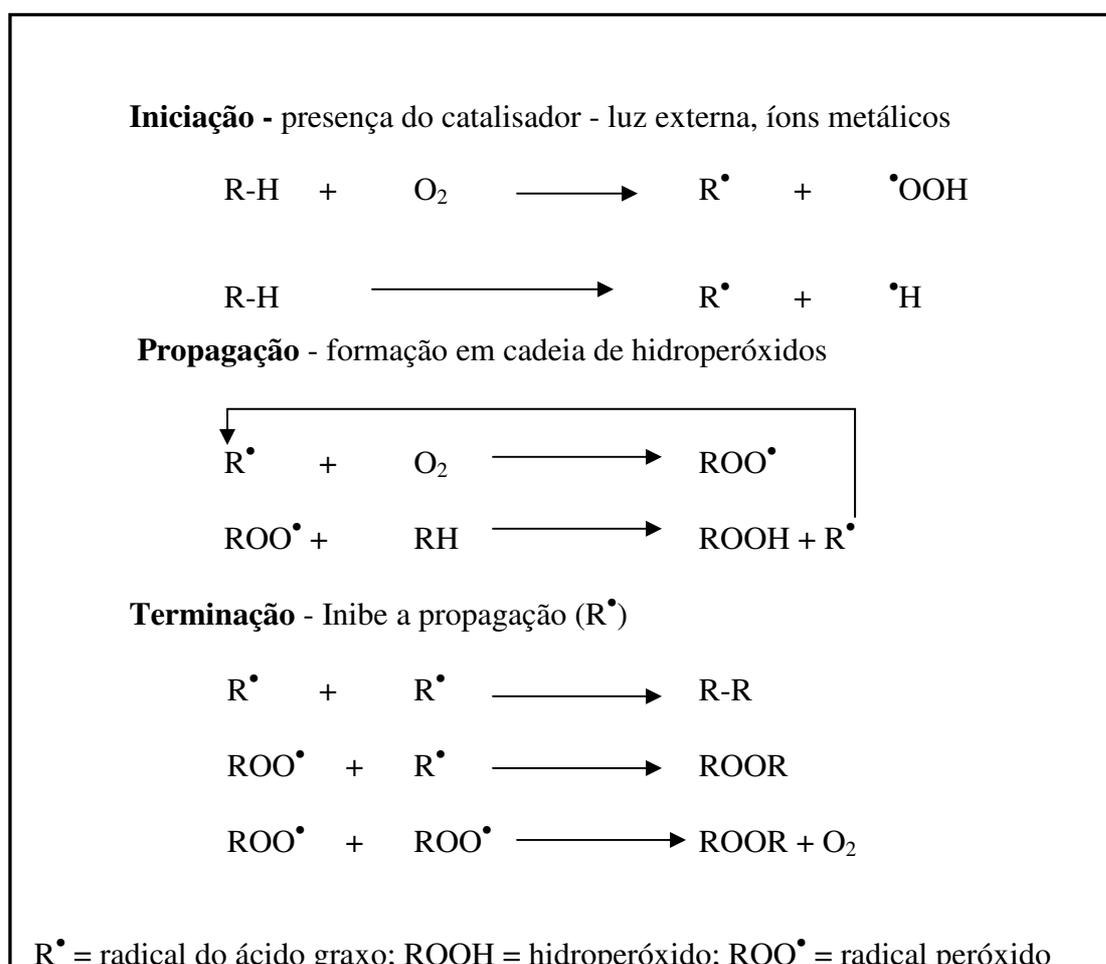
A rancidez oxidativa pode ocorrer através da autooxidação ou rota clássica e da fotoxidação, levando a formação de sabores e odores não característicos nos óleos.

3.3.1 Autooxidação

A autooxidação de um óleo é uma reação em cadeia de radicais livres que envolve a formação de radicais livres, a formação de hidroperóxidos, a decomposição dos hidroperóxidos e a formação de produtos secundários da oxidação. Assim, a autooxidação envolve um mecanismo autocatalítico de radicais livres em cadeia através de três etapas básicas: iniciação, propagação e terminação, como pode ser observado na Figura 1 (HAMMOND et al., 2005; WHITE, 2000). A autooxidação é assim denominada pelo fato de que o grau da mesma aumenta à medida que progride a reação (HAMMOND, et al., 2005; HAMILTON et al., 1997).

Durante a fase de iniciação, na formação do radical livre (R^\bullet), a gordura insaturada (RH) perde hidrogênio (H) de um átomo de carbono adjacente a uma dupla ligação (Carbono alfa-metilênico), onde a dissociação de energia para a abstração do hidrogênio é bastante baixa. Os iniciadores podem ser o calor, a luz, metais ou outros radicais livres. O radical livre resultante (R^\bullet) pode reagir rapidamente com o oxigênio em seu estado singlete ou triplete, formando radicais livres peroxil (ROO^\bullet), os quais podem clivar para formar aldeídos e cetonas ou, alternativamente, podem continuar a reação catalítica por fixar um átomo de H de outra molécula do lipídio insaturado para formar um hidroperóxido ($ROOH$). O hidroperóxido

reativo continua este processo de deterioração, produzindo uma reação em cadeia relativamente rápida (fase de propagação) que pode ser repetida centenas de vezes e formar precursores para a formação de diferentes aldeídos, cetonas e álcoois, que são responsáveis pelo desenvolvimento de *off*-flavors. A velocidade da oxidação nesta fase é acelerada, o que indica a natureza autocatalítica da reação. A fase de terminação inclui a recombinação de várias espécies de radicais livres para produzir os produtos finais estáveis (ADAMS, 2001; WHITE, 2000; BOCKISCH, 1998; HAMILTON et al., 1997).



Fonte: FARMER et al. (1942); SCHAICH (2005).

Figura 1: Etapas básicas da autoxidação de lipídios.

Os radicais livres podem ser definidos como uma espécie química que possui um ou mais elétrons não pareados. Tal definição engloba o átomo de hidrogênio, átomos de metais de transição e molécula de oxigênio singlete que, com os dois elétrons não pareados atuam como um biradical. Uma das mais importantes áreas em que radicais livres de carbono e oxigênio estão envolvidos é na oxidação dos lipídios (HAMILTON et al., 1997).

Quando o conteúdo de hidroperóxidos de um sistema contendo ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) alcança certo valor crítico, sua composição torna-se importante e a taxa de oxidação lipídica aumenta. Durante a fase de propagação, a taxa de formação de hidroperóxidos é maior que sua taxa de decomposição dos mesmos, e esta situação é reversa na etapa de terminação (KAMAL-ELDIN et al., 2003).

3.3.2 Fotoxidação

A fotoxidação envolve a formação de hidroperóxidos numa reação direta de adição de oxigênio singlete ao lipídio insaturado, sem formação de radical livre, como ocorre na autoxidação. Portanto, esta não é uma reação em cadeia e não possui período de indução (GUNSTONE, 1994; ROVELLINI et al., 1997). A fotoxidação ocorre através de reações fotoquímicas e/ou fotossensibilizadoras e envolve a interação entre a dupla ligação e o oxigênio singlete, produzido pelo efeito da luz (especialmente UV ou próxima de sua faixa) sobre o oxigênio triplete, na presença de sensibilizadores como a clorofila ou compostos heme (GUPTA, 2000; GUNSTONE, 1994; SHERWIN, 1978).

O oxigênio singlete é formado pela transferência de energia da luz (absorção) para a molécula de oxigênio, através de fotossensibilizante, como foi mencionado, formando estados singlete excitados que podem ser diferentes para cada comprimento de onda e que podem atacar o substrato, no caso o óleo (OGRYZLO, 1970; WILSON; HASTINGS, 1970). Assim, ao absorver um quantum de energia, um dos elétrons do subnível mais externo do átomo é promovido a um orbital acima, gerando spins paralelos, que possuem menor conteúdo energético (ATKINS, 1991). Este estado intermediário do oxigênio molecular é de maior durabilidade, tendo uma baixa energia de ativação quando comparada com a energia de muitas ligações químicas (WILSON; HASTINGS, 1970). O esquema representativo da fotoxidação de lipídios pode ser visualizado na Figura 2.

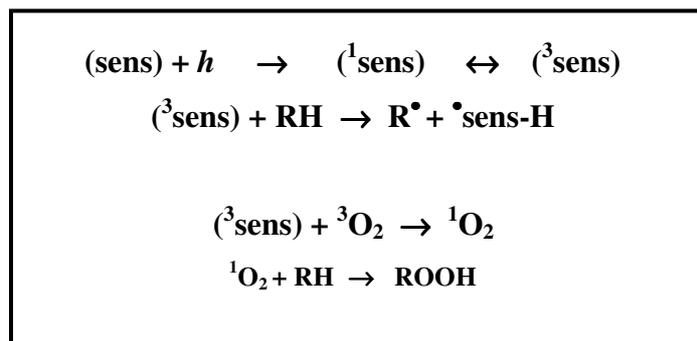


Figura 2: Esquema representativo da fotoxidação de lipídios (ZAMBIAZI, 1999).

As clorofilas são conhecidas por decompor-se em feofitinas, feofórbidos e pirofeofórbidos, em pH ácido e na presença de oxigênio. Sabe-se também que os produtos de decomposição das clorofilas são cerca de dez vezes mais fotossensibilizadores que as clorofilas. A reação de fotoxidação é 1500 vezes mais rápida que a autoxidação; portanto, a decomposição da clorofila pode ter um impacto muito significativo na estabilidade do óleo. (GUPTA, 2001). Assim, o produto primário da fotoxidação é o hidroperóxido e sua velocidade de formação é de 10 a 30 vezes maior que na autoxidação (ROVELLINI et al., 1997).

3.4 Decomposição de Hidroperóxidos

Os hidroperóxidos são produtos primários da oxidação e são compostos inodoros e relativamente estáveis em condições favoráveis, tais como baixa temperatura, presença de antioxidantes e ausência de catalisadores. Normalmente estas condições não são encontradas e os hidroperóxidos se tornam susceptíveis à decomposição, formando radicais peroxil e alcoxil, levando a formação dos produtos secundários de oxidação incluindo aldeídos, cetonas, álcoois, ácidos e lactonas, que são os responsáveis pela rancidez (KAMAL-ELDIN et al., 2003).

A decomposição dos hidroperóxidos ocorre através da quebra da ligação carbono-carbono entre o carbono onde está o peróxido e os carbonos adjacentes, formando produtos de cadeia curta voláteis e não voláteis, que contribuem para o flavor dos óleos e alimentos que os contêm. Os produtos formados, principalmente os de cadeia curta, têm limiares de percepção muito baixos, podendo ser detectados em baixíssimas concentrações (WHITE, 2000; LIN, 1991). Estes produtos, além de prejudicar o flavor e a textura dos alimentos, podem prejudicar os tecidos biológicos e, assim, o organismo humano (KAMAL-ELDIN et al., 2003; HAMMOND et al., 2005).

3.5 Fatores que Afetam a Oxidação Lipídica nos Alimentos

3.5.1 Composição em ácidos graxos

As características inerentes a um óleo afetam a estabilidade oxidativa e a qualidade sensorial do mesmo (WHITE, 2000; NAWAR, 1998). Óleos e gorduras são primariamente compostos por triglicerídios, com uma variedade de ácidos graxos unidos à molécula de glicerol, numa disposição de combinações possíveis, dependendo da fonte animal ou vegetal. Os ácidos graxos diferem em sua suscetibilidade a oxidação; assim os ácidos graxos que compõem um óleo têm um efeito importante na estabilidade do mesmo. A posição destes ácidos graxos na molécula de glicerol também pode influenciar a taxa de oxidação (WHITE, 2000).

A estabilidade oxidativa dos ácidos graxos insaturados geralmente diminui com o aumento do grau de insaturação. A taxa de oxidação é aproximadamente proporcional ao grau de insaturação; p.ex., o ácido graxo linolênico (C18:3) com três duplas ligações é mais suscetível a oxidação que o ácido linoléico (C18:2) com apenas duas duplas ligações, mas este é duas vezes mais suscetível que o ácido oléico (C18:1) com somente uma dupla. (O'BRIEN, 2000). A taxa relativa da oxidação de ésteres purificados de ácido oléico (18:1): ácido linoléico (18:2): ácido linolênico (18:3) foram reportados sendo de 1:12:25 (WHITE, 2000; LABUZA, 1982).

Quanto à posição relativa de duplas ligações, as duplas conjugadas são mais reativas que as não conjugadas; quanto à geometria, os isômeros *cis* são mais susceptíveis a oxidação que os *trans* correspondentes. Os ácidos graxos livres têm maior taxa de oxidação que os esterificados. A presença de altos teores de ácidos graxos livres pode aumentar a incorporação de metais provenientes do equipamento, acelerando a oxidação (NAWAR, 1985).

Fatores externos como a presença de oxigênio, luz, pró-oxidantes e antioxidantes, bem como a temperatura, o sistema lipídico e o conteúdo de umidade, também podem afetar a qualidade do óleo.

3.5.2 Oxigênio

Em altas concentrações de oxigênio, a taxa de oxidação é independente da concentração de oxigênio. Em concentrações muito baixas a taxa é proporcional à concentração. Pesquisas recentes mostraram o desenvolvimento de reversão no flavor do óleo de soja armazenado na presença de gases inertes, presumivelmente por causa das pequenas quantidades de oxigênio dissolvido no sistema (FENNEMA, 2000; WHITE, 2000; NAWAR,

1998). Além disso, o efeito da concentração do oxigênio sobre a velocidade da oxidação é influenciado também por outros fatores, como a temperatura e a área de superfície (FENNEMA, 2000).

3.5.3 Temperatura

As taxas das reações de oxidação aumentam com a temperatura e, a estabilidade do óleo é geralmente melhor a baixas temperaturas (FENNEMA, 2000; WHITE, 2000; NAWAR, 1998). No entanto, o resfriamento não necessariamente evitará a autooxidação, pois a mesma pode ocorrer sob temperaturas baixas. (ADAMS, 2001). A temperatura influencia também na relação entre a velocidade e a pressão parcial de oxigênio sobre a velocidade da reação, porque diminui a solubilidade parcial do oxigênio nos lipídios e na água (FENNEMA, 2000).

3.5.4 Sistema lipídico

O sistema lipídico também influencia na estabilidade oxidativa dos lipídios. A oxidação de um óleo ocorre em interface com o oxigênio. A taxa de oxidação aumenta em proporção com a área de superfície do lipídio exposto ao ar. Nas emulsões óleo em água, o oxigênio deve ter acesso ao lipídio por difusão na fase aquosa e passar através da interface óleo-água. A taxa de oxidação dependerá da interação entre um número de fatores, incluindo tipo e concentração do emulsificante, tamanho das gotas de óleo, área de superfície da interface, viscosidade da fase aquosa, composição e porosidade da matriz aquosa e pH (FENNEMA, 2000; WHITE, 2000; NAWAR, 1998).

3.5.5 Luz

As radiações visível, ultravioleta e gamma (γ) são promotores eficazes da oxidação de óleos e gorduras. A luz ultravioleta é a mais efetiva (ADAMS, 2001; FENNEMA, 2000). A fotoxidação é muito mais rápida que a autooxidação clássica (ADAMS, 2001).

3.5.6 Umidade

O efeito da umidade na oxidação lipídica é fortemente dependente da atividade de água de um sistema. Valores muito baixos de atividade de água ($<0,1$), típicos de produtos alimentícios secos, acentuam extremamente a oxidação. Uma atividade de água de 0,3 geralmente resulta em uma taxa mínima de oxidação, presumivelmente porque a água diminui o acesso do oxigênio ao lipídio ou reduz a atividade catalítica de metais por extinção dos radicais livres. Quando o valor da atividade de água no sistema é consideravelmente maior

(0,55-0,85), a taxa de oxidação aumenta novamente, talvez por causa do aumento da mobilização de catalisadores e do oxigênio (FENNEMA, 2000; WHITE, 2000; NAWAR, 1998). A estabilidade oxidativa de um óleo comestível é geralmente melhor em atividade de água extremamente baixa, onde a hidrólise dos ácidos graxos do glicerol é improvável (ADAMS, 2001; WHITE, 2000).

3.5.7 Pró-oxidantes

A presença de pró-oxidantes nos alimentos que contêm lipídios e nos óleos pode aumentar dramaticamente a oxidação. Os pró-oxidantes são geralmente metais de transição, particularmente aqueles que possuem dois ou mais estados de valência. A oxidação catalisada por cobre e ferro é provavelmente a mais importante do ponto de vista prático (ADAMS, 2001; WHITE, 2000; NAWAR, 1998), porém outros metais, tais como manganês, cromo, níquel, zinco, cobalto e alumínio também podem promover a oxidação (WHITE, 2000). Em pequenas concentrações, < 0.1 ppm, eles podem diminuir o período de indução e aumentar a taxa de oxidação. Tais íons metálicos, tanto nas formas livres como ligados, ocorrem naturalmente em tecidos vegetais e animais, membranas e enzimas. Eles são também introduzidos nos alimentos por contato com equipamentos metálicos utilizados durante o processamento ou armazenagem (FENNEMA, 2000; NAWAR, 1998). Enzimas como as lipases e lipoxigenases, que metabolizam a gordura e se encontram nas sementes de muitas plantas e em subprodutos tais como farelo de arroz, também atuam como pró-oxidantes. As lipases fracionam os ácidos graxos livres provenientes dos triglicerídios e provocam o processo de autooxidação. A lipoxigenase catalisa a ligação direta de oxigênio às moléculas de ácido graxo, produzindo hidroperóxidos (ADAMS, 2001).

3.5.8 Antioxidantes

Os antioxidantes são substâncias de origem natural ou sintética que podem retardar ou diminuir a taxa de oxidação. Os antioxidantes mais importantes utilizados em alimentos são os fenóis mono - ou polihídricos com anéis substituídos. Eles ou inibem a formação de radicais livres na etapa de iniciação ou interrompem a propagação das reações em cadeia dos radicais livres. Para máxima eficiência, os antioxidantes primários são usados em combinação com outros antioxidantes fenólicos ou com agentes quelantes de metais (NAWAR, 1998). Uma breve revisão da literatura sobre antioxidantes será tratada adiante.

3.6 Controle da Oxidação

Segundo Dubinsky (2001), as três medidas mais importantes para evitar ou retardar o processo de oxidação de lipídios são as seguintes:

- Processamento adequado, utilizando as Boas Práticas de Fabricação, para eliminar as impurezas lipossolúveis;
- Aplicar materiais e técnicas adequadas de envase. É importante utilizar embalagens com barreira à luz UV e envasá-los em atmosfera controlada, embalando sob vácuo ou utilizando nitrogênio.
- Utilização de antioxidantes, que apesar de não melhorarem um produto já oxidado ou ranço, são capazes de inibir ou retardar a oxidação em sua etapa inicial;

3.7 Processamento do Óleo de Soja

Quase todos os óleos e gorduras comestíveis utilizadas com fim alimentar são processados. A primeira etapa no processamento de óleos e gorduras é a separação ou extração do óleo ou gordura da semente, noz ou tecidos, de modo a maximizar o rendimento e produzir um produto lipídico de boa qualidade. Após a extração, vários procedimentos, incluindo reações químicas e separações físicas, podem estar envolvidos na conversão dos óleos e gorduras extraídos em produtos comestíveis (O'BRIEN, 2000).

A estabilidade oxidativa do óleo de soja pode ser afetada, além dos fatores já mencionados, pelo manuseio dos grãos antes da extração e pelas condições de processamento, incluindo umidade; danos e temperatura excessivos nos grãos; exposição ao oxigênio; contaminação por metais pró-oxidantes e exposição à luz. A produção de um óleo de soja de boa qualidade requer controle na colheita dos grãos de soja, durante a estocagem dos mesmos, durante e após o processamento do óleo, a fim de protegê-los contra as deteriorações até chegar ao consumidor (HAMMOND et al., 2005).

O óleo de soja pode apresentar reversão do sabor, tornando-o menos desejável em algumas aplicações, especialmente onde se espera longa vida de prateleira e para processar um produto frito ou cozido em óleo (GUPTA, 2001). A finalidade em refinar o óleo de soja está em eliminar as impurezas lipossolúveis e compostos minoritários (fosfolipídios, ácidos graxos livres, pigmentos, esteróis, hidrocarbonetos, metais, produtos de oxidação) que se encontram presentes no óleo bruto, sendo absolutamente indispensável para conseguir os

melhores padrões de qualidade possíveis em sabor, aparência e estabilidade, tendo como consequência à aceitação pelo consumidor (ERICKSON, 2001).

Os processos unitários que se empregam para conseguir eliminar tais compostos são: degomagem, neutralização, branqueamento e desodorização. As gomas ou fosfatídios, os complexos metálicos e os ácidos graxos livres se eliminam na degomagem e na neutralização. Os produtos de oxidação, traços de metais e pigmentos são eliminados durante o branqueamento e, nesta etapa também são eliminados os traços de gomas e sabão remanescentes dos processos anteriores (degomagem ou neutralização). A etapa final, que corresponde à desodorização, serve para eliminar os ácidos graxos livres que ainda ficam das etapas anteriores, assim como alguns pigmentos residuais e sabores e odores indesejáveis (ERICKSON, 2001). Os ácidos graxos livres resultam da hidratação do óleo ou gordura pela umidade, reação que ocorre principalmente em óleos brutos, os quais possuem alto conteúdo inicial de ácidos graxos livres como resultado da hidrólise enzimática ocorrida durante a colheita, transporte ou armazenamento (O'BRIEN, 2000). A desodorização não eliminará os produtos de oxidação já que alguns desses não são voláteis sob condições normais de desodorização. A única etapa do processamento que eliminará estes produtos de oxidação é o branqueamento (ERICKSON, 2001).

As condições de armazenagem e manipulação do óleo durante o processamento têm um papel significativo na estabilidade do mesmo. Evans et al. (1960) citado por Gupta (2001), mostraram que o óleo de soja com valores elevados de peróxido, apesar de apresentarem níveis baixos de peróxido após a desodorização, se deteriora rapidamente durante o seu armazenamento.

3.8 Embalagem PET [poli (tereftalato de etileno)]

A principal função das embalagens é proteger o alimento, ajudando na manutenção da vida útil, atuando como barreira contra o oxigênio, à umidade e às radiações solares (FARIA, 1991).

Sob o ponto de vista da estabilidade oxidativa, as embalagens metálicas são ideais, já que oferecem alta barreira contra luz e oxigênio, porém, estas vêm sendo substituídas gradativamente pelas embalagens plásticas, principalmente PET. Entre as vantagens da embalagem PET estão a resistência mecânica a impactos e quedas; boa rigidez e estabilidade a deformações; visualização do produto pelo consumidor, pois é transparente; a possibilidade

para desenhos modernos, atraentes e diferenciados; o uso de bicos dosadores e, o fato de ser reciclável (LEME, 1994).

Apesar de oferecer resistência química a ácidos, bases e vários solventes, a embalagem PET não oferece barreira adequada para a luz, oxigênio e vapor d'água. Desta forma, os óleos embalados em PET apresentam uma vida de prateleira menor do que os óleos embalados em latas e é comum neste tipo de embalagem a adição de antioxidantes para retardar a oxidação dos óleos (ALBUQUERQUE; ANJOS, 1991; ARRUDA, 2002).

3.9 Antioxidantes

Em um sistema biológico, um antioxidante pode ser definido como “qualquer substância que quando presente em baixas concentrações, em comparação ao substrato oxidável, retarda ou previne significativamente a oxidação do mesmo”. O substrato oxidável pode ser uma molécula encontrada em alimentos ou em material biológico, incluindo carboidratos, DNA, lipídios e proteínas. Os alimentos são sistemas compostos por uma variedade de biomoléculas e, esta definição descreve bem um antioxidante. Entretanto, os órgãos que regulamentam a área classificam os antioxidantes como um aditivo alimentar e os define como “substâncias utilizadas para preservar o alimento por retardar a deterioração, a rancidez ou a descoloração devida à oxidação” (WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005; CHEUNG et al., 2003; GORDON, 2001).

Os antioxidantes protegem os sistemas biológicos contra os potenciais efeitos maléficos dos processos ou reações que podem causar oxidação excessiva. Tal atividade antioxidante está relacionada com a prevenção de doenças, como diferentes tipos de câncer, doenças cardiovasculares, disfunção cerebral e catarata (CASTRO et al., 2005; CHEUNG et al., 2003; GUTIÉRREZ et al., 2003; ARNAO et al., 2001; ARNAO, 2000).

Em óleos e gorduras, os antioxidantes retardam o início da oxidação ou diminuem a taxa das reações. A oxidação dos lipídios produz compostos com diferentes odores e sabores (*off-flavours*) que continuam afetando outras moléculas do alimento. A principal razão de usar um antioxidante como aditivo alimentar é manter a qualidade do alimento e estender sua vida útil (WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005).

Os antioxidantes podem ser agrupados, de acordo com seu mecanismo de ação, em dois grupos principais: antioxidantes primários, que reagem com os radicais lipídicos para produzir produtos estáveis; e antioxidantes secundários, que retardam o processo de oxidação por mecanismos diversos (WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005; KOLAKOWSKA, 2003;

GORDON, 2001). De acordo com essa classificação, alguns antioxidantes exibem mais do que um mecanismo de ação, e assim, são denominados antioxidantes de função múltipla. Outra classificação comumente usada divide os antioxidantes em cinco tipos: primários, sequestradores de oxigênio, secundários, enzimáticos e agentes quelantes (WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005; KOLAKOWSKA, 2003).

Os antioxidantes primários incluem compostos fenólicos tais como tocoferóis, carotenóides, flavonóides e ácidos fenólicos, de origem natural e, butilhidroxitolueno (BHT); butilhidroxianisol (BHA); galato de propila, de octila e de dodecila; t-butilhidroquinona (TBHQ), de origem sintética (GONZÁLEZ et al., 1998; KAMAL-ELDIN et al., 2003). Os antioxidantes secundários atuam por uma variedade de mecanismos, tais como agentes quelantes de metais (ácidos cítrico, málico e tartárico), removedores de oxigênio (ácido ascórbico, palmitato de ascorbila), conversão de hidroperóxidos em espécies não radicais (fosfolipídios), absorção por radiação UV ou desativação do oxigênio singlete (carotenóides) (WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005; DUBINSKY, 2001; GORDON, 2001).

Até as últimas duas ou três décadas, os antioxidantes sintéticos foram preferidos em função do preço e segurança (POKORNÝ; PARKANYIOVÁ, 2005). Atualmente existe uma tendência para a sua redução nos alimentos e para o uso de antioxidantes naturais (CHU; HSU, 1999).

As fontes potenciais de antioxidantes são comuns no reino vegetal: oleaginosas, especiarias, ervas, cereais, frutas, chás e café. Além de apresentar eficácia como antioxidante, os extratos devem ser disponíveis comercialmente em grande escala e apresentar preços competitivos (LAMBELET et al.; 2001; FRANKEL, 1996).

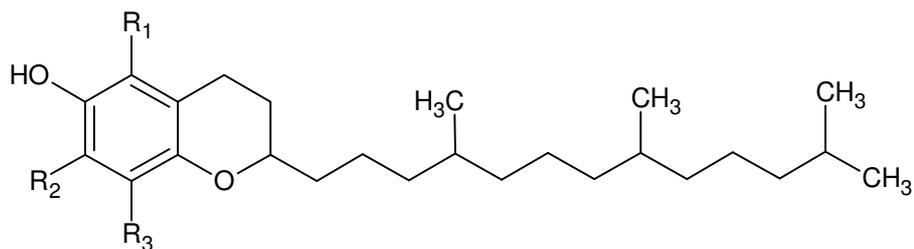
Os antioxidantes contidos nos alimentos ajudam a preservar os próprios alimentos e fornecem antioxidantes essenciais *in vivo* (SHI et al., 2001). A presença de antioxidantes naturais em alimentos e seus benefícios para a saúde em relação à prevenção e terapia do estresse oxidativo e doenças relacionadas vêm sendo estudados no mundo todo. Conseqüentemente, não somente a acentuação da vida útil dos alimentos tem sido estudada, mas também o controle da oxidação lipídica por supressão da formação de radicais livres nos alimentos para prevenir seus efeitos deletérios à saúde (WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005).

3.10 Tocoferóis

Dentre os constituintes da matéria insaponificável de óleos e gorduras, os tocoferóis e tocotrienóis despertam grande interesse em função do seu caráter vitamínico e antioxidante (SÁNCHEZ-PÉREZ et al., 2000; FERRARI, 2001). Durante muitos anos os tocoferóis têm sido propostos como aditivos em óleos e gorduras pelas suas propriedades antioxidantes. De fato, os tocoferóis concentrados a partir de óleos vegetais se denominaram inicialmente “inibidores” e foram reconhecidos como antioxidantes antes de sua identificação com a atividade de vitamina E (JOHNSON; PETERSON, 2001).

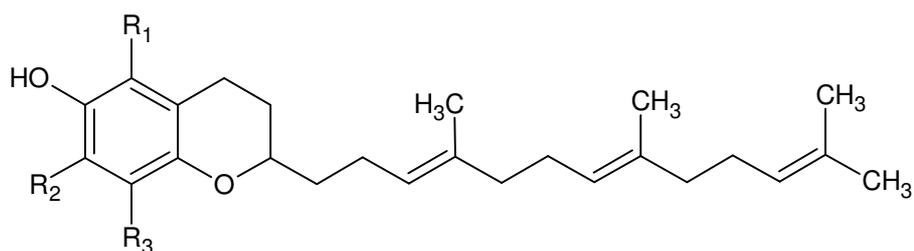
O termo vitamina E foi introduzido em 1922 por Evans e Bishop, que descreveram um fator da dieta na nutrição animal considerado importante para a reprodução normal. Em 1936 dois compostos ativos foram isolados de óleo de germe de trigo. Estes compostos foram designados α e β -tocoferol, termo derivado das palavras gregas “tocos” (parto), “phorein” (conceber) e “ol” (álcool). Nos anos seguintes, dois tocoferóis, γ e δ -tocoferol, bem como os tocotrienóis foram isolados de óleos vegetais comestíveis, e hoje um total de quatro tocoferóis e quatro tocotrienóis são conhecidos (HENSLEY et al., 2004; FERRARI, 2001; JOHNSON; PETERSON, 2001; AZZI; STOCKER, 2000).

A molécula de vitamina E pode ser dividida em duas partes, um sistema aromático hidroxilado (um anel fenólico e um heterocíclico, chamado de anel cromanol) responsável por suas propriedades antioxidantes e também uma cadeia lateral ramificada saturada com 16 carbonos (tocoferol) ou insaturada com três duplas ligações na cadeia lateral (tocotrienol), para a orientação da vitamina E na membrana lipídica. Os tocotrienóis, embora significantes em óleo de palma, são geralmente menos comuns que os tocoferóis e muito menos conhecidos acerca de suas propriedades biológicas. Os quatro tocoferóis e tocotrienóis diferem no número de grupamentos metila junto ao anel heterocíclico. Ele são designados α (5, 7, 8-trimetil), β (5, 7-dimetil), γ (7, 8-dimetil) e δ (8-metil). As formas β - e γ - são isômeros posicionais, como pode ser observado na Figura 3 (GUNSTONE, 2005; KAMAL-ELDIN, 2005; WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005; REZK et al, 2004; ABIDI, 2003; YOSHIDA et al. 2003; FERRARI, 2001).



R ₁	R ₂	R ₃	
CH ₃	CH ₃	CH ₃	α-tocoferol
CH ₃	H	CH ₃	β-tocoferol
H	CH ₃	CH ₃	γ-tocoferol
H	H	CH ₃	δ-tocoferol

(a)



R ₁	R ₂	R ₃	
CH ₃	CH ₃	CH ₃	α-tocotrienol
CH ₃	H	CH ₃	β-tocotrienol
H	CH ₃	CH ₃	γ-tocotrienol
H	H	CH ₃	δ-tocotrienol

(b)

Figura 3: Estruturas dos tocoferóis (a) e tocotrienóis (b) (SHAHIDI; ZHONG, 2005a).

Os tocoferóis são líquidos viscosos de cor geralmente amarela claro (sintéticos) ou marrom (concentrado natural), alguns dos quais podem cristalizar a temperatura ambiente (23°C) e a temperaturas mais baixas. No estado de grande pureza são relativamente inodoros e incolores. São solúveis em óleo e, portanto, totalmente solúveis em solventes lipofílicos e insolúveis em água (SHAHIDI; ZHONG, 2005a; JOHNSON; PETERSON, 2001). Os α-, β-,

γ - e δ -tocoferóis ocorrem como misturas em óleos vegetais e são os antioxidantes naturais mais importantes em gorduras (HRAS et al., 2000).

3.10.1 Mecanismo de ação

Os tocoferóis inibem a propagação de radicais livres por doação de hidrogênio do seu grupo fenólico para radicais livres lipídicos, a fim de estabilizá-los (REZK et al, 2004; ISNARDY et al., 2003; KAMAL-ELDIN et al., 2003; VALENZUELA; NIETO, 2001; KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996), pela produção de radicais tocoferoxil na reação de terminação, rendendo produtos de oxidação muito menos reativos que os radicais livres lipídicos (KOLAKOWSKA, 2003; VERLEYEN et al., 2001) estendendo desta maneira a vida útil dos óleos comestíveis (NOGALA-KALUCKA et al., 2005).

Durante a armazenagem dos óleos vegetais, os tocoferóis são convertidos em radicais livres, como os outros antioxidantes. Estes radicais livres então se polimerizam em uma mistura de dímeros e oligômeros maiores. Estes compostos oligoméricos também possuem atividade antioxidante moderada. Copolímeros de radicais livres de tocoferol com radicais livres gerados pela decomposição de hidroperóxidos lipídicos também são formados. Se o óleo ou alimento contém íons ferro ou cobre, estes oxidam os tocoferóis com formação de várias quinonas reativas, as quais facilmente polimerizam e copolimerizam (POKORNÝ; PARKANYIOVÁ, 2005).

A atividade antioxidante real dos tocoferóis em óleos comestíveis é evidente quando os tocoferóis são adicionados aos triglicerídios puros dos óleos vegetais, cujos tocoferóis naturais foram removidos através da destilação com vapor de água. A atividade antioxidante dos tocoferóis aumenta da seguinte maneira: α -tocoferol < β -tocoferol = γ -tocoferol < δ -tocoferol (POKORNÝ; PARKANYIOVÁ, 2005).

A participação dos tocoferóis nas reações de autooxidação leva a sua degradação e consumo, presumivelmente por oxidação (VERLEYEN et al., 2001), formando quinonas, hidroquinonas, tocoferóxidos dímeros e trímeros. Na ausência de oxigênio são relativamente estáveis a luz, ao calor e aos álcalis. Os ésteres preparados por acilação do hidróxi fenólico livre aumentam a estabilidade dos compostos frente ao oxigênio (NOGALA-KALUKA et al., 2005; JOHNSON; PETERSON, 2001).

3.10.2 Fonte e biogênese

O conteúdo e composição dos tocoferóis dependem da fonte do óleo. Estes freqüentemente ocorrem em pequenas quantidades em óleos mais saturados, tais como azeite

de coco, e suas fontes mais ricas são os óleos vegetais polinsaturados, seguidos por outras fontes como nozes, grãos de cereais, vegetais verdes, leite, entre outras (KAMAL-ELDIN, 2005; POKORNÝ; PARKANYIOVÁ, 2005). Os tocoferóis estão presentes nos óleos vegetais polinsaturados na forma livre (DIAZ et al, 2004; SÁNCHEZ-PÉREZ et al., 2000) e no gérmen das sementes dos cereais, enquanto os tocotrienóis são encontrados na camada de aleurona e subaleurona das sementes de cereais e no óleo de palma (YOSHIDA et al, 2003; SÁNCHEZ-PÉREZ et al., 2000). Apesar da estrutura química semelhante, os tocoferóis e tocotrienóis apresentam atividade biológica diferenciada (YOSHIDA et al., 2003). Estão presentes em óleos vegetais em concentrações variadas que podem ser observadas na Tabela 3.

Tabela 3: Conteúdo típico de tocoferóis em alguns óleos refinados.

Óleo	Tocoferóis (ppm)			Total
	α	γ	δ	
Milho	90	810	-	900
Algodão	600-710	240-270	-	870-950
Banha	23	-	-	27
Palma	300-500	-	-	560
Amendoim	200	200	-	420
Farelo de arroz	580	330	-	910
Soja				
Bruto	200	980	500	1680
Refinado	200	740-780	-	940-990

Fonte: WAN, P.J. (2000)

O padrão de distribuição dos tocoferóis modifica-se segundo as espécies, variedade, etapa de maturidade, procedimentos de colheita e processamento. A ação das enzimas oxidantes nos tecidos vegetais danificados e as técnicas de refinação dos óleos são destrutivas para o conteúdo de tocoferóis. A exposição dos tocoferóis aos peróxidos formados na rancidez oxidativa em desenvolvimento nas gorduras também diminui o conteúdo dos mesmos. Sendo assim, os alimentos refinados e processados são fontes variáveis e menos previsíveis que os alimentos frescos (JOHNSON; PETERSON, 2001).

Baseada em dados fragmentados, se considera que a biogênese dos tocoferóis na vida vegetal está determinada através dos compostos intermediários da estrutura tocotrienol. A forma α - como rota alternativa pode surgir como consequência de metilações sucessivas de mono- e di-tocóis substituídos ou transmetilações. Estas hipóteses surgiram da modificação nas estruturas tocol e tocotrienol durante as etapas de desenvolvimento da vida vegetal. Os

tocoferóis possuem um papel no desenvolvimento na vida das plantas e não são meramente substâncias exógenas (JOHNSON; PETERSON, 2001).

3.10.3 Obtenção

Os compostos comerciais mais importantes são α -, γ - e a mistura de tocoferóis. Os primeiros dois são comumente sintetizados e o último é um subproduto dos óleos vegetais processados (WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005; VICETTI et al., 2005).

O processamento dos alimentos elimina uma considerável quantidade de tocoferóis e, ainda que contenham boas quantidades destes, contém consideravelmente menos que o óleo bruto (JOHNSON; PETERSON, 2001).

Durante o processamento, o óleo vegetal é tratado com vapor superaquecido sob baixa pressão na etapa de desodorização. Os tocoferóis são parcialmente perdidos sob estas condições. Neste mesmo processo, porém, os voláteis são coletados e os tocoferóis podem ser recuperados dos resíduos da desodorização. Estes são utilizados como antioxidantes naturais em alimentos, especialmente em produtos animais, que são desprovidos de antioxidantes naturais (POKORNÝ; PARKANYIOVÁ, 2005).

Este material coletado da etapa de desodorização dos óleos é denominado de destilado da desodorização e é uma mistura de ácidos graxos livres (especialmente durante refinamento físico), tocoferóis, fitosteróis e seus ésteres, hidrocarbonetos e produtos da oxidação lipídica (HAMMOND et al., 2005; KAMAL-ELDIN, 2005). Não é um produto que se elabora intencionalmente, tampouco é o resultado de um processo realizado para produzi-los. É um subproduto necessário da última etapa do processamento dos óleos comestíveis. As condições de processo não se decidem em função dos destilados da desodorização, pois o destilado é o resultado das trocas realizadas por outras razões (WINTERS, 2001).

A qualidade e composição do destilado da desodorização dependem das condições de processamento e da composição do óleo (HAMMOND et al., 2005; KAMAL-ELDIN; 2005). A concentração total de tocoferóis em óleos comerciais depende das etapas de processamento e das condições utilizadas para converter o óleo bruto em produtos comestíveis (EVANS et al., 2002). O destilado típico da desodorização do óleo de soja contém cerca de 33% de matéria insaponificável, dos quais 11% são tocoferóis e 18% esteróis. Os tocoferóis da soja são a maior fonte de antioxidantes lipossolúveis e vitamina E (HAMMOND et al., 2005; KAMAL-ELDIN, 2005). O óleo de soja contém uma mistura dos quatro homólogos de tocoferol (α , β , γ e δ -tocoferóis) cujas concentrações relativas são: α -tocoferol (4-10%); β -

tocoferol (1-3%); γ -tocoferol (60-66%); e δ -tocoferol (24-29%). O óleo de soja bruto contém de 1300 a 1600 ppm de tocoferol antes de processado, enquanto o óleo desodorizado contém entre 800 e 1100 ppm (EVANS et al., 2002).

A atividade de vitamina E do d- α -tocoferol é melhor que a vitamina E sintética, que é uma mistura de oito estereoisômeros. A preparação de tocoferóis e fitosteróis altamente purificados envolve etapas tais como destilação molecular, extração líquida-líquida, extração supercrítica fluida, saponificação e cromatografia (HAMMOND et al., 2005).

Nogala-Kalucha et al. (2004) avaliaram o conteúdo e a capacidade antioxidante de concentrados de tocoferol destilados da desodorização obtidos após o processamento de óleos de colza, soja e girassol. O meio testado foi banha enriquecida com concentrados de tocoferóis obtidos de três óleos vegetais versus α -, γ - e δ -tocoferóis individuais sintéticos que serviram para comparação. Todos os concentrados de tocoferóis investigados exibiram capacidade antioxidante. Seu efeito antioxidante foi significativamente menor que os δ - e γ -tocoferóis individuais, mas significativamente maior que α -tocoferol. Os resultados mostram que concentrados de tocoferóis naturais obtidos de óleos vegetais são valiosos antioxidantes alimentares e também aumentam o valor biológico e nutricional do alimento, especialmente quando administrado em gorduras animais ou alimentos de origem animal.

3.10.4 Fatores que Afetam a Ação Antioxidante dos Tocoferóis

As estruturas químicas dos tocoferóis sustentam o poder doador de hidrogênio de acordo com a ordem α - > β - > γ - > δ -. Estudos *in vitro* estabeleceram que o α -tocoferol apresenta eficiência quase ótima para inibir radicais peroxil e é incorporado nas membranas biológicas. Particularmente, o anel aromático completamente metilado e o cromanol asseguram a máxima estabilidade do radical tocoferoxil formado na reação entre o α -tocoferol e o radical peroxil (ISNARDY et al., 2003), indicando que, no caso dos antioxidantes fenólicos, a substituição do anel nas posições adjacentes ao OH, aumenta a atividade antioxidante.

No entanto, muitos profissionais têm demonstrado que a substituição na posição 5 nos 6-cromanol atua de maneira contrária; diminui a atividade antioxidante. Assim, os 6-cromanol funcionam de maneira diferente nos fenóis. Skinner e Park-Hurst (1970) citado por Johnson e Peterson (2001), observaram que uma falta de substituição na posição 5 teria como resultado a formação de uma quinona que aumenta a captura dos radicais livres e a interrupção da reação em cadeia dos radicais livres dos ácidos graxos insaturados. Estes profissionais demonstraram

em numerosas publicações que os tocoferóis γ - e δ - são melhores antioxidantes que o α -tocoferol.

A atividade antioxidante dos tocoferóis não depende somente da sua estrutura química e da reação absoluta com os radicais lipídicos, mas também da concentração, temperatura, luz, tipo de substrato e solvente, bem como a presença de espécies químicas que podem atuar como pró-oxidantes (NOGALA-KALUCKA et al., 2005; LAMBELET et al., 2001; WHITE, 2000).

O conteúdo de tocoferol natural em óleos é próximo do ótimo do ponto de vista de atividade antioxidante; entretanto, a adição de mais tocoferóis pode não aumentar substancialmente a estabilidade oxidativa do óleo. Um conteúdo extremamente alto de tocoferóis pode diminuir a estabilidade contra a oxidação em condições de armazenagem (POKORNY; PARKANYIOVÁ, 2005).

As misturas de tocoferóis naturais são utilizadas como antioxidantes, usualmente em níveis até 500 ppm, juntamente com ascorbil palmitato para aumentar a atividade antioxidante (GUNSTONE, 2005). Um número de reações contribui para a perda da atividade antioxidante dos tocoferóis, que é maior para α -tocoferol que para γ -tocoferol. γ -tocoferol é geralmente um antioxidante melhor para óleos vegetais que o α -tocoferol, em condições de armazenamento de baixa temperatura e de termo-oxidação. Foi estabelecido que γ -tocoferol degrada em uma taxa mais lenta e, desse modo, é capaz de proteger o óleo por mais tempo comparado ao α -tocoferol (KAMAL-ELDIN, 2005).

A relação entre a concentração de tocoferóis e sua atividade antioxidante pode ser influenciada pelas condições usadas para acelerar a oxidação, pela diferença na insaturação dos substratos testados, o método usado na análise da oxidação em estudos laboratoriais e pelos pontos selecionados para medir a oxidação. Estes fatores têm contribuído para as opiniões contraditórias publicadas na literatura, no que diz respeito às concentrações necessárias para estabilizar o óleo de soja. O entendimento da origem destas ambigüidades pode possibilitar aos processadores de óleo de soja o aperfeiçoamento da atividade antioxidante dos tocoferóis e a estabilidade do óleo pelo controle da concentração final restante nos produtos comestíveis (EVANS et al., 2002; FRANKEL, 1996).

Geralmente, a atividade antioxidante dos tocoferóis é maior em baixas concentrações, sendo que, em concentrações elevadas pode apresentar efeito pró-oxidante. Por exemplo, α -tocoferol exibiu atividade antioxidante ótima em concentrações entre 100 e 250 ppm. A

concentração ótima de γ -tocoferol foi entre 250 e 500 ppm (HUANG et al., 1994) e a concentração ótima para δ -tocoferol entre 500 e 1000 ppm (JUNG; MIN, 1990). A concentração ótima da mistura dos homólogos de tocoferóis presentes no óleo de soja está entre 500 e 750 ppm (HUANG et al., 1995).

Muitos pesquisadores demonstraram que os tocoferóis, particularmente o α -tocoferol, atuam como pró-oxidantes quando estão presentes em alta concentração nos óleos vegetais. Assim, cada combinação antioxidante no substrato possui uma faixa de concentração crítica para estabilidade máxima. Abaixo desta faixa crítica de concentração a inibição é ótima e, acima os tocoferóis podem inverter seus efeitos e atuar como sinérgicos na presença de pró-oxidantes. Este fenômeno, denominado inversão de atividade, parece estar relacionado ao potencial redox, assim antioxidantes com menor potencial de redução, como por exemplo, o ácido ascórbico, mostram inversão de atividade em menores concentrações do que aqueles com potenciais de redução maiores, p.ex. o δ -tocoferol (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996).

Evans et al. (2002) determinaram a concentração ótima dos tocoferóis para inibir a oxidação do óleo de soja refinado para os tocoferóis individuais (α -, γ - e δ -tocoferol) e para a mistura natural de tocoferóis no óleo de soja (proporção de tocoferol de 1:13:5 para α -, γ - e δ -tocoferol, respectivamente). A concentração dos tocoferóis individuais influenciou a taxa de oxidação do óleo, e as concentrações ótimas foram únicas para cada tocoferol. As concentrações ótimas dos α -tocoferol e γ -tocoferol foram de aproximadamente 100 e 300 ppm, respectivamente, enquanto δ -tocoferol não exibiu uma concentração ótima distinta nos níveis estudados. A concentração ótima da mistura de tocoferóis naturais variou entre 340 e 660 ppm de tocoferóis. Acima de suas concentrações ótimas os tocoferóis individuais e a mistura de tocoferóis exibiram comportamento pró-oxidante que foi pronunciado com o aumento da temperatura de 40 para 60°C.

Propriedades antioxidantes dos tocoferóis em baixa ou média temperatura tem sido objeto de numerosas investigações, embora sua ação em altas temperaturas seja pouco estudada (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996). Com respeito à estabilidade relativa dos α -, β -, γ e δ -tocoferóis em altas temperaturas, o α -tocoferol é menos estável que δ -tocoferol, enquanto β - e γ -tocoferol degradam em uma faixa intermediária (BARRERA-ARELLANO, 1999).

O efeito da temperatura foi demonstrado através do estudo das reações dos radicais de isômeros de α -, β - e γ -tocoferóis em óleo de girassol purificado em um espectro térmico entre 60 e 200°C. No caso dos três isômeros, os radicais primários (α -, β - e γ -tocoferoxil) foram observados somente quando a temperatura da reação foi de 80°C. No entanto foi registrada uma mudança a temperaturas mais elevadas (100°C ou mais), nas quais as espécies primárias foram gradualmente substituídas pelos radicais secundários (LAMBELET et al., 2001).

Na presença de luz e um fotossensibilizante disponível como a clorofila, além da atuação como seqüestradores de radicais livres, os tocoferóis também reagem com o oxigênio singlete. Warner (1993), citado por kamal-Eldin e Appelqvist (1996), estudou os efeitos da adição de α -, β -, γ - e δ -tocoferóis em várias concentrações na estabilidade fotooxidativa de óleos purificados. Os óleos com maiores níveis de α -tocoferol tiveram a melhor estabilidade a luz, mas foram os menos estáveis após estocagem no escuro a 60°C. Isto pode ser devido às diferenças mencionadas na ação dos tocoferóis como seqüestradores de radicais livres ou removedores de oxigênio singlete. Nas reações de autooxidação (agitação a 60°C no escuro), os tocoferóis podem mostrar efeito pró-oxidante se traços de íons metálicos estão também presentes no óleo. Os tocoferóis não estão relacionados com os efeitos pró-oxidantes em suas reações com o oxigênio singlete. A eficácia dos tocoferóis como removedores de oxigênio singlete (na luz) mostrou correlação direta com suas concentrações.

Outro fator que determina a ação antioxidante dos tocoferóis é a natureza do substrato ou o meio em que foi testada. Yuki e Ishikawa (1976), citados por kamal-Eldin e Appelqvist (1996), encontraram que entre nove óleos vegetais, aqueles com maiores níveis de ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) mostraram menor perda de tocoferóis durante um teste de fritura. Esta alta estabilidade dos tocoferóis em substratos altamente insaturados pode ser explicada pelo fato de que quanto maior o grau de insaturação, maior a competitividade dos ácidos graxos frente à oxidação.

A estrutura do sistema oxidado influencia amplamente a capacidade antioxidante/pró-oxidante dos antioxidantes doadores de hidrogênio. Porter et al. (1989) e Porter (1993), em sua teoria “paradoxo polar”, sugeriram que os antioxidantes polares e hidrofílicos são mais eficazes em óleos e gorduras puros ou ésteres sintéticos de ácidos graxos, enquanto que os compostos apolares são mais eficazes em matrizes lipídicas, como emulsões, micelas e membranas. Frankel et al. (1994) mostraram que os antioxidantes lipofílicos, α -tocoferol e ascorbil palmitato, foram mais eficazes em um sistema de emulsão óleo em água do que em óleo puro, enquanto o oposto foi encontrado para os antioxidantes hidrofílicos trolox e ácido

ascórbico. Este paradoxo está relacionado à atividade em superfície dos antioxidantes em sistema bifásico (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996).

3.11 Métodos para Avaliar o Estado Oxidativo e a Estabilidade

Existem vários métodos disponíveis para determinar a oxidação de lipídios em óleos (SHAHIDI, 1995). Muitas técnicas químicas, instrumentais e sensoriais são comumente usadas para monitorar a oxidação dos alimentos, para prever sua estabilidade (vida útil) e para avaliar a eficácia dos antioxidantes em diferentes sistemas lipídicos (NOGALA-KALUCKA et al., 2005). A escolha é influenciada por dois critérios: a sensibilidade do teste em relação às mudanças oxidativas e sua correlação com avaliação sensorial, tendo em vista a importância desta análise, uma vez que a rancidez se caracteriza por alterações sensoriais e é a principal consequência da oxidação. Desta forma, os métodos usados podem ser objetivos ou subjetivos e estes são determinados através das alterações químicas, físicas e sensoriais de um óleo durante a oxidação. É comum utilizar uma combinação de métodos para avaliar os produtos primários e secundários das reações oxidativas em óleos e gorduras, porém, os resultados devem ser comparados com a percepção sensorial e a aceitabilidade do produto (WHITE, 2000; SHAHIDI, 1995).

Durante a oxidação lipídica modificações primárias podem ser detectadas pela perda dos ácidos graxos insaturados, ganho de massa por incorporação de oxigênio ou formação de hidroperóxidos e dienos conjugados. Modificações secundárias podem ser monitoradas pela detecção da presença de compostos carbonil, malonaldeído e outros aldeídos, hidrocarbonetos e produtos fluorescentes formados (ALMEIDA-DÓRIA; REGITANO-D'ARCE, 2000). Os métodos sensoriais são considerados como padrão ótimo para avaliar a qualidade de óleos e gorduras, porém são dispendiosos e demorados como análise de rotina (NOGALA-KALUCKA et al., 2005).

Algumas das análises que foram realizadas no presente trabalho para determinação da identidade (índice de iodo); qualidade (índice de peróxido, extinção específica a 232 e 270 nm, índice de acidez, umidade, ponto de fumaça e análise sensorial) e estabilidade (*Oil Stability Index* - OSI) dos óleos de soja são discutidas neste tópico.

3.11.1 Índice de peróxido

O índice de peróxido é um método clássico para determinar os hidroperóxidos, os produtos primários da oxidação. O método mais utilizado é o iodométrico e baseia-se na medida do iodo (I_2) produzido por oxidação do iodeto de potássio (KI) pelos hidroperóxidos

presentes no óleo. O índice de peróxido é geralmente expresso em termos de miliequivalentes de O₂ por Kilograma do óleo (HAMMOND et al., 2005; AOCS, 2004; KULÅS; ACKMAN, 2001; WAN, 2000).

Teoricamente, o óleo recém desodorizado deve apresentar um IP de 0,0 mEq/Kg de óleo, embora quantidades mínimas de peróxidos comecem a se formar em um óleo quase imediatamente após a desodorização. Para ser considerado fresco um óleo deve ter um IP < 1,0 mEq/Kg de óleo. Para o óleo de soja, é considerado com baixa oxidação quando o IP está entre 1,0-5,0 mEq/Kg de óleo, com oxidação moderada em um IP de 5,0-10,0 mEq/Kg de óleo, com alta oxidação em um IP > 10,0 mEq/Kg de óleo, e possuindo pobre qualidade sensorial em um IP > 20,0 mEq/Kg de óleo (WHITE, 2000; ROSSEL, 1983).

Entre as vantagens em utilizar tal técnica estão a rapidez, simplicidade e a não necessidade de equipamento caro. Se realizado sob certas condições, o IP é razoavelmente exato, resultando em coeficiente de variação de <1%. Esta estimativa de qualidade, entretanto, são específicas do óleo e maiores IP podem ser aceitáveis em outros óleos, tais como óleos de milho e amendoim. As desvantagens incluem problemas no procedimento. O IP é altamente empírico, a alteração do tempo e/ou temperatura das etapas pode resultar em um resultado errático. Também o iodo pode ser liberado do iodeto de potássio durante uma reação com algum oxigênio presente na solução, resultando em uma superestimação do IP. Assim, somente um operador deve analisar todas as avaliações em um teste (WHITE, 2000).

Para interpretar os resultados dos testes de IP, se deve lembrar que os peróxidos são instáveis e formam componentes transitórios durante a oxidação. De fato, são os produtos intermediários que levam aos produtos reais da rancidez (oxidação) que atualmente causam *off-flavors*. Como resultado deste processo, o IP passa por um valor máximo em algum ponto durante a oxidação excessiva, quando a taxa de formação de hidroperóxidos é similar à taxa de decomposição dos mesmos. Após isto, o IP declina gradualmente. Assim a medida periódica do IP durante a oxidação lipídica permite o reconhecimento desses vários estágios de formação e decomposição de peróxidos (WHITE, 2000). Sendo assim, seu uso se limita aos estágios iniciais da oxidação, já que quantifica produtos primários da reação, e quanto maior o índice de peróxido inicial do óleo, mais instável às reações de oxidação (ROSSEL, 1983).

3.11.2 Extinção específica

Durante as primeiras etapas da oxidação dos ácidos graxos polinsaturados ocorre o deslocamento da posição das duplas ligações, resultando na formação de hidroperóxidos conjugados (HAMMOND et al., 2005; KULÅS; ACKMAN, 2001). O mecanismo envolve a subtração do hidrogênio alicíclico, seguido pela migração da dupla ligação, resultando em dienos conjugados, os quais demonstram uma absorção intensa a 232 nm (extinção específica 232 nm). Da mesma forma, os trienos, demonstram uma absorção a 268 e 270 nm (extinção específica 270 nm) (HAMMOND et al., 2005; AOCS, 2004). O resultado da análise de extinção específica é descrito como coeficiente de extinção da amostra $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ (AOCS, 2004).

O método de extinção específica a 232 nm mede os produtos primários da oxidação, semelhante ao índice de peróxido (HAMMOND et al., 2005; WHITE, 2000). Para avaliar a oxidação primária o método de extinção específica a 232 nm é mais rápido e simples que o método do índice de peróxido e requer muito menos amostra. Entretanto, como o valor obtido depende da composição de ácido graxo da amostra, o valor da extinção específica 232 nm pode ser usado como um método comparativo somente quando os óleos tiverem a mesma composição inicial em ácidos graxos, não podendo ser usado para comparação direta do estado oxidativo das diferentes espécies de óleos e gorduras. Como resultado, este método deve ser usado como uma medida relativa da oxidação em um óleo somente quando a composição em ácidos graxos é conhecida (HAMMOND et al., 2005; KULÅS; ACKMAN, 2001).

A medida dos valores de extinção específica 232 nm durante a oxidação de gorduras e óleos tem sido bastante correlacionada com o índice de peróxido. Enquanto o índice de peróxido é uma medida direta de peróxidos, parece provável que os produtos de oxidação de outras origens, como estruturas conjugadas de dienos, p.ex. compostos hidroxilados de ácidos graxos, contribuam para o valor de extinção específica a 232 nm. A absorbância em UV a 270 nm mede os produtos secundários de oxidação (KULÅS; ACKMAN, 2001).

Segundo Gutierrez et al., (1997) os resultados das determinações de extinção específica a 232 nm não informam o grau de deterioração do óleo, pois o efeito da oxidação sobre diferentes ácidos graxos insaturados varia em qualidade e magnitude. Entretanto, as variações nas concentrações dos compostos absorvidos a 232 nm com o tempo oferecem dados suficientes para o acompanhamento da oxidação de uma mesma amostra, com a vantagem da espectrofotometria não depender de uma reação química ou de desenvolvimento de cor.

O grau de mudança na absorvância só tem boa correlação com o grau de oxidação nos primeiros estágios (NAWAR, 1985). Segundo White (1995), como o método mede produtos primários da oxidação, seu valor se correlaciona bem com o índice de peróxido. Entretanto, os resultados obtidos por Hilst (1999), indicam baixa correlação linear entre o índice de peróxido e a extinção específica ($r = 0,31-0,50$), além de baixos coeficientes de correlação entre a medida de absorvância (extinção específica) e a avaliação sensorial ($r = 0,53-0,78$).

Mostrando boa correlação existente entre o valor da extinção específica a 232 e o índice de peróxido pode-se destacar o estudo realizado por Wanasundara et al. (1996) que encontraram ótima correlação entre esses dois métodos no óleo de soja ($r = 0,989$) e no óleo de canola ($r = 0,997$) quando submetidos à estocagem a 65°C, no escuro.

Quinteiro e Vianni (1995), estudando as características e estabilidades oxidativas de óleo de soja bruto degomado, refinado e reclarificado, concluíram que a combinação do índice de peróxido com a extinção específica a 232 nm no monitoramento da estabilidade proporciona informações mais precisas sobre o desenvolvimento do mecanismo autoxidativo do que cada um isoladamente.

3.11.3 Índice de iodo

O Índice de iodo é a medida do grau de insaturação de um óleo ou gordura, ou seja, relaciona-se com a quantidade de duplas ligações presentes na amostra e, a redução observada neste índice se deve à quebra de duplas ligações resultantes de reações de polimerização, ciclização e oxidação, sempre associada com um aumento do ponto de fusão e consistência da amostra, principalmente, à incorporação de gorduras saturadas ao óleo. Sob determinadas condições o iodo pode ser quantitativamente introduzido nas duplas ligações dos ácidos graxos insaturados e triglicérides (MORETTO et al., 2002).

O Índice de iodo é determinado pela quantidade de halogênio absorvido por 100 g da amostra. Esse método utiliza uma solução de monocloreto de iodo (ICl) em excesso em relação a capacidade de absorção da amostra, sendo esse excesso determinado como iodo, utilizando-se uma solução de tiosulfato de sódio, que reduz o iodo a iodeto (MORETTO et al., 2002; WAN, 2000). Um valor alto de iodo significa um alto grau de ácidos graxos insaturados presentes (WAN, 2000).

3.11.4 Índice de acidez

O índice de acidez pode ser definido como a quantidade em mg de hidróxido de potássio necessária para neutralizar os ácidos graxos livres ($R - COOH$) de 1 grama da

amostra de óleo em análise (AOCS, 2004) e revela o estado de conservação do óleo. A decomposição dos glicerídeos é acelerada pelo aquecimento, umidade e luz, e a rancidez é quase sempre acompanhada pela formação de ácido graxo livre. A acidez livre de uma gordura decorre da hidrólise parcial dos glicerídeos, por isso não é uma constante ou característica, mas é uma variável intimamente relacionada com a natureza e a qualidade da matéria-prima, com a qualidade e o grau de pureza da gordura, com o processamento e, principalmente, com as condições de conservação da gordura (MORETTO et al., 2002).

3.11.5 Umidade e compostos Voláteis

A umidade representa para óleos, gorduras e sementes oleaginosas um dos parâmetros de controle mais importantes, já que é conhecido que a estabilidade desses alimentos diminui com o aumento do teor de umidade (KAJISER et al., 2000). O método mais utilizado é o gravimétrico e está baseado na determinação da perda de peso do material submetido ao aquecimento (MORETTO, et al., 2002).

3.11.6 Ponto de fumaça

O ponto de fumaça é um método que está relacionado com o teor de ácidos graxos livres presentes no óleo, que são muito mais voláteis que os glicerídeos. Para todos os óleos vegetais que possuem uma composição em ácidos graxos similares, o valor de ponto de fumaça é geralmente próximo. A temperatura de fumaça é um dado importante no processo de fritura no qual o óleo é submetido a altas temperaturas (AOCS, 2004).

3.11.7 Teste de estabilidade oxidativa

Devido à necessidade de avaliar o comportamento de um óleo ou gordura quanto à oxidação foram desenvolvidos os métodos de estabilidade oxidativa que aceleram o processo e dão uma idéia de resistência ou suscetibilidade à oxidação. Neste caso, a amostra é submetida a um teste de oxidação acelerado (NOGALA-KALUCKA et al., 2005; AKOH, 1994) sob condições padronizadas é escolhido um ponto final no qual encontram-se sinais de deterioração oxidativa. Alguns parâmetros como temperatura, adição de metais, pressão de oxigênio, luz e agitação são utilizados para acelerar a oxidação nos óleos e emulsões, mas o aquecimento é o meio mais utilizado e mais eficiente para acelerar a oxidação (AKOH, 1994).

Na avaliação da estabilidade oxidativa por meio de testes acelerados, os valores de tempo de indução obtidos não podem ser convertidos diretamente em termos de vida útil real, porém se necessita desses métodos para comparar a estabilidade oxidativa de óleos e gorduras, que em condições de armazenamento a temperatura ambiente, é demasiadamente

prolongada para determinação prática (FREGA et al., 2001). A estabilidade oxidativa dos óleos e gorduras com adição de antioxidantes podem ser determinadas durante a estocagem em condições normais de armazenamento. Entretanto, em curto prazo são conduzidos testes em condições aceleradas, nas quais análises periódicas são realizadas para acompanhar alterações químicas, físicas e organolépticas (ALMEIDA-DÓRIA; REGITANO-D'ARCE, 2000).

OSI é um teste acelerado baseado em um método condutimétrico de análise de produtos secundários de oxidação (BERSET; CUVELIER, 1996) realizada a partir de equipamentos disponíveis comercialmente (Omnion Instrument). Monitora os compostos voláteis produzidos a partir de uma amostra de óleo aquecida sob aeração constante. Os ácidos voláteis produzidos pela maioria dos óleos são compostos principalmente de ácido fórmico e ácido acético. Os voláteis são retirados em água e sua taxa de formação é monitorada com base em alterações na condutividade elétrica da solução (WAN, 1995; AKOH, 1994).

A partir da análise de estabilidade oxidativa obtém-se como parâmetro o período de indução, definido como o tempo requerido para atingir um ponto final da oxidação, correspondente a um nível de rancidez detectável ou a uma surpreendente mudança na taxa de oxidação. A estabilidade oxidativa é um parâmetro que depende das características intrínsecas do óleo (como presença de oxigênio, presença de metais, estado de oxidação) e das condições de armazenamento (temperatura, oxigênio, luz, embalagem) (AKOH, 1994).

O período de indução utilizando o método OSI (horas) foi determinado nos óleos de girassol e oliva, nas temperaturas de 100, 110 e 120°C e comparado com os resultados de vida de prateleira dos óleos estocados às temperaturas de 10 e 20°C, utilizando-se índice de peróxido. Construindo as curvas de OSI versus tempo e extrapolando os valores que seriam obtidos a 10 e 20°C, chega-se a resultados que sub e superestimam a vida de prateleira, respectivamente, para os óleos de girassol e oliva. A explicação pode ser devida a que nos ensaios de estocagem o limite utilizado foi de 10 meq/kg e geralmente nos métodos acelerados, o índice de peróxido próximo do ponto final atinge 50 meq/kg ou acima (KAYA, 1993).

3.11.8 Teor de tocoferóis

Uma atenção especial tem sido dada aos antioxidantes naturais, devido aos possíveis efeitos nocivos para a saúde que possam ser causados pelos antioxidantes sintéticos. Os dados

publicados para avaliar a eficiência dos antioxidantes são difíceis de interpretar devido à metodologia questionável, particularmente devido às condições de oxidação nos métodos acelerados. A eficiência do antioxidante, geralmente, é maior à temperatura mais baixa, pois os antioxidantes voláteis como BHA e BHT são perdidos às temperaturas elevadas e os antioxidantes fenólicos em extratos naturais se decompõem nestas condições (WARNER et al., 1989).

Os tocoferóis e tocotrienóis podem ser analisados tanto por cromatografia gasosa (CG) como por HPLC. Para análise por CG, é necessária a eliminação de substâncias interferentes, principalmente dos lipídios acil pela saponificação. Esta etapa de preparação não é necessária na análise por HPLC, em que a amostra de óleo diluída pode ser injetada diretamente nas colunas de fase normal ou reversa. O HPLC de coluna normal é preferida pois é capaz de separar os pares isômeros β - e γ -tocoferol e tocotrienol, não separados pelo HPLC de fase reversa, e porque este opera com solventes orgânicos e toleram altas cargas de lipídios que são facilmente lavados por solventes apolares. Os picos de tocoferóis e tocotrienóis são detectados com os detetores ultravioletas (290 nm) e evaporadores dispersores de luz, mas os detectores de fluorescência e eletroquímicos fornecem alta sensibilidade e especificidade (KAMAL-ELDIN, 2005).

3.11.9 Análise sensorial

Os métodos objetivos medem fatores indicativos da oxidação, como os produtos de decomposição, mas apenas a avaliação sensorial quantifica a intensidade destes no flavor ou qualidade. Assim, para a indústria, a detecção de *off*-flavors da oxidação pela análise sensorial é o método mais importante para decidir quando um alimento contendo lipídio já não está próprio para consumo (SHAHIDI; ZHONG, 2005b).

A avaliação sensorial do odor e sabor do óleo de soja e seus produtos é o método final para avaliar a qualidade e estabilidade do óleo. A avaliação sensorial foi recentemente definida como “uma disciplina científica usada para medir, analisar e interpretar reações em alimentos e materiais característicos que são percebidos pelos sentidos da visão, do olfato, da gustação, do tato e da audição” (WHITE, 2000). A análise sensorial é realizada por julgadores especialistas, que durante a avaliação, devem anotar a qualidade do sabor, bem como a intensidade dos muitos *off*-flavors individualmente. Embora existam métodos analíticos sofisticados sendo utilizados para estudar a qualidade do flavor do óleo, tais como CG-MS, a avaliação sensorial por um painel treinado é ainda o método mais seguro (WAN, 2000; WHITE, 2000). Assim, a avaliação sensorial não pode ser substituída totalmente por

nenhuma análise química ou instrumental, mas alguns métodos podem correlacionar-se razoavelmente com os resultados sensoriais (HAMMOND et al., 2005; WHITE, 2000).

Os testes químicos e físicos são mais reproduzíveis e consomem menos tempo quando comparado com a avaliação sensorial, mas a avaliação da rancidez oxidativa e *off*-flavor dos óleos de soja são melhores realizados por testes sensoriais (HAMMOND et al., 2005). A correlação entre a avaliação sensorial e dois métodos químicos ou instrumentais pode caracterizar inteiramente sua qualidade (WHITE, 2000).

Às vezes, as análises químicas e físicas apresentam valores discrepantes entre si. Nesse caso, a decisão deve ficar por conta da análise sensorial (WARNER, 1996). De acordo com Jackson (1981), a avaliação sensorial é sempre necessária e, provavelmente, a mais importante técnica na determinação da oxidação de lipídios. Seria desejável eliminar os erros e os resultados subjetivos por métodos físico-químicos, mas a última decisão na qualidade dos sabores e odores deve ser dada pelos atributos sensoriais e, portanto, serão sempre subjetivos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Óleo de soja refinado produzido industrialmente pela Cargill Agrícola AS – Mairingue/SP, adicionados de diferentes concentrações de uma mistura de tocoferóis naturais (Grindox Toco 70 - 64,1g de tocoferóis/g), como segue:

Tratamento 0: Óleo de soja sem adição de antioxidantes (controle) – T0;

Tratamento 100: 100 ppm de Grindox Toco 70 – T100;

Tratamento 200: 200 ppm de Grindox Toco 70 – T200;

Tratamento 300: 300 ppm de Grindox Toco 70 – T300.

Após a adição das diferentes concentrações de tocoferóis, o óleo foi embalado em garrafas PET de 900 mL.

4.1.1 Preparação da amostra

Preparou-se 200 mL de solução de tocoferóis (24 g Grindox Toco 70 em 200 mL de óleo de soja). A solução foi adicionada com pipeta em 26 garrafas PET por tratamento, nos volumes designados para os mesmos (1, 2 e 3 mL da solução para os tratamentos T100, T200 e T300, respectivamente) e as garrafas devidamente identificadas foram para a linha de envase do óleo. O resumo da preparação das amostras e o valor real dos tocoferóis por tratamento podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4: Preparação das amostras e o valor real dos tocoferóis por tratamento

<i>Tratamento</i>	<i>Tocoferóis (ppm)</i>	<i>Garrafas 830g*</i>	<i>mL solução/830g óleo*</i>	<i>Total Solução (mL)</i>	<i>Valor Real Tocoferóis mg/Kg</i>
T0	0	26	0	0	0
T100	100	26	1	26	76,92
T200	200	26	2	52	153,8
T300	300	26	3	78	230,8
Total		104		156	

*1 garrafa de óleo = 900 mL x 0,92g/mL (densidade do óleo) = 830 g de óleo/garrafa.

4.2 Métodos

As análises foram realizadas no Laboratório de Óleos e Gorduras do Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos (CAL/CCA/UFSC), no Laboratório de Óleos e Gorduras

do Departamento de Tecnologia de Alimentos (FEA/UNICAMP) e na empresa Cargill Agrícola S.A. (Mairinque – SP), de acordo com a metodologia oficial da *American Oil Chemists Society* (AOCS, 2004), através dos seguintes métodos:

- Estabilidade oxidativa (OSI - *Oil Stability Index* - Cd 12b - 92): equipamento *Oxidative Stability Instrument* (Omnion, Rockland, MA), temperatura de 110°C, fluxo de ar de 9 L/h e peso da amostra de 5 g;
- Composição em ácidos graxos (Ce 1-91): cromatografia gasosa (CG) utilizando cromatógrafo a gás – CGC Agilent 6850 SERIES GC SYSTEM, equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar DB-23 Agilent (50% cyanopropyl), com fluxo de 1,0 mL/min; temperatura do injetor 250°C e temperatura do detector 280°C;
- Teor de tocoferóis (Ce 8-89): cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando cromatógrafo Perkin Elmer SERIES 200, detector UV/Visível Perkin Elmer LC 290, comprimento de onda – 292 nm, coluna Merck 250 x 4mm Li Chrosorb Si 60, fase móvel – Hexano / Isopropanol (99/1), 1,0 mL/min.;
- Extinção Específica (Ch 5 – 91): por absorção UV (232 e 270 nm), utilizando espectrofotômetro Hitachi, UV/Visível, Model U-1800;
- Índice de iodo (Tg 1-64);
- Ponto de fumaça (Cc 9a-48);
- Índice de acidez (Cd 3d-63);
- Umidade (Ca 2c-25);
- Índice de peróxido (Cd 8 – 53);
- Análise sensorial (Cg 2-83).

4.3 Procedimento Experimental

4.3.1 Caracterização do padrão de tocoferóis e do óleo de soja

No padrão de tocoferóis utilizado (Grindox Toco-70) foram determinadas a composição e a concentração de cada tocoferol. O óleo de soja foi caracterizado através das determinações de índice de iodo, índice de peróxido, extinção específica, índice de acidez, umidade, ponto de fumaça, análise sensorial e estabilidade oxidativa (OSI - *Oil Stability*

Index), e das análises de composição em ácidos graxos e teor de tocoferóis, em duplicata (duas garrafas de 900 mL por tratamento).

4.3.2 Avaliação da qualidade do óleo durante o armazenamento

As amostras dos quatro tratamentos foram mantidas em caixas de papelão fechadas a temperatura ambiente com média de $23,5 \pm 2,3^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa média de $53 \pm 4,4 \%$ monitoradas diariamente durante o armazenamento, utilizando termo higrômetro da marca THERMO HIGRO. A qualidade do óleo foi avaliada através da análise do teor de tocoferóis e das determinações do índice de peróxido, extinção específica, umidade, índice de acidez, ponto de fumaça e análise sensorial. As análises foram realizadas em duplicata por um período de 12 meses com periodicidade mensal (24 garrafas de 900 mL por tratamento).

4.3.3 Análise sensorial

Para a avaliação sensorial do óleo de soja foi utilizada a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ). Aproximadamente 15 mL da amostra de cada tratamento foram servidas à temperatura de $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$ em copos de vidro de 50 mL cobertos com papel alumínio e numerados e dispostos em ordens diferentes para cinco julgadores treinados, utilizando cabines individuais. Cada analista identificou o atributo e a respectiva intensidade. Os atributos sensoriais do óleo de soja refinado em relação ao sabor e odor foram descritos conforme a escala a seguir:

Nota	Atributo
9	Agradável sabor quase imperceptível;
8	Agradável, porém com sabor ligeiramente perceptível de amêndoa ou manteiga;
7	Agradável, porém com sabor moderadamente identificável de amêndoa/manteiga/cereal;
6	Sabor identificável e forte de amêndoa/ manteiga/ cereal ou suave de peixe/ranço/tinta/herbáceo/outros forte para óleo fresco;
5	Sabor moderado de peixe /ranço /tinta /papelão/ toucinho /herbáceo/outros;
4	Sabor forte de peixe/ ranço/ tinta/ papelão/ toucinho/ herbáceo/outros;
3	Sabor fortemente desagradável, intragável.

4.4 Análise Estatística dos Dados

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando o programa Statistica Versão 6.0 em nível de significância de 0,05. Foram realizadas análises de regressão linear simples e análise de contraste das determinações de peróxido, acidez, umidade, ponto de fumaça, extinção específica a 232 e 270 nm e nota sensorial para cada tratamento ao longo do tempo. A análise de regressão linear foi utilizada para o teor de tocoferóis ao longo do tempo para todos os tratamentos. A análise de correlação linear foi usada para verificar a dependência entre todas as variáveis através do tempo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do Padrão de Tocoferóis

A Tabela 5 mostra a composição do concentrado de tocoferóis (Grindox Toco-70).

Tabela 5: Composição do Grindox Toco-70

Fração de Tocoferol	mg/g
α -tocoferol	94
β -tocoferol	10
γ -tocoferol	376
δ -tocoferol	161
<i>Total</i>	<i>641</i>

A proporção das frações de tocoferóis observada esteve de acordo com as reportadas pela literatura para tocoferóis obtidos a partir do destilado desodorizado de óleo de soja (DDOS) (BUCZENKO et al., 2002; WALSH, et al., 2001).

5.2 Caracterização do Óleo de Soja

Na Tabela 6 podem ser observados os resultados para as características físico-químicas e a nota sensorial do óleo de soja estudado.

Segundo Gupta (2000), o valor de peróxido inicial entre 0 e 0,5 mEq/kg seria o ideal para o óleo de soja recém desodorizado, sendo o valor obtido de 0,7 considerado alto, levando em consideração que quanto maior o conteúdo inicial de peróxido mais rápida é a reação com o oxigênio do *headspace* e menor a estabilidade oxidativa do óleo.

Com relação à composição em ácidos graxos, o óleo estudado mostrou composição característica dos óleos de soja e de acordo com o previsto pela legislação brasileira (BRASIL, 2005 e 2006) e pelo Codex Alimentarius (CODEX, 1999).

Tabela 6: Características de identidade e qualidade do óleo de soja.

Parâmetro	Valor
Índice de Iodo (Wijs)	129±2
Índice de Peróxido (mEq/Kg)	0,7±0,1
Extinção Específica (232 nm)	6,4±0,3
Extinção Específica (270 nm)	2,7±0,2
Acidez (mg KOH/g)	0,08±0,0
Umidade %	0,03±0,007
Ponto de Fumaça (°C)	233±3
<i>Ácidos Graxos (%)</i>	
Ácido Mirístico C14:0	0,1
Ácido Palmítico C16:0	11,2
Ácido Palmitoléico C16:1	0,1
Ácido Esteárico C18:0	4,1
Ácido Oléico C18:1	24,3
Ácido Linoléico C18:2	51,8
Ácido Linolênico C18:3	4,4
Ácido Araquídico C20:0	0,4
Ácido Eicosenóico C20:1	0,3
Ácido Behênico C22: 0	0,5
Nota Sensorial	7,7

O óleo apresentou 80,9 % de ácidos graxos instaurados, sendo deste total 24,3; 51,8 e 4,4 % de ácido oléico, linoléico e linolênico, respectivamente. Pereira et al. (1991), observaram em vinte das principais variedades de soja cultivadas no Brasil, uma média de 86% de ácidos graxos insaturados no óleo recém extraído, 5 % a mais que o encontrado no presente estudo, sendo 22,5; 54,3 e 9,2 % para os ácidos oléico, linoléico e linolênico, respectivamente.

Alves et al. (2005) e Arruda et al. (2006) reportaram 80,4 e 83,7% de ácidos graxos insaturados, respectivamente, em óleo de soja refinado, sendo que os teores de ácido linoléico e linolênico (52,6 e 5,0%) reportado por Alves et al. (2005) e o teor de ácido oléico (25,2%) por Arruda et al. (2006) estiveram mais próximos do encontrado neste experimento. O teor

elevado de ácidos graxos insaturados e quantidades relativamente elevadas de ácido linolênico tornam o óleo de soja muito susceptível às reações de oxidação.

A nota sensorial inicial para o óleo de soja estudado foi de 7,7. Este resultado está de acordo com o valor reportado por Arruda et al. (2006), que reportaram para óleo de soja recém produzido nota sensorial média de 8,0. Alves et al. (2005) relataram uma nota sensorial média maior para óleo de soja recém produzido, de 8,9.

Os resultados para o teor de tocoferóis e estabilidade oxidativa para óleo de soja dos quatro tratamentos estudados podem ser observados na Tabela 7.

Tabela 7: Teor de tocoferóis e estabilidade oxidativa do óleo de soja adicionado de diferentes concentrações de tocoferóis naturais.

<i>Tratamentos</i>	<i>Frações de Tocopheróis</i>	<i>Teor (ppm)</i>	<i>OSI (horas)</i>
T0	α -tocopherol	180,3	6,3
	β -tocopherol	19,15	
	γ -tocopherol	680,3	
	δ -tocopherol	257,25	
	Total	1137	
T100	α -tocopherol	198,1	6,6
	β -tocopherol	20,5	
	γ -tocopherol	751,3	
	δ -tocopherol	280,1	
	Total	1250	
T200	α -tocopherol	210,7	6,6
	β -tocopherol	20,4	
	γ -tocopherol	805,4	
	δ -tocopherol	299,5	
	Total	1336	
T300	α -tocopherol	243,5	6,5
	β -tocopherol	20,6	
	γ -tocopherol	844,9	
	δ -tocopherol	320	
	Total	1429	

De acordo com os resultados, os teores de tocoferóis do tratamento controle (1137 mg/Kg) é semelhante aos valores reportados por Warner (2005) e Evans et al. (2002), que reportaram tocoferóis totais para óleo de soja de 1000 e 1030 mg/Kg, respectivamente. Akoh (1994) reportou um teor de tocoferóis totais para óleo de soja refinado de 788,8 mg/Kg, valor inferior ao determinado no presente trabalho.

A estabilidade oxidativa para os diferentes tratamentos variou entre 6,3 e 6,6 horas (média de 6,4), indicando estabilidade oxidativa baixa, o que é esperado em função da sua composição em ácidos graxos com teor de insaturados de 80,9% e teor relativamente elevado de ácido linolênico (4,4%). Farhoosh (2007); Arruda et al. (2006) e Akoh (1994) reportaram, em condições semelhantes às utilizadas no presente trabalho, para óleo de soja, um período de indução de 7,4; 7,6 e 9,4 horas respectivamente. A adição de tocoferóis no óleo (entre 100 e 300 ppm) não modificou a estabilidade do óleo de soja, já que a diferença nestes índices entre o controle e os tratamentos 100, 200 e 300 foi mínima (entre 0,2 e 0,3 horas).

5.3 Avaliação da Estabilidade do Óleo de Soja Durante o Período de Estocagem

Na Tabela 8 podem ser observados os resultados obtidos para o índice de peróxido, extinção específica (232 e 270 nm) e nota sensorial para os quatro tratamentos durante a estocagem.

Tabela 8: Mudanças nos índices de qualidade peróxido, extinção específica (232 e 270 nm) e nota sensorial para os quatro tratamentos de óleo de soja durante a estocagem.

Tempo (dias)	^{1,3} IP (mEq/Kg)				^{2,3} EE (232 nm)				^{2,3} EE (270 nm)				⁴ Nota Sensorial			
	T0	T100	T200	T300	T0	T100	T200	T300	T0	T100	T200	T300	T0	T100	T200	T300
0	0,7±0,14	0,5±0,14	0,7±0,14	0,7±0,07	6,3±0,31	6,7±0,51	6,3±0,24	6,4±0,12	3,0±0,2	2,6±0,33	2,6±0,08	2,7±0,03	7,7	7,7	7,7	7,7
30	1,6±0,01	1,7±0,01	1,6±0,07	1,7±0,07	5,6±0,13	5,7±0,07	6,0±0,05	5,9±0,26	2,4±0,06	2,4±0,01	2,6±0,08	2,4±0,09	7,5	7,4	7,4	7,3
60	2,0±0,3	2,0±0,08	2,3±0,13	2,3±0,26	5,9±0,07	6,4±0,49	5,9±0,13	6,0±0,16	2,4±0,08	2,5±0,15	2,4±0,08	2,4±0,05	6,0	6,3	6,7	6,3
90	2,1±0,01	2,2±0,2	2,3±0,04	2,7±0,2	6,3±0,03	6,0±0,04	5,8±0,07	6,3±0,6	2,5±0,01	2,4±0,01	2,4±0,03	2,6±0,2	6,5	7,0	6,0	6,0
120	2,5±0,3	3,0±0,03	3,1±0,1	2,7±0,03	6,0±0,14	6,2±0,09	6,4±0,25	6,2±0,26	2,4±0,08	2,5±0,06	2,6±0,1	2,5±0,07	6,3	6,2	6,0	6,3
150	2,9±0,1	2,7±0,0	2,7±0,01	2,6±0,08	6,2±0,2	6,2±0,01	6,2±0,03	6,2±0,02	2,5±0,09	2,5±0,02	2,5±0,01	2,5±0,01	6,0	6,2	6,6	6,2
180	1,7±0,0	1,9±0,2	1,9±0,2	2,1±0,01	6,1±0,04	6,2±0,04	6,2±0,01	6,3±0,01	2,5±0,02	2,5±0,03	2,5±0,02	2,5±0,03	6,0	6,0	6,0	5,5
210	2,1±0,01	2,3±0,2	2,2±0,07	2,0±0,08	6,1±0,05	6,2±0,00	6,2±0,05	6,2±0,01	2,5±0,03	2,5±0,01	2,5±0,02	2,5±0,02	6,0	6,0	6,0	5,5
240	4,5±0,28	4,6±0,13	4,7±0,0	4,8±0,15	6,3±0,03	6,3±0,03	6,5±0,3	6,2±0,01	2,5±0,02	2,5±0,01	2,6±0,1	2,5±0,01	6,2	6,0	6,0	5,8
270	2,5±0,06	2,5±0,08	2,6±0,06	2,7±0,06	7,0±0,2	7,2±0,13	7,1±0,26	7,0±0,2	2,6±0,06	2,6±0,05	2,5±0,08	2,6±0,04	5,6	5,7	6,0	5,3
300	4,1±0,0	6,1±0,16	6,1±0,04	6,4±0,33	6,9±0,29	7,0±0,11	6,5±0,4	6,9±0,03	2,6±0,09	2,6±0,01	2,4±0,2	2,6±0,03	5,3	6,0	6,2	5,7
330	3,4±0,14	3,8±0,07	3,5±0,06	3,6±0,0	7,1±0,32	6,7±0,02	6,7±0,04	6,8±0,06	2,6±0,03	2,6±0,06	2,5±0,01	2,6±0,01	5,5	5,0	6,0	5,5
360	3,7±0,14	4,8±0,25	4,6±0,2	5,6±0,08	6,6±0,22	6,6±0,08	6,6±0,02	6,8±0,2	2,5±0,07	2,5±0,05	2,5±0,01	2,6±0,11	5,6	5,6	6,1	5,6

¹ Índice de peróxido;

² Extinção específica;

³ Média de duas repetições;

⁴ Média da nota de cinco julgadores

A análise de regressão linear simples indicou que o índice de peróxido apresentou variação linear significativa ($p \leq 0,01$) durante a estocagem para os quatro tratamentos. Através da análise de contraste entre os tratamentos foi possível observar que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para o índice de peróxido, sendo R^2 de 0,58.

Considerando os valores obtidos para índice de peróxido ao longo do tempo foi possível observar que os quatro tratamentos atenderam às especificações da Anvisa (BRASIL, 2005) e do Codex Alimentarius (1999), que estabelecem um máximo de 10 mEq/Kg, durante um ano de armazenamento. Considerando o valor máximo para peróxidos permitido pelo MAPA (BRASIL, 2006), de 2,5 mEq/Kg, o óleo sem adição de tocoferóis (controle) esteve dentro da especificação por quatro meses (2,5 mEq/Kg), o óleo adicionado de 100 e 200 ppm de tocoferóis por três meses (2,2 e 2,3 mEq/Kg, respectivamente) e o óleo adicionado de 300 ppm, por dois meses (2,3 mEq/Kg).

Alves et al. (2005) e Arruda et al. (2006) observaram um aumento linear significativo (médias de $R^2 = 0,6$ e $0,9$, respectivamente) para o índice de peróxido ao longo do tempo em óleo de soja embalado em PET, sendo que os valores reportados (médias de 2,3 e 2,1, respectivamente) não ultrapassaram o valor máximo estipulado pelo MAPA durante seis meses de estocagem.

Na Tabela 8 também podem ser observados os valores da extinção específica (232 e 270 nm) para os tratamentos T0, T100, T200 e T300 durante a estocagem. A análise de regressão linear indicou que houve uma variação linear significativa da extinção específica a 232 nm para os quatro tratamentos ao longo do tempo ($p \leq 0,05$). A análise de contraste mostrou que não houve diferença significativa dos valores obtidos para este parâmetro entre os quatro tratamentos ($p > 0,05$), sendo $R^2 = 0,46$. A análise de regressão da extinção específica a 270 nm indicou que não houve variação da mesma ao longo do tempo ($p \geq 0,05$) para os tratamentos estudados.

Alves et al. (2005) reportaram valores muito menores que os observados no presente estudo, variando de 1,8 a 2,5 e 1,2 a 1,5 para extinção específica a 232 e 270 nm, respectivamente, e observaram um aumento linear significativo dos valores de extinção específica ao longo do tempo em óleo de soja embalado em PET com diferentes concentrações de absorvedores UV (0%; 0,12% e 0,22%), obtendo $R^2 = 0,93$; 0,87 e 0,90 e $R^2 = 0,94$, 0,90 e 0,93, para extinção específica a 232 e 270 nm nos três tratamentos, respectivamente. Espinoza-Atencia (1995) estudou o efeito da radiação luminosa sobre os

valores de extinção específica a 232 na embalagem de óleo de soja e observou que o aumento dos mesmos é dependente do aumento da emissão de luz através do PET. Sendo assim, o fato de que o óleo estudado no presente trabalho tenha sido armazenado ao abrigo da luz pode ser o motivo pelo qual o R^2 da extinção específica a 232 nm tenha sido de 0,46, o que significa baixa correlação da mesma com o tempo e a não variação da extinção específica a 270 nm durante o armazenamento.

Após 12 meses de estocagem a nota sensorial determinada foi de 5,6 para os óleos dos tratamentos T0, T100 e T300 e 6,1 para T200. A análise de regressão linear da nota sensorial indicou uma diminuição altamente significativa ($p < 0,0001$) da mesma ao longo do tempo para todos os tratamentos. A análise de contraste realizada entre os mesmos mostrou que não houve diferença significativa entre os mesmos durante o armazenamento, sendo $R^2 = 0,66$.

De acordo com Wan (2000), 6,0 é a menor nota aceitável para que um óleo seja considerado de boa qualidade. Desta forma, os óleos dos tratamentos 0, 100, e 200 foram considerados aceitáveis para consumo pelo período de seis meses de estocagem, enquanto que o óleo do tratamento 300, pelo período de cinco meses.

Medina-Juárez et al. (1998) relataram que após 90 dias de armazenagem, o óleo de soja apresentou uma modificação substancial no flavor, de brando/nozes para fortemente amanteigado. Em estudo realizado com óleo de soja embalado em PET, armazenado em ciclos claro/escuro e tratados com diferentes absorvedores UV, Alves et al. (2005) observaram que a nota sensorial diminuiu para uma média de 5,0 após seis meses de estocagem em todos os experimentos. Arruda et al. (2006), obteve nota sensorial média de 5,3 em óleo de soja acondicionado com diferentes concentrações de oxigênio no *head space*, após seis meses de estocagem.

Na Tabela 9 podem ser observados os resultados do índice de acidez, da umidade e do ponto de fumaça para os tratamentos T0, T100, T200 e T300 de óleo de soja durante a estocagem.

Tabela 9: Evolução do índice de acidez, da umidade e do ponto de fumaça para os quatro tratamentos de óleo de soja durante a estocagem*.

Tempo (dias)	¹ IA (mg KOH/g)				Umidade (%)				² PF (°C)			
	T0	T100	T200	T300	T0	T100	T200	T300	T0	T100	T200	T300
0	0,08±0,0	0,08±0,003	0,08±0,003	0,07±0,0	0,03±0,007	0,03±0,004	0,03±0,008	0,03±0,011	233±3	231±1,4	231±1,4	230±1,4
30	0,09±0,011	0,09±0,001	0,09±0,0	0,09±0,0	0,03±0,008	0,03±0,011	0,03±0,008	0,05±0,011	223±1,4	221±3	223±3	220±0,7
60	0,10±0,004	0,10±0,0	0,10±0,007	0,10±0,0	0,05±0,013	0,05±0,004	0,04±0,013	0,05±0,004	218±0,7	220±0,7	216±2,5	216±2,5
90	0,10±0,011	0,11±0,008	0,11±0,008	0,11±0,004	0,05±0,002	0,05±0,002	0,04±0,008	0,04±0,004	210±1,4	213±1,4	212±0,7	212±3
120	0,11±0,017	0,11±0,014	0,17±0,007	0,15±0,003	0,05±0,001	0,05±0,01	0,05±0,006	0,04±0,001	215±3	220±3	215±1,4	216±1,4
150	0,13±0,003	0,12±0,004	0,12±0,004	0,13±0,004	0,05±0,006	0,05±0,003	0,07±0,003	0,06±0,006	209±1,4	208±2,5	208±3	213±0,7
180	0,14±0,003	0,14±0,003	0,14±0,003	0,14±0,00	0,05±0,006	0,06±0,006	0,06±0,002	0,06±0,004	209±2,5	209±1,4	208±0,7	210±1,4
210	0,15±0,007	0,15±0,007	0,15±0,004	0,15±0,004	0,04±0,004	0,05±0,006	0,05±0,00	0,05±0,001	209±1,4	207,5±3	207±0,7	207±1,4
240	0,16±0,004	0,16±0,0	0,16±0,004	0,16±0,001	0,04±0,004	0,08±0,01	0,04±0,007	0,05±0,006	204±1,4	206±1,4	204±1,4	208±0,7
270	0,18±0,0	0,18±0,0	0,17±0,004	0,17±0,001	0,06±0,002	0,05±0,003	0,05±0,004	0,05±0,006	204±2,5	204±2,5	203±2,5	208±0,7
300	0,19±0,0	0,19±0,004	0,19±0,004	0,19±0,008	0,06±0,002	0,06±0,001	0,06±0,001	0,05±0,003	204±1,4	204±0,7	204±3	208±3
330	0,32±0,007	0,31±0,004	0,32±0,003	0,31±0,0	0,05±0,002	0,05±0,01	0,05±0,004	0,05±0,002	204±1,4	199±1,4	199±3	200±1,4
360	0,34±0,007	0,35±0,007	0,35±0,003	0,35±0,0	0,05±0,001	0,04±0,0	0,06±0,001	0,05±0,002	197,5±3	197±3	199±1,4	196±2,5

*Resultados = média de duas repetições;

¹ Índice de acidez;

² Ponto de fumaça.

As características de qualidade iniciais do óleo (umidade, acidez, ponto de fumaça) indicam que o mesmo foi produzido mediante um processo de refino adequado, atendendo às especificações estabelecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2006), pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005) e pelo Codex Alimentarius (1999).

Após doze meses de estocagem o índice de acidez variou de 0,07 (T300) e 0,08 (T0, T100 e T200) para 0,34 (T0) e 0,35 mg KOH/g (T100, T200 e T300) e a análise de regressão linear mostrou um aumento linear altamente significativo ($p < 0,0001$) do mesmo ao longo do tempo para os quatro tratamentos. Através da análise de contraste realizada entre os tratamentos foi possível observar que não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) para o índice de acidez, sendo $R^2 = 0,77$.

Os índices de acidez dos óleos dos quatro tratamentos estudados atenderam às especificações determinadas pela Anvisa (BRASIL, 2005) e pelo Codex Alimentarius (1999) durante todo período de armazenamento ($< 0,6$ mg KOH/g). Para as especificações do MAPA (BRASIL, 2006), que determina o valor máximo para índice de acidez de 0,2 mg KOH/g, os óleos dos quatro tratamentos estiveram em acordo por dez meses de estocagem.

Alves et al. (2005), no estudo com óleo de soja embalado em PET com diferentes absorvedores UV e Arruda et al. (2006), com óleo de soja embalados em PET e diferentes concentrações de oxigênio, também encontraram um aumento linear significativo dos ácidos graxos livres ($p < 0,0001$) para os todos os tratamentos durante a estocagem (180 dias).

Após doze meses de estocagem a umidade determinada nos óleos foi de 0,05% (T0 e T400), 0,04 (T100) e 0,06 % (T200), sendo estes valores o dobro do valor inicial de 0,02 (T100) e 0,03 % (T0, T200 e T300). A análise de regressão linear para a umidade mostrou um aumento linear significativo ao longo do tempo ($p < 0,05$), com $R^2 = 0,52$; 0,53 e 0,57 para os óleos dos tratamentos T0, T100 e T200, respectivamente. Para o óleo adicionado de 300 ppm houve um aumento linear, porém não significativo ($p > 0,05$).

Com relação aos resultados obtidos para umidade, os quatro tratamentos atenderam às especificações determinadas pela Anvisa, pelo Codex Alimentarius (máx. 0,2%) e pelo MAPA (máx. 0,1) durante um ano de armazenamento (BRASIL, 2006; BRASIL, 2005; CODEX, 1999). Arruda et al. (2006) também observaram que os níveis de umidade aumentaram para todos os tratamentos de óleo de soja embalado em PET, com diferentes concentrações de

oxigênio, durante 180 dias de armazenamento, atingindo valores de 0,07 e 0,08 % de umidade.

Nos resultados do ponto de fumaça foi observada uma diminuição de mais de 30°C nos quatro tratamentos estudados (média inicial de 231°C e média final após doze meses de 197,4°C) e a análise de regressão linear obtidos mostraram uma diminuição linear altamente significativa ($p < 0,0001$) do mesmo ao longo do tempo para todos os tratamentos. A análise de contraste entre os tratamentos indicou que não houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo $R^2 = 0,85$.

Após o quinto mês de armazenagem para os tratamentos T0, T100 e T200, e após o sexto mês para o tratamento T300, o ponto de fumaça ultrapassou os limites estabelecidos pelo MAPA (BRASIL, 2006), que determina um valor mínimo para ponto de fumaça de 210°C. Arruda et al. (2006), reportaram valores de ponto de fumaça entre 180 e 190°C em óleo de soja embalado em PET após seis meses de armazenamento.

5.4 Correlação Linear entre as Variáveis Físico-Químicas e Sensoriais

Na Tabela 10 pode ser observada a matriz de correlação linear entre as determinações físico-químicas e a análise sensorial durante o armazenamento do óleo de soja embalado em PET com diferentes concentrações (0, 100, 200 e 400 ppm) de tocoferóis naturais.

Tabela 10: Matriz de correlação linear entre as determinações físico-químicas e sensoriais.

	<i>Índice de Peróxido</i>	<i>Índice de Acidez</i>	<i>Umidade</i>	<i>Ponto de Fumaça</i>	<i>EE% (232 nm)</i>	<i>EE% (270 nm)</i>	<i>Nota Sensorial</i>
<i>Índice de Peróxido</i>	1,00						
<i>Índice de Acidez</i>	0,64*	1,00					
<i>Umidade</i>	0,47*	0,57*	1,00				
<i>Ponto de Fumaça</i>	-0,70*	-0,80*	-0,74*	1,00			
<i>EE% (232 nm)</i>	0,44*	0,59*	0,37*	-0,51*	1,00		
<i>EE% (270 nm)</i>	0,10	0,25	0,01	-0,07	0,66*	1,00	
<i>Nota Sensorial</i>	-0,59*	-0,64*	-0,69*	0,80*	-0,53*	-0,19	1,00

* correlação significativa para $p < 0,05$.

De acordo com os valores da matriz de correlação, obtidos entre as análises realizadas ao longo do tempo, se pode observar que a determinação da extinção específica a 270 nm

correlacionou-se significativamente ($p < 0,05$) apenas com a de extinção específica a 232 nm (positiva), sendo que com as demais determinações não houve correlação significativa ($p > 0,05$).

A matriz mostra uma correlação positiva significativa ($p < 0,05$) da nota sensorial com o ponto de fumaça ($R = 0,80$). Para peróxido, umidade e acidez a nota sensorial apresentou correlação significativa ($p < 0,05$) negativa, ($R = -0,59$; $-0,69$ e $-0,64$, respectivamente)

Os índices de peróxido, de acidez, umidade e extinção específica a 232 nm apresentaram correlações positivas significativas ($p < 0,05$) entre si ao longo da estocagem, e negativa para análise sensorial e ponto de fumaça. Apesar de correlacionarem-se significativamente ($p < 0,05$), a extinção específica a 232 nm e o peróxido (0,44), bem como o índice de acidez e o peróxido, mostraram correlação muito menor que a observada em outros estudos. Alves et al. (2005) observaram correlação positiva altamente significativa ($p < 0,0001$) entre o índice de peróxido e extinção específica a 232 e 270 nm ($R = 0,79$ e $0,82$, respectivamente) e entre o índice de peróxido e de acidez ($R = 0,78$).

Segundo White (1995), como o método de extinção específica a 232 nm mede produtos primários da oxidação, seu valor se correlaciona bem com o índice de peróxido. Entretanto, os resultados obtidos por Hilst (1999), também indicam baixa correlação linear entre o índice de peróxido e a extinção específica a 232 nm ($R = 0,31-0,50$), além de baixos coeficientes de correlação entre a medida de absorvidade (extinção específica a 232 nm) e a avaliação sensorial ($R = 0,53-0,78$).

5.5 Estabilidade dos tocoferóis durante a estocagem

Os resultados da composição de tocoferóis dos quatro tratamentos durante seis meses de estocagem podem ser observados na Tabela 11.

Tabela 11: Resultados iniciais do teor de tocoferóis (tempo = 0) e durante seis meses de estocagem para os tratamentos adicionados de 0, 100, 200 e 300 ppm da mistura de tocoferóis naturais.

Tratamento	Frações (ppm)	Tempo (dias)						
		0	30	60	90	120	150	180
T0	α	180,8	146,6	145,9	123,4	168,1	147,4	132,6
	β	19,1	15,3	16,9	22,8	13,3	18,7	15,6
	γ	680,3	629,4	677,1	660,6	632,2	636,9	626,6
	δ	257,2	227,1	220,9	228,9	191,5	217,4	207,6
	Total	1137	1018	1061	1036	1005	1020	982
T100	α	198,1	170,6	165,6	149,4	141,6	170,5	153,5
	β	20,5	23,3	18,4	25,7	20,7	21,2	17,7
	γ	751,7	737,1	730,4	722,0	714,5	722,3	690,0
	δ	280,1	254,6	258,1	249,9	240,7	251,6	244,0
	Total	1250	1186	1173	1147	1118	1166	1105
T200	α	210,7	172,4	174,8	174,5	160,1	193,1	157,7
	β	20,1	21,7	19	29,7	24,5	23,8	19,4
	γ	805,4	740,8	757,6	816,3	785,6	794,6	707,5
	δ	299,5	274,4	265	280,8	271,1	273,4	262,3
	Total	1336	1209	1216	1301	1241	1285	1147
T300	α	243,5	212,7	217,7	190,9	201,5	220,7	197,8
	β	20,6	27,4	19,1	32,0	28,7	26,1	21,1
	γ	844,9	890,9	901,0	912,0	917,7	906,7	833,7
	δ	320,1	336,6	331,2	317,4	318,3	319,6	309,8
	Total	1429	1468	1469	1452	1466	1473	1362

O principal tocoferol encontrado no óleo de soja estudado foi o γ -tocoferol (680,3 ppm), seguido pelo δ -tocoferol (257,2 ppm), α -tocoferol (180,8 ppm) e β -tocoferol (19,1 ppm). Estes resultados estão de acordo com o estabelecido pela legislação (BRASIL 2005; CODEX, 1999). Warner (2005) e Evans et al. (2002), reportaram para óleo de soja refinado teores de tocoferóis totais de 1000 e 1030 mg/Kg, sendo 610; 260; 120 e 10 mg/Kg de γ ; δ ; α ; e β -tocoferol e; 710, 50 e 270 mg/Kg de γ - e β -, α - e δ -, e tocoferóis, respectivamente.

Ao longo do tempo foi observada uma redução no teor de tocoferóis totais de 13.6; 11.6; 14.1 e 4.7% para os tratamentos T0, T100, T200 e T300 respectivamente. A análise de regressão linear indicou que houve variação significativa ($p < 0,05$) do teor de tocoferóis ao longo do tempo nos óleos dos tratamentos T0 e T100, sendo os valores de $R = 0,79$ e $0,85$ e de $R^2 = 0,62$ e $0,72$, respectivamente. Para os óleos dos tratamentos T200 e T00 não houve variação linear significativa durante o período avaliado ($p > 0,05$).

O monitoramento do conteúdo de tocoferóis nos óleos tem sido utilizado como um indicativo do processo de oxidação, já que a exposição dos mesmos aos peróxidos formados na rancidez oxidativa diminui o seu conteúdo (JOHNSON; PETERSON, 2001). Arruda et al. (2006) reportaram uma diminuição de 58% de tocoferóis naturais após 180 dias em óleo de soja embalado em PET armazenado no escuro.

Frankel et al. (1959), estudando a estabilidade de tocoferóis durante a autooxidação (teste acelerado a 60 e 100°C) em óleos refinados e gorduras de várias fontes comerciais, observaram que a perda de tocoferóis durante a autooxidação foi muito menor em óleos vegetais altamente insaturados (p.ex., óleo de soja) que em óleo de algodão e banha, sugerindo que os hidroperóxidos formados em óleos vegetais altamente insaturados decompõem-se rapidamente antes de reagirem com os tocoferóis.

Esta alta estabilidade dos tocoferóis em substratos altamente insaturados também pode ser explicada pelo fato de que quanto maior o grau de insaturação, maior a competitividade dos ácidos graxos frente à oxidação (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996).

6 CONCLUSÕES

As análises físico-químicas e sensoriais mostraram que a utilização de tocoferóis nas concentrações de 100, 200 e 300 ppm não foi eficiente em retardar a deterioração ou aumentar a vida útil do óleo de soja refinado e embalado em PET, quando armazenados em caixas de papelão seladas e a temperatura e umidade relativa ambientes.

Considerando a legislação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como a vigente para óleos vegetais no Brasil, os resultados dos parâmetros físico-químicos indicaram que os óleos dos quatro tratamentos permaneceram adequados para consumo durante 120 dias, apesar da nota sensorial dos óleos indicá-los próprio para consumo até 150 (T300), 240 (T0 e T100) e 360 dias (T200).

Os tocoferóis presentes no óleo de soja armazenado ao abrigo da luz apresentaram estabilidade elevada.

Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que outros estudos sobre a concentração adequada de tocoferóis naturais (DDOS) para a estabilização de óleos vegetais sejam realizados em vida de prateleira real, já que a maioria dos trabalhos avalia através dos métodos acelerados. Sendo os tocoferóis instáveis em altas temperaturas, o comportamento dos mesmos poderia ser mais bem avaliado em armazenamento ambiente, a fim de se chegar a uma concentração destes antioxidantes que os tornassem úteis para a indústria de óleos vegetais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIOVE – ASSOCIAÇÃO DAS INDÚSTRIAS BRASILEIRAS DE ÓLEOS VEGETAIS. **Informativo Abiove**. Disponível em: <<http://www.abiove.com.br>>. Acesso em: 06/11/2006.

ABIDI, S.L. Tocopherol-derived minor constituents in selected plant seed oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v. 80, n. 4, p.327-333, 2003.

ADAMS, C.A. El rol de los antioxidantes en el mantenimiento de la calidad de la grasa. In: **Libro 10° Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo II. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.733.

AKOHI, C.C. Oxidative stability of fat substitutes and vegetable oils by the oxidative stability index method. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.71, n.2, p.211-216, 1994.

ALBUQUERQUE, A.J.; ANJOS, C.A.R. PET: Packaging for edible oil. In: International Meeting On Fats & Oils Technology. Campinas, 1991. **Proceedings**. Campinas: Unicamp, 1991. p.138-139.

ALMEIDA-DORIA, R. F.; REGITANO-DARCE, M. A. B. **Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.20, p.197-213, 2000.

ALVES, M.A.O.; ARRUDA, C.S.; OGLIARI, P.J.; MEINERT, E.M.; TEIXEIRA, E.; BARRERA-ARELLANO, D.; BLOCK, J.M. Effect of the addition of ultraviolet absorber (Tinuvin 234) on the quality of soybean oil packaged in polyethylene terephthalate (PET). **Grasas Aceites**. v. 56, p.245-253, 2005.

ANDERSSON, K.; LINGNERT, H. Kinetic studies of oxygen dependence during initial lipid oxidation in rapeseed oil. **Journal of Food Science**, v. 64, n.2, 262-266, 1999.

AOCS- **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society**, Washington, 2004.

ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Food Science & Technology**, v. 11, 419-421, 2000.

ARNAO, M. B., CANO, A., ACOSTA, M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 73, p.239-244, 2001.

ARRUDA, C.S. **Efeito da concentração de oxigênio na estabilidade oxidativa do óleo de soja em garrafas PET (polietileno tereftalato)**. Campo Grande, 2002. Dissertação (Mestre em Química) – Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, 111p.

ARRUDA, C.S.; GARCEZ, W.S.; BARRERA-ARELLANO, D.; BLOCK, J.M. Industrial trial to evaluate the effect of oxygen concentration on overall quality of refined, bleached, and desodorized soybean oil in PET bottles. **JAOCs**. v. 83, n.9, p.797-802, 2006.

ATKINS, P.W. Atomic structure and atomic spectra. In: ATKINS, P.W. **Physical Chemistry**. Oxford: Oxford University Press, cap.13, p.347-386, 1991.

AZZI, A.; STOCKER, A. Vitamin E: non-antioxidant roles. **Progress in Lipid Research**. v.30, p.231-255, 2000.

BARRERA-ARELLANO, D., RUIZ-MENDEZ, V., RUIZ, G. e DOBARGANES, C. Loss of tocopherols and formation of degradation compounds in triacylglycerol model systems heated at high temperature. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 79, p.1923-1928, 1999.

BERSET, C.; CUVELIER, M.E. Méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipids et de mesure du pouvoir antioxydant. **Sciences des Aliments**. v.16, p.219-245, 1996.

BOCKISH, M. **Fats and Oils Handbook**. Champaign: AOCS Press, 1998.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. **Aprova o Regulamento Técnico Para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal**. Brasília: Diário Oficial da União, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA - Instrução Normativa nº 49, de 22 de dezembro de 2006. **Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Óleos Vegetais Refinados; a Amostragem; os Procedimentos Complementares; e o Roteiro de Classificação de Óleos Vegetais Refinados**, Brasília: Diário Oficial da União de 26/12/2006 , Seção 1 , Página 140.

BUCZENKO, G.M.; OLIVEIRA, J.S.de; VON MEIEN, O.F. Caracterização físico-química do subproduto obtido durante a desodorização do óleo de soja. **B. CEPPA**. v. 20, n.1, p.55-64, 2002.

CASTRO, I.A., MORAES BARROS, S.B., LANFER MARQUEZ, U.M., MOTIZUKI, M., HIGASHI SAWADA, T.C. Optimization of the antioxidant capacity of a mixture of carotenoids and α -tocopherol in the development of a nutritional supplement. **Food Research International**. v. 38, p.861-866, 2005.

CHEUNG, L. M., CHEUNG, P. C. K. e OOI, V. E. C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**, v. 81, p.249-255, 2003.

CHU, Y.; HSU, H. Effects of antioxidants on peanut oil stability. **Food Chemistry**. v. 66, p.29-34, 1999.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Food Standards Programme. **Codex Alimentarius for edible fats and oils. CODEX-STAN 210** Rome: FAO/WHO, 1999, v. 11, p. 3-9.

DATAMARK. Disponível em <<http://www.datamark.com.br>>. Acesso em 10 de novembro de 2006.

DIAZ, T. G., MERÁS, I. D., CABANILLAS, A. G., FRANCO, M. F. A. Voltammetric behavior and determination of tocopherols with partial least squares calibration: analysis in vegetable oil samples. **Analytica Chimica Acta**, v.511, p.231-238, 2004.

DUBINSKY, E. Utilización de los antioxidantes en grasas y aceites. In: **Libro 10º Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo II. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.733.

EMBRAPA. **Reunião anual de pesquisa de soja da região sul** - 2000. Disponível em: www.cnpt.embrapa.br/i_soja.htm. Acesso em: 15 de abril de 2004.

ERICKSON, D.R. Aspectos críticos en la refinación del aceite de soja. In: **Libro 10º Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo II. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.733.

ESPINOZA-ATENCIA, E. **Fotoxidação de óleos de soja e de milho acondicionados em embalagens plásticas**. Campinas, 1995. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. UNICAMP, Campinas, Brasil. 150p.

EVANS J.C., KODALI, D.R., ADDIS, P.B. Optimal Tocopherol Concentrations to Inhibit Soybean Oil Oxidation. **Journal of American Oil Chemistry Society**. v. 79, n.1., 47-51, 2002.

FAO – Dietary fats and oil in human nutrition. FAO – Foods and Nutrition Series. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, 1994.

FARIA, J.A.F. A função da embalagem na estabilidade de óleos vegetais. **Óleos e Grãos**. n.6, p.50-52, 1991.

FARHOOSH, R. The effect of operational parameters of the Rancimat Method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. **JAOCS**. v. 84, p.205-209, 2007.

FARMER, E.H. BLOOMFIELD, G.F. SUNDARALINGAM, A. SUTTON, D.A. The course and mechanism of autoxidation reaction in olefinic and polyfinic substances, including rubber. **Transactions of the Faraday Society**, v. 38, p.348-356, 1942.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 2000.

FERRARI, R.A. Componentes minoritários de óleos vegetais. **Óleos e Grãos**. Jan/Fev, 2001.

FRANKEL, E.N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food Chemistry**. v. 57, n. 1, p.51-55, 1959.

FRANKEL, E.N.; EVANS, C.D.; COONEY, P.M. Tocopherol oxidation in natural fats. **Agricultural and Food Technology**. v. 57, n. 1, p.51-55, 1996.

FREGA, N.; MOZZON, M.; LERCKER, G. Efectos de los ácidos grasos libres en la estabilidad oxidativa del aceite vegetal. In: **Libro 10° Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo II. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.733.

GARCÍA, W.F. Aceite de Soja: Producción nacional e internacional, exportación, consumo e industrialización. In: **Libro 10° Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo I. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.747.

GONZÁLEZ, M., BALLESTEROS, E., GALLEGO, M., VALCÁRCEL, M. Continuous-flow determination of natural and synthetic antioxidants in foods by gas chromatography. **Analytica Chimica Acta**. v. 359, p.47-55, 1998.

GORDON, M.H. The development of oxidative rancidity in foods. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M.H. **Antioxidants in food: Practical applications**.EUA: Woodhead Publishing, 2001.

GUNSTONE, F.D. Vegetable oils. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Edible Oils**. 6.ed. v.1. EUA: Wiley-Interscience, 2005.

GUNSTONE, F.D. Major sources of lipids. In: GUNSTONE, F.D., PADLEY, F.B. (eds). **Lipid technologies and applications**. New York: Marcel Dekker, 1997. p.19-50.

GUNSTONE, F.D. Chemical properties. In: GUNSTONE, F. D., HARWOOD, J.L. PADLEY, F.B. (Ed): **The lipid handbook**. London, Chapman e Haal, cap.10 p.566-571, 1994.

GUPTA, M.K. Processos para mejorar la calidad del aceite de soja. In: **Libro 10° Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo I. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.747.

GUPTA, M.K. Oil quality improvement through processing. In: O'BRIEN, R.D.; FARR, W.E.; WAN, P.J. (Eds.) **Introduction to Fats and Oils Technology**. 2. ed. Champaign :AOCS press, 2000.

GUPTA, M.K. Processing to improve soybean oil quality. **Inform**, Champaign, v.4, n.11, p. 1267-1272, 1993.

GUTIÉRREZ, M. E., GARCÍA, A. F., MADARIAGA, M. A., SAGRISTA, M. L., CASADÓ, F. J., MORA, M. Interaction of tocopherols and phenolic compounds with membrane lipid components: Evaluation of their antioxidant activity in a liposomal model system. **Life Sciences**, v. 72, p.2337-2360, 2003.

GUTIÉRREZ, R. M. E., REGITANO-D'ARCE, B. A. M., RAUEN-MIGUEL, O. M.A. Estabilidade Oxidativa do Óleo Bruto da Castanha do Pará (*Bertholletia excelsa*). **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.17, n.1, p.22-27, 1997.

HAMILTON, R. J., KALU, C., PRISK, E., PADLEY, F. B. e PIERCE, H. Chemistry of free radicals in lipids. **Food Chemistry**, 60, 193-199, 1997.

HAMMOND, E.G.; JOHNSON, L.A.; SU, C.; WANG, T.; WHITE, P.J. Soybean Oil. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Edible Oils**. 6.ed. v.2. EUA: Wiley-interscience, 2005.

HENSLEY, K., BENAKSAS, E.J., BOLLI, R., COMP, P., GRAMMAS, P., HAMDHEYDARI, L., MOU, S., PYE, Q.N., STODDARD, M.F., WALLIS, G., WILLIAMSON, K. S., WEST, M., WECHTER, W. J., FLOYD, R. A. New perspectives on vitamin E: γ -tocopherol and carboxyethylhydroxychroman metabolites in biology and medicine. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 36, p.1-15, 2004.

HILST, M. A. S. **Avaliação da Estabilidade de óleo de soja acondicionado em latas e na embalagem Tetra Brik**. Campinas, 1999, 101p. Dissertação Mestre em Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

HRAS, A. R., HADOLIN, M., KNEZ, Z. e BAUMAN, D. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 71, p.229 – 233, 2000.

HUANG, S.W., FRANKEL, E.N., GERMAN, J.B. Antioxidant activity of α - and γ -tocopherols in bulk oils and in oil-in-water emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 42, p.2108-2114, 1994.

HUANG, S.W., FRANKEL, E.N., GERMAN, J.B. Effects of individual tocopherols and tocopherol mixtures on the oxidative stability of corn oil triglycerides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 43:2345-2350, 1995.

ISNARDY, B., WAGNER, K., ELMADFA, I. Effects of α -, γ - and δ -tocopherols on the autoxidation of purified rapeseed oil triacylglycerols in a system containing low oxygen. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p.7775-7780, 2003.

JACKSON, H. W. Techniques of flavor and odor evaluation of soy oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 58, n. 3, p.227-231, 1981.

JOHNSON, A.; PETERSON, M. Componentes específicos de los aceites vegetales: tocoferoles. In: **Libro 10° Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo II. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.733.

JUNG, M.Y; MIN, D.B. Effects of α -, γ - e δ -tocopherols on oxidative stability of soybean oil. **Journal of Food Science**. v.55, n.5, 1990.

KAIJSER, A., DUTTA, P.; SAVAGE, G. Oxidative stability and lipid composition of macadamia nuts grown in New Zealand. **Food Chemistry**, v.71, p.67 -70, 2000.

- KAMAL-ELDIN, A. Minor components of fats and oils. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil & Fat Products**. 6.ed., v.3. EUA: Wiley-Interscience, 2005.
- KAMAL-ELDIN, A., MÄKINEN, M., LAMPI, A-M. The challenging contribution of hidroperoxides to the lipid oxidation mechanism. In: KAMAL-ELDIN, A. **Lipid Oxidation Pathways**. USA: AOCS Press, 2003.
- KAMAL-ELDIN, A.; APPELQVIST, L-A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**. v.31, n. 7, p.671-701, 1996.
- KAYA, A., TEKIN, A.R., ONER, M.D. Oxidative stability of sunflower and olive oils: comparison between a modified active oxygen method and long term storage. **Lebensmittel Wissenchat Technologie**, v. 26, n.5, p.464-468, 1993.
- KOLAKOWSKA, A. Lipid oxidation in food systems. In: SIKORSKI, Z; KOLAKOWSKA, A. (Eds.) **Chemical and Functional Properties of Food Lipids**. EUA: CRC Press LLC, 2003.
- KULÅS, E. e ACKMAN, R.G. Different tocopherols and the relationship between two methods for determination of primary oxidation products in fish oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 49, p.1724-1729, 2001.
- LABUZA, T.P. **Shelf-life dating of foods**. Westport: Food & Nutrition Press, Inc. 1982. 500 p.
- LAMBELET, P.; SAUCY, F.; LÖLIGER, J. Mecanismos de acción de los antioxidants. In: **Libro 10º Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo II. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.733.
- LEME, C.C.M. O uso da embalagem adequada aumenta a venda de óleos comestíveis. **Óleos e Grãos**. n.20, p. 22-29, 1994.
- LIN, S.S. Fats and oils oxidation. In: WAN, P.J. (Ed.) **Introduction to fats an oils technology**. Champaign: AOCS Press, cap. 12, p.211-231, 1991.
- MEDINA-JUÁREZ, L.M.; GONZÁLEZ-DIAZ, N.; GÁMEZ-MEZA, J.; ORTEGA-GARCIA, A.B.; MORENO-VARELA, L.; BRINGAS-ALVARADO; ANGULO-GUERRERO, O. Effects of processing on the stability of soybean oil produced in Mexico. **JAACS**. v. 9, p.1729-1733,1998.
- MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L.; KUSKOSKY, E.M. **Introdução a ciência de alimentos**. Florianópolis: UFSC, 2002. 255p.
- MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na Indústria de Alimentos**, São Paulo: Varela, 1998. 150 p.
- NAWAR, W.W. Biochemical process: lipid instability. In: TAUB, I.A.; SINGH, R.P. (Eds.) **Food Storage Stability**. EUA: CRC Press LLC, cap.4, 1998.

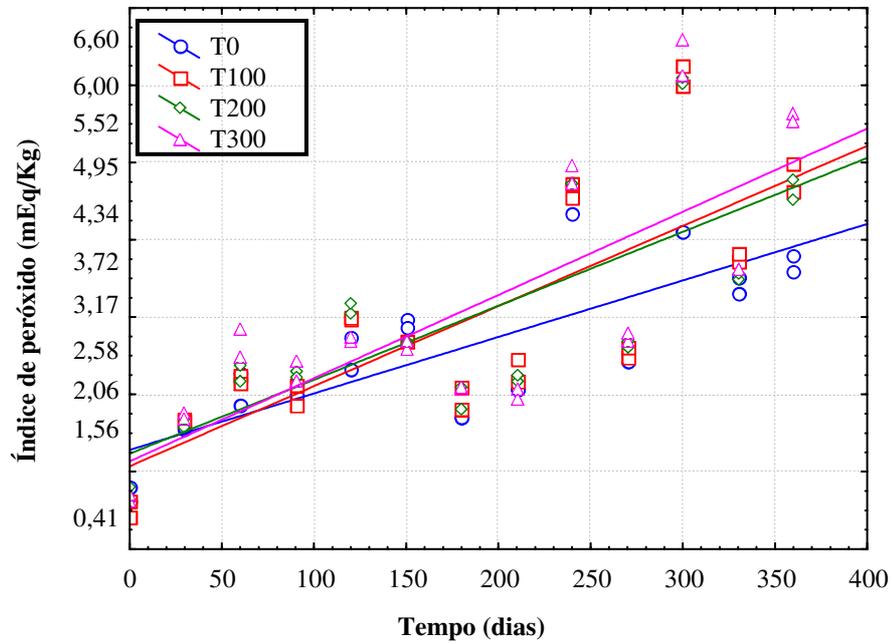
- NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). **Food Chemistry**. New York: Marcel Dekker Inc., 1985. p. 139-244.
- NOGALA-KALUCKA, M., KORCZAK, J., WAGNER, K.H., ELMAFDA, I. Tocopherol composition of deodorization and their antioxidative activity. **Nahrung-Food**. v. 48, n.1, p.34-37, 2004.
- NOGALA-KALUCKA, M., KORCZAK, J., DRATWIA, M., LAMPSRT-SZCZAPA, E., SIGER, A. e BUCHOWSKI, M. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. **Food Chemistry**, v. 93, p.227-235, 2005.
- NOVAIS, V.L. D. de. **Química Orgânica**. v. 3. São Paulo: Atual, 2000. 500 p.
- O'BRIEN, R.D., FARR, W.C., WAN, P.J. **Introduction to fats and oils technology**. 2.ed. Champaign: AOCS Press, 2000.
- O'BRIEN, R.D. Fats and Oils Processing. In: O'BRIEN, R.D., FARR, W.C., WAN, P.J. **Introduction to fats and oils technology**. 2.ed. Champaign: AOCS Press, 2000.
- OGRYZLO, E.A. Physical properties of singlet oxygen. In: GIESE, A.C. (Ed.) **Photophysiology: current topics in photobiology and photochemistry**. New York: Academic. Cap.2, p. 35-47, 1970.
- PEREIRA, D.A, JABONKLA, F.H., SZPIZ, R.R., LAGO, R.C.A, CABRAL, C. Study of twenty principal soybean varieties cultivated in Brazil with respect to quantity and quality of oil. **Proceedings/Anais International Meeting on Fats and Oils Technology – Symposium and Exhibition**. Universidade Estadual de Campinas, p. 147-149, 1991.
- POKORNÝ, J.; PARKANYIOVÁ, J. Lipids with antioxidant properties. In: AKOH, C.C.; LAI, O-M. **Healthful Lipids**. Champaign: AOCS Press, 2005.
- POUZET, A. Conociendo la soja por dentro. In: **Libro 10° Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo I. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.747.
- QUINTEIRO, L. M. C. e VIANNI, R. Características e estabilidade de óleos de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.15, n.1, p.29 – 36, 1995.
- RAMALHO, V.C., JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos , gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**. São Paulo, v. 29, n. 4, p.755-760, 2006.
- REZK, B. M., HAENEN, G. R. M., VIJGH, W. J. F. van der, BAST, A. The extraordinary antioxidant activity of vitamin E phosphate. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1683, p.16-21, 2004.
- ROSSEL, J. B. Measurement of rancidity. In: ALLEN, J. C.; HAMILTON, R. J. **Rancidity in Foods**. London: Applied Science, 1983. p. 21-45.
- ROVELLINI, P., CARTESI, N. FEDELI, E. Ossidazione dei lipid. Nota 1. **La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**. v. 74, n.5, p.181-189, 1997.
- SÁNCHEZ-PÉREZ, A., DELGADO-ZAMARREÑO, M.M., BUSTAMANTE-RANGEL, M., HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J. Automated analysis of vitamin E isomers in vegetable oils by continuous membrane extraction and liquid chromatography-electrochemical detection. **Journal of Chromatography**. v. 881, p.229-241, 2000.

- SCHAICH, K.M. Lipid oxidation: Theoretical Aspects. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil & Fat Products**. 6.ed., v.1. EUA: Wiley-Interscience, 2005.
- SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Antioxidants: regulatory status. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil & Fat Products**. 6.ed., v.1. EUA: Wiley-Interscience, 2005a.
- SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Lipid Oxidation: Measurements Methods. In: SHAHIDI, F. (Ed). **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. 6.ed., v.1. EUA: Wiley-Interscience, 2005b.
- SHAHIDI, F. Stability of fats and oils. In: Latin American Congress and Exhibit on Fats and Oils Processing, 6., Campinas, 1995. **Proceedings**. Campinas: Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras, 1995. p.47-54.
- SHERWIN, E.R. Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. **Journal of American Oil Chemists' Society**. v. 55, p.809-814, 1978.
- SHI, H; NOGUCHI, N.; NIKI, E. Introducing natural antioxidants. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M.H. **Antioxidants in food: Practical applications**.EUA: Woodhead Publishing, 2001.
- SIPOS, E.F.; SZUHAI, B.F. Aceite de Soja: Composición y propiedades físicas. In: **Libro 10° Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo I. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.747.
- SUJA, K.P., ABRAHAM, J.T., THAMIZH, S.N., JAYALEKSHMY, A., ARUMUGHAN, C. Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. **Food Chemistry**. v. 84, p.393-400, 2004.
- TAWFIK, M.S., HUYGHEBAERT, A. Interaction of Packaging Materials and Vegetable Oils: Oil Stability, **Food Chemistry**. Missouri, v.64, n.4 p.451-459, 1999.
- VALENZUELA, A.; NIETO, S. Los antioxidantes: protectores de la calidad en la industria alimentaria. In: **Libro 10° Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo III. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.753.
- VERLEYEN, T., VERHE, R., HUYGHEBAERT, A. DEWETTINCK, K. e DE GREYT, W. Identification of α -tocopherol oxidation products in triolein at elevated temperatures. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p.1508- 511, 2001.
- VICETTI, R., ISHITATANI, T., SALAS, A., AYALA, M. Use of alpha-tocopherol combined with synergists and compared to other antioxidants on the oxidative stability of sardine skin lipids. **Journal of food composition and analyses**. v.18, p.131-137, 2005.
- ZAMBIAZI, C. Oxidation reactions of vegetable oils and fats. **Boletim SBCTA**, v. 33, n.1, 1-7, 1999.
- WAGNER, K. H. e ELMADFA, I. Effects of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating. **European Journal of Lipid Science and Technology**. v.103, p.624-629, 2001.
- WALSH, L.; WINTERS, R.L.; GONZÁLES, R.G. Optimización del rendimiento de tocoferoles destilados de la desodorización. In: **Libro 10° Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo II. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.207.
- WAN, P.J. Properties of fats and oils. In: O'BRIEN, R.D., FARR, W.C., WAN, P.J. **Introduction to fats and oils technology**. 2.ed. Champaign: AOCS Press, 2000.

- WAN, P.J. Accelerated stability methods. In: WARNER, K. W.; ESKIN, N.A.M. (Eds.) **Methods to assess quality and stability of oils and fat-containing foods**. Champaign: AOCS Press, 1995, p.179-189.
- WANASUNDARA, P.K.J.P.D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: Science, technology and applications. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil & Fat Products**. 6.ed., v.1. EUA: Wiley-Interscience, 2005.
- WANASUNDARA, U.N.; SHAHIDI, F.; JABLONSKI, C. R. Comparison of standard and NMR methodologies for assessment of oxidative stability of canola and soybean oils. **Food Chemistry**, v.73, n.2, p 157-166, 1996.
- WARNER, K. Flavor and sensory evaluation. In: HUI, Y.H. (Ed.) **Bailey's Industrial Oil & Fat Products**. New York: John Wiley & Sons, 1996, cap5, p.105-144.
- 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 Chemist's Society**. v.66, n.4, p.558-564, 1989.
- WARNER, K., Effects on the flavor and oxidative stability of stripped soybean and sunflower oils with added pure tocopherols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, p. 9906-9910, 2005.
- WHITE, P.J. Flavor quality of fats and oils. In: O'BRIEN, R.D., FARR, W.C., WAN, P.J. **Introduction to fats and oils technology**. 2.ed. Champaign: AOCS Press, 2000.
- WHITE, P. J. Conjugated diene, anisidine value, and carbonyl value analyses, In: Warner, K. W.; ESKIN, N. A. M., (Eds). **Methods to assess quality and stability of oils and fat-containing foods**. Champaign: American Oil Chemist's Society. p.159-178, 1995.
- WILSON, T; HASTINGS, J.W. Chemical and biological aspects of singlet excited molecular oxygen. In: GIESE, A.C. (Ed.) **Photophysiology: current topics in photobiology and photochemistry**. New York: Academic. Cap.3, p. 49-95, 1970.
- WINTERS, R.L. Valor e utilización de los destilados del proceso de desodorización en el procesamiento de aceites comestibles. In: **Libro 10º Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo II. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.733.
- YOSHIDA, Y., NIKI, E., NOGUCHI, N. Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidant: chemical and physical effects. **Chemistry and Physics of Lipids**. v.123, p.63-75, 2003.

ANEXOS

ANEXO A - Evolução dos índices de peróxido dos tratamentos T0, T100, T200 e T400 do óleo de soja durante a estocagem.

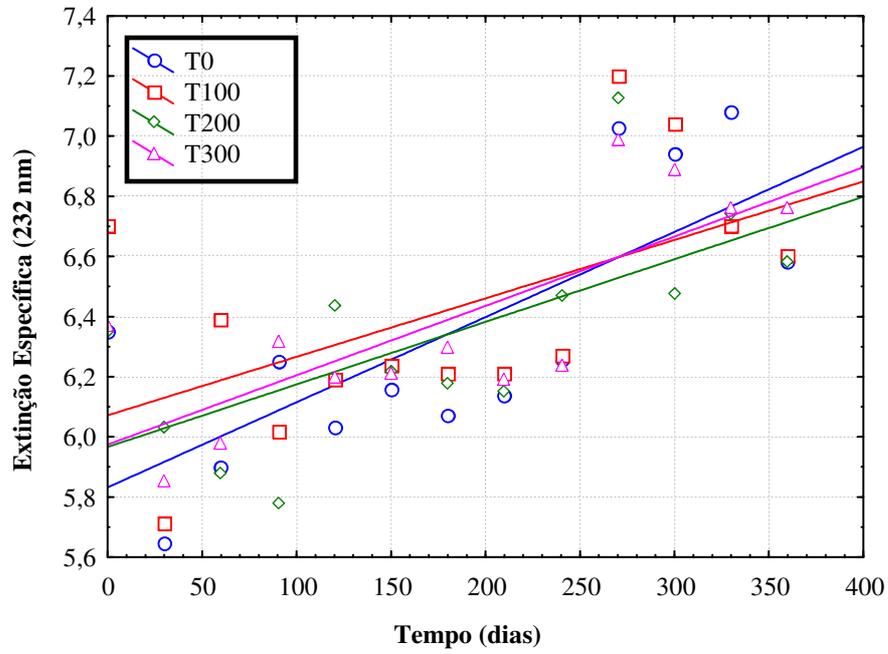


$$y = 1,179698 + 0,009501\text{dias}$$

$$R = 0,76$$

$$R^2 = 0,58.$$

ANEXO B - Extinção específica do óleo de soja a 232 nm dos tratamentos T0, T100, T200 e T400 durante a estocagem.

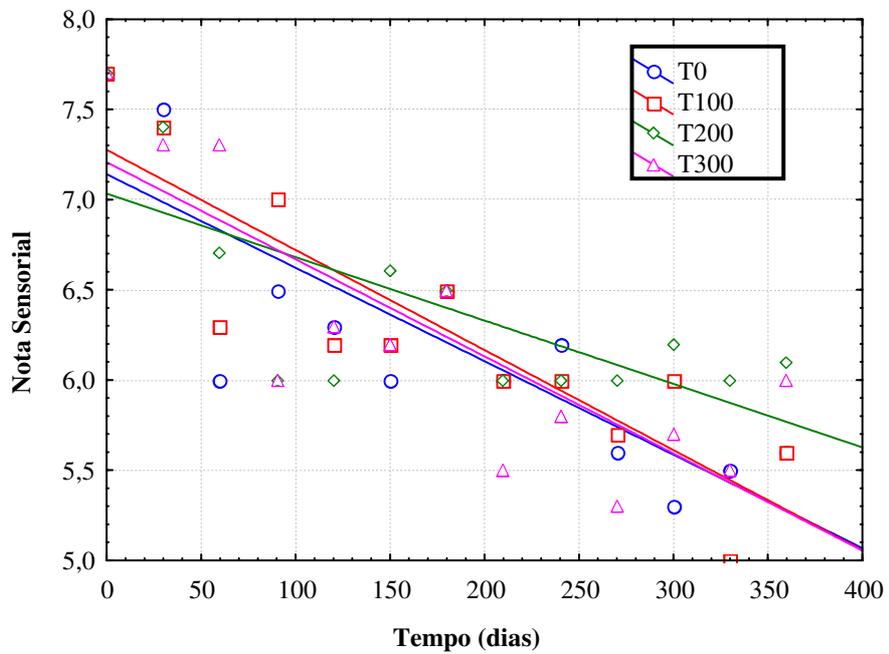


$$y = 5,960687 + 0,002292 \text{ dias}$$

$$R = 0,67$$

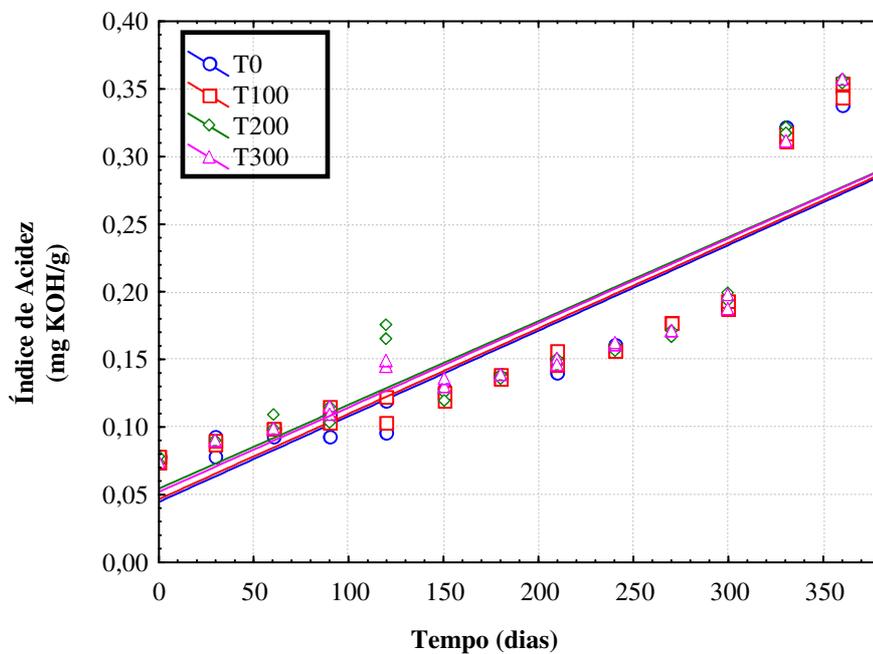
$$R^2 = 0,46$$

ANEXO C - Notas sensoriais do óleo de soja para os tratamentos T0, T100, T200 e T400 durante a estocagem.



$y = 7,164286 - 0,004908 \text{ dias}$
 $R = 0,81$
 $R^2 = 0,66$

ANEXO D - Índice de acidez do óleo de soja para os tratamentos T0, T100, T200 e T400 durante a estocagem.

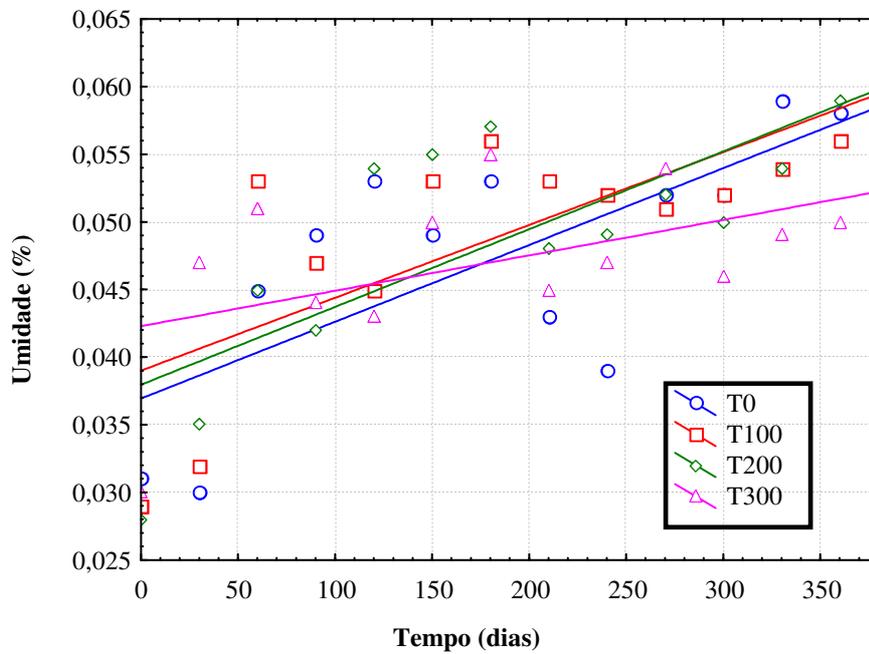


$$y = 0,049440 + 0,000627 \text{ dias}$$

$$R = 0,88$$

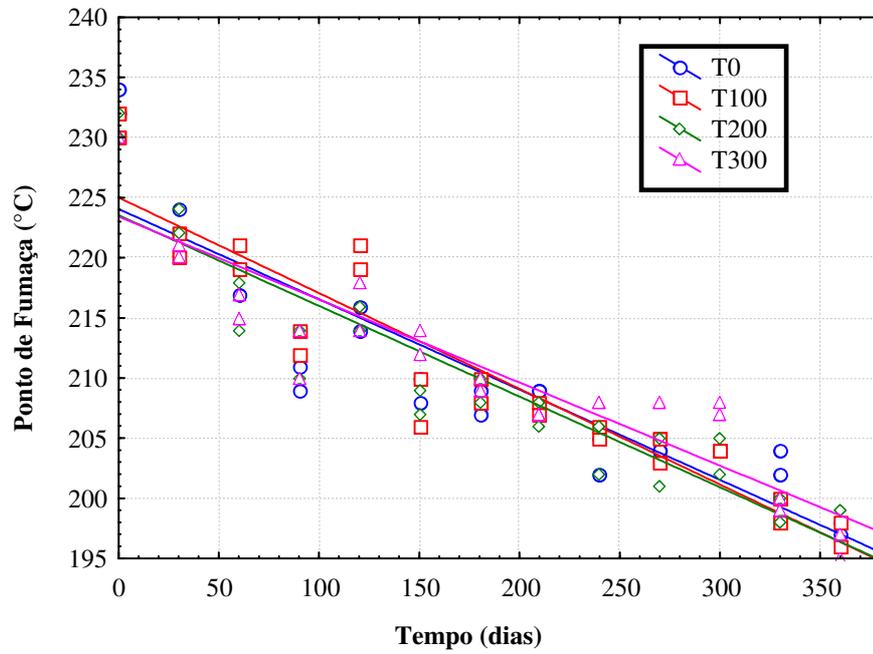
$$R^2 = 0,77$$

ANEXO E - Umidade do óleo de soja para os tratamentos T0, T100, T200 e T400 durante a estocagem.



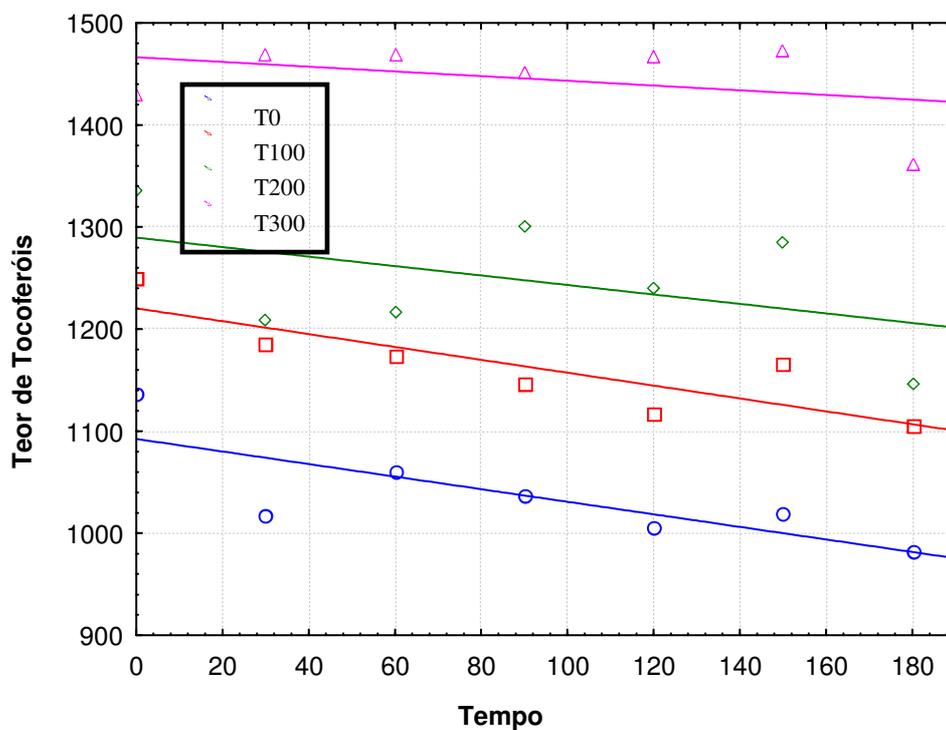
T0: $y = 0,0323928571 + 0,000125 \text{ dias}$; $R^2 = 0,5565$; $R = 0,7460$;
T100: $y = 0,0295357143 + 0,000151190476 \text{ dias}$; $R^2 = 0,5305$; $R = 0,7283$
T200: $y = 0,0319464286 + 0,000117261905 \text{ dias}$; $R^2 = 0,3805$; $R = 0,6168$
T300: $y = 0$

ANEXO F - Ponto de fumaça do óleo de soja para os tratamentos T0, T100, T200 e T400 durante a estocagem.



$y = 224,0110 - 0,0748 \text{ dias}$
 $R = 0,92$
 $R^2 = 0,85$

ANEXO G - Teores de tocoferóis do óleo de soja para os tratamentos T0, T100, T200 e T400 durante a estocagem.



T0: $y = 1092,39286 - 0,61547619 \text{ dias}; R^2 = 0,6249; R = -0,7905$
T100: $y = 1220,35714 - 0,63095238 \text{ dias}; R^2 = 0,7244; R = -0,8511$
T200: $y = 0$
T300: $y = 0$

EFEITO DA ADIÇÃO DE TOCOFERÓIS NATURAIS SOBRE A QUALIDADE DE ÓLEO DE SOJA REFINADO E EMBALADO EM PET DURANTE A ESTOCAGEM

Sabrina Matos de CARVALHO¹; Paulo J. OGLIARI¹; Daniel BARRERA-ARELLANO²; Jane Mara BLOCK¹.

¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Santa Catarina - Rod. Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi - CEP-88034-001-Florianópolis – SC, Brasil.

²Departamento de Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) – C.P. 6091 – CEP 13083-970 – Campinas, SP, Brasil.

EFEITO DA ADIÇÃO DE TOCOFERÓIS NATURAIS SOBRE A QUALIDADE DE ÓLEO DE SOJA REFINADO E EMBALADO EM PET DURANTE A ESTOCAGEM

¹Sabrina Matos de Carvalho (sabinacarvalho13@yahoo.com.br); ¹Paulo José Ogliari (ogliari@inf.ufsc.br); ²Daniel Barrera-Arellano (daniel@fea.unicamp.br); ¹Jane Mara Block* (jmblock@cca.ufsc.br)

¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Santa Catarina - Rod. Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi - CEP- 88034-001-Florianópolis – SC, Brasil.

² Departamento de Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) – C.P. 6091 – CEP 13083-970 – Campinas, SP, Brasil.

RESUMO

Em função do seu elevado teor de ácidos graxos insaturados o óleo de soja é bastante susceptível às reações de oxidação, principalmente em embalagens do tipo PET, que apresentam permeabilidade elevada para luz e oxigênio, catalisadores importantes do processo de oxidação. A adição de antioxidantes pode aumentar a vida de prateleira dos óleos e, entre os compostos naturais com atividade antioxidante os tocoferóis tem sido muito estudados. No presente trabalho foi avaliado o efeito da adição de 100, 200 e 300 mg/kg de uma mistura de tocoferóis naturais, sobre a qualidade do óleo de soja embalado em PET, armazenado em caixas de papelão e mantido a temperatura ambiente por 6 meses. As mudanças de qualidade do óleo foram monitoradas mensalmente através da determinação dos seguintes parâmetros: umidade, índice de acidez, ponto de fumaça, índice de peróxido, análise sensorial e teor de tocoferóis de acordo com a metodologia oficial da AOCS. Após 6 meses de armazenamento, os teores de umidade e índice de acidez apresentaram variações significativas ($p < 0,05$) em relação aos valores iniciais e entre os tratamentos (0,03-0,06 % e 0,07-0,14, respectivamente). O ponto de fumaça diminuiu de 231 para 209°C (valores médios para os 4 tratamentos). Houve um aumento do índice de peróxido de 0,7 mEq/Kg para valores entre 1,7 e 2,1 mEq/Kg. Foi observada uma redução no teor de tocoferóis totais de 13,6; 11,6; 14,1 e 4,7% para os tratamentos controle (sem adição de tocoferóis) e com adição de 100; 200 e 300 mg/kg respectivamente. A nota sensorial inicial diminuiu de 7,7 para 6,0 (0, 100 e 200 mg/kg) e para 5,5 (300 mg/kg). De acordo com as análises de regressão simples e de contraste entre os tratamentos não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os parâmetros avaliados durante o armazenamento. De acordo com os resultados obtidos a adição de tocoferóis naturais nas concentrações utilizadas não teve efeito significativo sobre a qualidade do óleo embalado em PET.

PALAVRAS CHAVE: tocoferóis, óleo de soja, oxidação, antioxidantes naturais, vida de prateleira, embalagem PET, controle de qualidade

EFFECT OF ADDITION OF NATURAL TOCOPHEROLS ON QUALITY OF REFINED SOYBEAN OIL PACKED IN PET DURING STORAGE

¹Sabrina Matos de Carvalho (sabinacarvalho13@yahoo.com.br); ¹Paulo José Ogliari (ogliari@inf.ufsc.br); ²Daniel Barrera-Arellano (daniel@fea.unicamp.br); ¹Jane Mara Block* (jmblock@cca.ufsc.br)

¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Santa Catarina - Rod. Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi - CEP- 88034-001-Florianópolis – SC, Brasil.

²Departamento de Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) – C.P. 6091 – CEP 13083-970 – Campinas, SP, Brasil.

ABSTRACT

Due to its high content of unsaturated fatty acids, soybean oil is highly susceptible to oxidation reactions, especially in PET type packaging, that presents high permeability to light and oxygen, important catalysts of the oxidation process. The addition of antioxidants can increase the shelf-life of the oils and, among natural compounds with antioxidant activity, tocopherols have been widely studied. In this work, the effect of the addition of 100, 200 and 300 mg/kg of a mixture of natural tocopherols on the quality of soybean oil packed in PET, stored in carton boxes and kept at ambient temperature for 6 months was evaluated. The quality alterations of the oil during storage were monitored monthly through the determination of the following parameters: moisture content, acid value, smoke point, peroxide value, sensory analysis and tocopherol content. All analyses were carried out according to official AOCS methodology. After 6 months storage, moisture content and acid value did not present significant variations with respect to the initial values and among treatments (0.03-0.06 % and 0.07 – 0.14, respectively). The smoke point decreased from 231 to 209°C (mean values for the 4 treatments). There was an increase in the peroxide value from 0.7 mEq/kg to values between 1.7 and 2.1 mEq/kg. Reductions of total tocopherol content of 13.6; 11.6; 14.1 and 4.7% were observed for the control treatment and treatments with the addition of 100; 200 and 300 mg/kg, respectively. The initial sensory score decreased from 7.7 to 6.0 (0, 100 and 200 mg/kg) and to 5.5 (300 mg/kg). Analyses of simple regression and contrast between treatments indicated that the differences among the parameters evaluated were not significant ($p>0.05$) during storage. According to the results obtained, the addition of natural tocopherols in the concentrations used in this study did not have an effect on the quality of the oil packed in PET.

KEY-WORDS: tocopherols, soybean oil, oxidation, natural antioxidants, shelf-life, PET package, quality control

1 INTRODUÇÃO

O óleo de soja, em função de sua qualidade e baixo custo, é o óleo vegetal mais consumido no Brasil (em 2005 foram consumidos 3,1 milhões de toneladas) (ABIOVE, 2006). Com relação à composição, o óleo de soja é rico em ácidos graxos insaturados, apresentando alto teor de ácido linoléico (49,8-59,0%) e, quantidade relativamente elevada de ácido linolênico (5 a 11%), o que o torna mais susceptível às reações de oxidação (BRASIL, 2005b e 2006; CODEX, 1999; BOCKISCH, 1998).

A oxidação é a principal causa de deterioração de óleos vegetais e, tem como consequência o desenvolvimento da rancidez oxidativa, caracterizada por modificações na cor, flavor e aroma do óleo, que levam geralmente à rejeição do produto, além da diminuição da qualidade nutricional dos mesmos com consequências importantes para a saúde (WAGNER e ELMADFA, 2001; HRAS et al., 2000; ANDERSON e LINGNERT, 1999). A oxidação de óleos pode ser retardada através do controle da temperatura, luz, oxigênio, utilização de embalagens adequadas e a adição de antioxidantes naturais ou sintéticos (HILST, 1999; HRAS et al., 2000; GUPTA, 2000).

Os tocoferóis estão presentes naturalmente em muitos óleos vegetais e despertam grande interesse em função da sua atividade como vitamina E e antioxidante. De acordo com a localização e grau de substituição de grupos metila no anel, são denominados α , β , γ e δ -tocoferol (SÁNCHEZ-PÉREZ et al., 2000).

Do ponto de vista da estabilidade oxidativa o teor de tocoferóis nos óleos vegetais está próximo do ótimo, mas durante o refino, principalmente na etapa de desodorização, é observada uma perda de cerca de 40% destes compostos. O Destilado de Desodorização do Óleo de Soja (DDOS), um subproduto da desodorização, é rico em tocoferóis e é utilizado como fonte para a produção de

antioxidantes naturais para alimentos (POKORNÝ e PARKÁNYIOVÁ, 2005).

A atividade antioxidante dos tocoferóis é devida, principalmente, à sua capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos, interrompendo a etapa de propagação da reação em cadeia e depende, além da estrutura química, de fatores como temperatura; composição; estado físico da gordura (líquida, emulsão); concentração de tocoferóis e da presença de espécies químicas que podem atuar como pró-oxidantes (NOGALA-KALUCKA et al., 2005; LAMBELET et al., 2001; WHITE, 2000).

Geralmente, a atividade antioxidante dos tocoferóis diminui quando sua concentração excede a ótima, podendo apresentar efeito pró-oxidante, que pode ser mais pronunciado a temperaturas mais elevadas (entre 40 e 60°C) (EVANS et al., 2002). De acordo com Huang et al. (1994), a atividade antioxidante ótima do α -tocoferol pode ser observada em concentrações de 100 a 250 ppm e, para γ -tocoferol entre 250 e 500 ppm. Jung e Min (1990) reportam para δ -tocoferol, uma concentração ótima entre 500 e 1000 ppm. Huang et al (1995) reportam atividade antioxidante de misturas de α + γ -tocoferol em concentração de 250 ppm e atividade pró-oxidante em concentrações de 500 ppm. De acordo com Evans et al. (2002), a concentração ótima α e γ -tocoferol está entre 100 e 300 ppm e, para misturas de tocoferóis encontradas naturalmente em óleo de soja (1:13:5 de α e γ e δ -tocoferol) pode variar entre 340 e 660 ppm de tocoferóis.

Misturas de tocoferóis naturais provenientes do DDOS, são produzidas e comercializadas como antioxidantes para alimentos e utilizados especialmente em gorduras animais, que não apresentam estes compostos (POKORNÝ e PARKÁNYIOVÁ, 2005). No Brasil a legislação permite a adição de no máximo 500 ppm de tocoferóis em alimentos (BRASIL, 2005a). De acordo com os fabricantes,

são indicados para uso em óleos e gorduras vegetais e animais, óleos para frituras, gorduras industriais, margarinas, maioneses e molhos, produtos assados, snacks, produtos a base de carne e frango, produtos a base de peixes; frutos do mar, grânulos e flocos de batata, cereais, cosméticos, e produtos similares, para aumentar a vida de prateleira e para a manutenção da qualidade do produto. Apesar da comercialização e indicação de uso em óleos vegetais, a maioria dos trabalhos de pesquisa realizados sobre a influência dos tocoferóis na estabilidade dos óleos vegetais foram realizados com isômeros distintos, que nem sempre refletem a ação das misturas naturalmente encontradas, ou, através métodos acelerados, que não refletem a realidade da comercialização dos óleos, dificultando a correlação dos resultados com a vida de prateleira do produto

Desta forma o presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito da adição de tocoferóis naturais sobre a qualidade do óleo de soja embalado em PET e mantido no escuro por um período de seis meses.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima: óleo de soja refinado, produzido em escala industrial pela empresa Cargill Agrícola SA - Mairingue/SP, sem adição (T0) e, com adição de 100, 200, e 300 mg/Kg (T1, T2 e T3) de um antioxidante comercial, com indicação para uso em óleos e gorduras vegetais e animais (de 100 a 500 ppm), composto de uma Mistura de Tocoferóis naturais (MT), contendo 0,64g de tocoferóis/g de produto (sendo 58,6% de γ - tocoferol, 25,1% de δ -tocoferol 14,7% de α -tocoferol e, 1,6% de β -tocoferol). Após a adição das diferentes concentrações de tocoferóis o óleo foi embalado em garrafas de PET de 900 mL.

2.2 Condições de Armazenamento: o óleo foi armazenado em caixas de papelão seladas, em temperatura ambiente média de $23 \pm 3^\circ\text{C}$ e umidade relativa média de

53,0 ± 5,0 %, monitoradas diariamente durante o período do experimento utilizando termo-higrômetro da marca THERMO HIGRO.

2.3 Procedimento Experimental

2.3.1 Caracterização do óleos de soja: O óleo de soja foi caracterizado utilizando os métodos oficiais da American Oil Chemists' Society (AOCS, 2004), através dos seguintes parâmetros:

- índice de iodo (Tg 1-64), ponto de fumaça (Cc 9a-48), índice de acidez (Ca 5a-40), umidade (Ca-2c-25), índice de peróxido (Cd 8 – 53);

Composição em ácidos graxos (Ce 1-91): ésteres metílicos obtidos de acordo com Hartman e Lago (1973) - condições da análise: Cromatógrafo Gasoso Capilar – CGC AGILENT 6850 SERIES GC SYSTEM; Coluna capilar: DB-23 AGILENT (50% cyanopropyl) – methylpolysiloxane, dimensões 60 m, Ø int: 0,25 mm, 0,25 µm filme. Gás de arraste: Hélio (fluxo coluna = 1,00 mL/min.); Velocidade linear = 24 cm/seg; Temperatura do detector: 280°C; Temperatura do injetor: 250°C; Temperatura Forno: 110°C – 5 minutos, 110 – 215°C (5°C/min), 215°C – 24 minutos.

- Composição de tocoferóis (Ce 8-89), determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando cromatógrafo Perkin Elmer SERIES 200, detector UV/Visível Perkin Elmer LC 290, comprimento de onda – 292 nm, coluna Merck 250 x 4mm Li Chrosorb Si 60, fase móvel – Hexano / Isopropanol (99/1), 1,0 mL/min.;

2.3.2 Estabilidade oxidativa: (OSI - *Oil Stability Index* - Cd 12b - 92), utilizando o equipamento *Oxidative Stability Instrument* (Omnion, Rockland, MA), temperatura de 110°C, fluxo de ar de 9 L/h e peso da amostra de 5 g;

2.3.3 Análise sensorial: método AOCS *Cg 2-83* utilizando a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ). Aproximadamente 15 mL do óleo de soja de cada tratamento foram servidos à temperatura de 45 ± 2°C em copos de vidro de 50 mL cobertos com

papel alumínio, numerados e dispostos em ordens diferentes para cinco julgadores treinados, utilizando cabines individuais. Cada analista identificou os atributos e as respectivas intensidades de sabor e odor de acordo com a Tabela 1.

TABELA 1: Atributos e respectivas intensidades de sabor e odor para avaliação sensorial de óleo de soja.

Nota	Atributo
9	Agradável sabor quase imperceptível;
8	Agradável, porém com sabor ligeiramente perceptível de amêndoa ou manteiga;
7	Agradável, porém com sabor moderadamente identificável de amêndoa/manteiga/cereal;
6	Sabor identificável e forte de amêndoa/ manteiga/ cereal ou suave de peixe/ranço/tinta/herbáceo/outros forte para óleo fresco;
5	Sabor moderado de peixe /ranço /tinta /papelão/ toucinho /herbáceo/outros;
4	Sabor forte de peixe/ ranço/ tinta/ papelão/ toucinho/ herbáceo/outros;
3	Sabor fortemente desagradável, intragável

2.3.4 Mudanças na qualidade do óleo durante o armazenamento: foram monitoradas mensalmente, através das determinações de ponto de fumaça, índice de acidez, umidade, índice de peróxido, avaliação sensorial e teor de tocoferóis, por um período de 6 meses de armazenamento.

2.4 Análise Estatística: utilizando o programa *Statistica* Versão 6.0 em nível de significância de 0,05. Para cada tratamento foram realizadas as análises de regressão linear simples e entre os tratamentos análise de contraste para os diferentes parâmetros avaliados. A análise de correlação linear foi usada para verificar a dependência entre todas as variáveis através do tempo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do óleo de soja

Na Tabela 2 podem ser observados o índice de iodo e a composição em ácidos graxos do óleo de soja estudado e os padrões estabelecidos pela legislação vigente.

TABELA 2: Características de identidade do óleo de soja estudado e valores estabelecidos pela legislação vigente.

Parâmetro	Valor	Padrão¹	Padrão²
Índice de Iodo (Wijs)	129±2	124-139	124-139
<i>Ácidos Graxos (%)</i>			
Ácido Mirístico C14:0	0,1	≤ 0,2	≤ 0,2
Ácido Palmítico C16:0	11,2	8,0-13,5	8,0-13,5
Ácido Palmitoléico C16:1	0,1	≤ 0,2	≤ 0,2
Ácido Esteárico C18:0	4,1	2,0-5,4	2,0-5,4
Ácido Oléico C18:1	24,3	17,7-28,0	17,0-30,0
Ácido Linoléico C18:2	51,8	49,8-59,0	48,0-59,0
Ácido Linolênico C18:3	4,4	5,0-11,0	3,5-8,0
Ácido Araquídico C20:0	0,4	0,1-0,6	0,1-0,6
Ácido Eicosenóico C20:1	0,3	≤ 0,5	≤ 0,5
Ácido Behênico C22:0	0,5	≤ 0,7	≤ 0,7

Padrão¹ Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005b); Codex Alimentarius (1999).

Padrão² Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2006).

O índice de iodo (129) e a composição em ácidos graxos são típicos para óleo de soja (80,5% de ácidos graxos insaturados, sendo 4,4% de ácido linolênico), e estão dentro das faixas determinadas pelos padrões brasileiros e internacionais (CODEX ALIMENTARIUS, 1999; BRASIL, 2005b e 2006). Alves et al. (2005) e Arruda et al. (2006) reportaram teores de 80,4 e 83,7% de ácidos graxos insaturados, respectivamente, em óleo de soja refinado.

Os resultados do teor de tocoferóis e estabilidade oxidativa iniciais para óleo de soja dos quatro tratamentos estudados podem ser observados na Tabela 3. De acordo com os resultados, os teores de tocoferóis do tratamento controle (1137 mg/Kg) foram semelhantes aos valores reportados por Warner (2005) e Evans et al. (2002), que reportaram tocoferóis totais para óleo de soja de 1000 e 1030 mg/Kg, respectivamente. Akoh (1994) reportou um teor de tocoferóis totais para óleo de soja refinado de 788,8 mg/Kg, valor inferior ao determinado no presente trabalho.

TABELA 3: Teor de tocoferóis totais e estabilidade oxidativa do óleo de soja adicionado de diferentes concentrações de tocoferóis.

<i>Tratamentos</i>	<i>Frações de Tocoferóis</i>	<i>Teor (ppm)</i>	<i>OSI (horas)</i>
T0	α-tocoferol	180,08	6,3
	β-tocoferol	19,1	
	γ-tocoferol	680,3	
	δ-tocoferol	257,2	
	Total	1137	
T1	α-tocoferol	198,1	6,6
	β-tocoferol	20,5	
	γ-tocoferol	751,7	
	δ-tocoferol	280,1	
	Total	1250	
T2	α-tocoferol	210,7	6,6
	β-tocoferol	20,1	
	γ-tocoferol	805,4	
	δ-tocoferol	299,5	
	Total	1336	
T3	α-tocoferol	243,5	6,5
	β-tocoferol	20,6	
	γ-tocoferol	844,9	
	δ-tocoferol	320,1	
	Total	1429	

OSI = Oxidative Stability Index; T0 = controle; T1 = adição de 100 ppm de tocoferóis; T2 = adição de 200 ppm de tocoferóis; T3 = adição de 300 ppm de tocoferóis.

A estabilidade oxidativa (OSI) para os diferentes tratamentos variou entre 6,3 e 6,6 horas, indicando estabilidade oxidativa reduzida, o que pode ser esperado em função da composição em ácidos graxos, com alto teor de insaturados (80,5%) e, teor relativamente elevado de ácido linolênico (4,4%). Farhoosh (2007); Arruda et al. (2006) e Akoh (1994) reportaram, em condições semelhantes às utilizadas no presente trabalho, para óleo de soja, um período de indução de 7,36; 7,6 e 9,4 horas respectivamente. A adição de tocoferóis no óleo (entre 100 e 300 ppm) não modificou a estabilidade do óleo de soja, já que a diferença nestes índices entre o controle e os tratamentos 100, 200 e 300 foi mínima (entre 0,2 e 0,3 horas). A estabilidade oxidativa não foi alterada pela adição de diferentes concentrações de tocoferóis provavelmente em função de apresentar concentrações, iniciais e após a adição dos tocoferóis, acima das concentrações ótimas para a atividade antioxidante.

3.2 Estabilidade do óleo de soja durante o período de estocagem

Na Tabela 4 podem ser observados os resultados obtidos para o índice de peróxido e nota sensorial para os quatro tratamentos durante a estocagem.

TABELA 4: Evolução dos índices de peróxido e nota sensorial para os quatro tratamentos durante a estocagem.

Tempo (dias)	^{1,3} IP (mEq/Kg)				² Nota Sensorial			
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3
0	0,7±0,1	0,5±0,1	0,7±0,1	0,7±0,1	7,7	7,7	7,7	7,7
30	1,6±0,1	1,7±0,1	1,6±0,1	1,7±0,1	7,5	7,4	7,4	7,3
60	2,0±0,3	2,0±0,8	2,3±0,3	2,3±0,3	6,0	6,3	6,7	7,3
90	2,1±0,1	2,2±0,2	2,3±0,4	2,7±0,2	6,5	7,0	6,0	6,0
120	2,5±0,3	3,0±0,3	3,1±0,1	2,7±0,3	6,3	6,2	6,0	6,3
150	2,9±0,1	2,7±0,0	2,7±0,1	2,6±0,1	6,0	6,2	6,6	6,2
180	1,7±0,0	1,9±0,2	1,9±0,2	2,1±0,1	6,0	6,0	6,0	5,5

¹Resultados = média de duas repetições; ²Resultados = média dos cinco julgadores; ³Índice de peróxido.

O índice de peróxido inicial variou de 0,5 (T1) a 0,7 mEq/Kg (T0, T2 e T3). Segundo Gupta (2000), o valor de peróxido inicial entre 0 e 0,5 mEq/kg é considerado ideal para o óleo de soja recém desodorizado, uma vez que quanto maior o conteúdo inicial de peróxido mais rápida é a reação com o oxigênio do *headspace* e menor a estabilidade oxidativa do óleo.

Após 6 meses de estocagem o índice de peróxido determinado foi de 1,7 (T0); 1,9 (T1 e T2) e 2,1 mEq/Kg (T3), sendo que a análise de regressão linear simples indicou variação linear significativa ($p < 0,05$) durante a estocagem para os tratamentos estudados. Através da análise de contraste foi possível observar que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) do índice de peróxido entre os tratamentos ($R = 0,66$ e $R^2 = 0,43$).

Os valores obtidos para índice de peróxido atenderam às especificações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa (BRASIL, 2005b) e pelo Codex Alimentarius (1999), que determinam um valor máximo de 10 mEq/Kg. Considerando o valor máximo para peróxidos permitido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2006), de 2,5 mEq/Kg, o óleo sem adição de

tocoferóis (controle) esteve de acordo com o estabelecido por quatro meses (2,5 mEq/Kg), o óleo adicionado de 100 e 200 ppm de tocoferóis por três meses (2,2 e 2,3 mEq/Kg, respectivamente) e o óleo adicionado de 300 ppm, por dois meses (2,3 mEq/Kg).

Alves et al. (2005) e Arruda et al. (2006) observaram um aumento linear significativo para o índice de peróxido em óleo de soja embalado em PET ao longo do tempo ($R^2 = 0,6$ e $0,9$, respectivamente), sendo que os valores reportados (médias de 2,3 e 2,1, respectivamente) não ultrapassaram o valor máximo estipulado pelo MAPA durante 180 dias de estocagem.

A nota sensorial inicial para o óleo de soja estudado foi de 7,7. Este resultado está de acordo com o valor obtido por Arruda et al. (2006), que reportaram para óleo de soja recém produzido nota sensorial média de 8,0. Alves et al. (2005) relataram uma nota sensorial de 8,9 para óleo de soja recém produzido. De acordo com Zehnder (1995) o óleo de soja recém produzido é classificado como aceitável em termos sensoriais quando apresenta uma nota de 7,5 ou acima.

Após 180 dias de estocagem a nota sensorial determinada foi de 6,0 para os óleos dos tratamentos T0, T1 e T2 e de 5,5 para o óleo do tratamento T3. A análise de regressão linear da nota sensorial indicou uma diminuição linear significativa ($p < 0,05$) da mesma ao longo do tempo para todos os tratamentos. A análise de contraste mostrou que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os quatro tratamentos durante o armazenamento ($R = 0,56$ e $R^2 = 0,31$).

De acordo com Wan (2000), 6,0 é a menor nota aceitável para que um óleo seja considerado de boa qualidade. Desta forma, os óleos dos tratamentos 0, 1, e 2 foram considerados aceitáveis para consumo pelo período de seis meses de estocagem, enquanto que o óleo do tratamento 300, pelo período de cinco meses.

Medina-Juárez et al. (1998) relataram que após 90 dias de armazenagem, o óleo de soja apresentou uma modificação substancial no flavor, de brando/nozes para fortemente amanteigado. Em estudo realizado com óleo de soja embalado em PET, armazenado em ciclos claro/escuro e tratados com diferentes absorvedores UV, Alves et al. (2005) observaram que a nota sensorial diminuiu para uma média de 5,0 após seis meses de estocagem em todos os experimentos. Arruda et al. (2006), obteve nota sensorial média de 5,3 em óleo de soja acondicionado com diferentes concentrações de oxigênio no *head space*, após seis meses de estocagem.

Na Tabela 5 podem ser observados os resultados para umidade, acidez e ponto de fumaça no óleo de soja os tratamentos estudados (T0, T1, T2 e T3) durante a estocagem.

TABELA 5: Evolução durante a estocagem do índice de acidez, da umidade e do ponto de fumaça em óleo de soja refinado adicionado de tocoferóis.

Tempo (dias)	¹ IA (mg KOH/g)				Umidade (%)			² PF (°C)				
	T0	T100	T200	T300	T0	T100	T200	T300	T0	T100	T200	T300
0	0,08±0,00	0,08±0,03	0,08±0,03	0,07±0,01	0,03±0,01	0,03±0,04	0,03±0,01	0,03±0,01	233±3	231±1	231±1	230±1
30	0,09±0,01	0,09±0,01	0,09±0,02	0,09±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01	0,05±0,01	223±2	221±3	223±3	220±1
60	0,10±0,01	0,10±0,0	0,10±0,01	0,10±0,00	0,05±0,02	0,05±0,01	0,04±0,01	0,05±0,04	218±1	220±1	216±3	216±3
90	0,10±0,01	0,11±0,01	0,11±0,01	0,11±0,04	0,05±0,02	0,05±0,02	0,04±0,03	0,04±0,04	210±1	213±1	212±1	212±3
120	0,11±0,01	0,11±0,01	0,17±0,01	0,15±0,03	0,05±0,01	0,05±0,01	0,05±0,06	0,04±0,01	215±3	220±3	215±1	216±1
150	0,13±0,00	0,12±0,00	0,12±0,02	0,13±0,04	0,05±0,01	0,05±0,03	0,07±0,03	0,06±0,06	209±1	208±3	208±3	213±1
180	0,14±0,00	0,14±0,00	0,14±0,01	0,14±0,00	0,05±0,016	0,06±0,06	0,06±0,02	0,06±0,04	209±2	209±1	208±1	210±1

*Resultados = média de duas repetições; ¹ Índice de acidez; ² Ponto de fumaça. T0= sem adição de tocoferóis ; T1= 100mg/kg ; T200 = 200mg/kg ; T300= 300mg/kg

As características de qualidade iniciais do óleo (umidade, acidez, ponto de fumaça) indicam que o mesmo foi produzido mediante um processo de refino adequado, atendendo às especificações estabelecidas pelo MAPA (BRASIL, 2006), pela Anvisa (BRASIL, 2005b) e pelo Codex Alimentarius (1999).

A umidade aumentou ao longo do tempo, de 0,03% para 0,05% (T0) e 0,06 % (T1, T2 e T3) e, o índice de acidez de 0,08 mEq/Kg (T0) e 0,07 mEq/Kg (T1, 2 e 3) para 0,14. De acordo com a análise de regressão linear, o aumento foi significativo para a umidade ($p < 0,05$) e altamente significativo para a acidez ($p < 0,001$). A análise de contraste indicou que não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) para a

umidade e o índice de acidez entre os tratamentos ($R = 0,65$ e $R^2 = 0,42$ e; $R = 0,86$ e $R^2 = 0,74$, respectivamente). O aumento da umidade e conseqüentemente da acidez, indicam uma permeabilidade ao vapor de água, que ocorreu provavelmente em função do tipo de embalagem utilizada. O PET apresenta barreira adequada ao oxigênio e odores, mas sua permeabilidade ao vapor de água é relativamente alta (OHSHIMA e ANJOS, 1989). Níveis de umidade de 0,05% no óleo podem ocasionar reações de hidrólise, se as condições de temperatura de estocagem e transporte forem elevadas (O'BRIEN, 1998).

A umidade e o índice de acidez para os quatro tratamentos atenderam às especificações determinadas pela Anvisa, pelo Codex Alimentarius (máx. 0,2% e < 0,6 mg KOH/g respectivamente) e pelo MAPA (máx. 0,1% e 0,2 mg KOH/g), durante os 6 meses de armazenamento (BRASIL, 2006; BRASIL, 2005b; CODEX, 1999).

Arruda et al. (2006) e Alves et al. (2005) reportaram aumento linear significativo da umidade e de ácidos graxos livres durante a estocagem por 180 dias de óleo de soja embalado em PET.

Com relação ao ponto de fumaça foi observada uma diminuição de mais de 20°C nos quatro tratamentos estudados (média inicial de 231°C e média final após seis meses de 209°C). Os resultados da regressão linear obtidos para o ponto de fumaça indicaram uma diminuição linear altamente significativa ($p < 0,0001$) ao longo do tempo para todos os tratamentos. A análise de contraste indicou que não houve diferença significativa entre os tratamentos ($R = 0,92$ e $R^2 = 0,85$). A diminuição do ponto de fumaça para os quatro tratamentos está relacionada com o aumento dos ácidos graxos livres durante o armazenamento, uma vez que os mesmos apresentam maior volatilidade que os seus triglicerídios correspondentes (SHAHIDI, 2004).

Arruda et al. 2006 encontraram uma alta correlação entre a redução do ponto de fumaça e o aumento do teor de ácidos graxos livres e a umidade, sendo que estes parâmetros não apresentam relação com a deterioração oxidativa.

Para os tratamentos TO, T1 e T2, após 5 meses de armazenamento, o ponto de fumaça atingiu valores abaixo do estabelecido pelo MAPA (BRASIL, 2006), que determina um valor mínimo de 210°C. Para o tratamento T3 o ponto de fumaça esteve de acordo com o estabelecido pela legislação nos 6 meses de armazenamento. Arruda et al. (2006), reportaram valores de ponto de fumaça entre 180 e 190°C em óleo de soja embalado em PET após 6 meses de armazenamento ao abrigo da luz.

3.3 Correlação Linear entre as Variáveis Físico-Químicas e Sensoriais

Na Tabela 6 pode ser observada a matriz de correlação linear entre as determinações físico-químicas e a análise sensorial durante o armazenamento do óleo de soja embalado em PET com diferentes concentrações (0, 100, 200 e 300 mg/Kg) da mistura de tocoferóis naturais.

TABELA 6: Matriz de correlação linear entre as determinações físico-químicas e sensoriais.

	Índice de Peróxido	Índice de Acidez	Umidade	Ponto de Fumaça	Nota Sensorial
Índice de Peróxido	1,00				
Índice de Acidez	0,64*	1,00			
Umidade	0,70*	0,75*	1,00		
Ponto de Fumaça	-0,67*	-0,71*	-0,85*	1,00	
Nota Sensorial	-0,68*	-0,76*	-0,78*	0,77*	1,00

*Correlação significativa para $p < 0,05$.

A matriz mostra uma correlação positiva significativa ($p < 0,05$) entre a nota sensorial e o ponto de fumaça ($R = 0,77$). Para peróxido, umidade e acidez a nota sensorial apresentou correlação significativa ($p < 0,05$) negativa, ($R = -0,68$; $-0,78$ e $-0,76$, respectivamente).

Os índices de peróxido, de acidez e umidade apresentaram correlações positivas significativas ($p < 0,05$) entre si ao longo da estocagem, e negativa para análise sensorial e ponto de fumaça. Apesar de correlacionarem-se significativamente ($p < 0,05$), o índice de acidez e o peróxido ($R = 0,64$) mostraram correlação muito menor que a observada em outros estudos. Alves et al. (2005) observaram correlação positiva altamente significativa ($p < 0,0001$) entre o índice de peróxido e de acidez ($R = 0,78$).

3.4 Estabilidade dos Tocoferóis durante a estocagem

Os resultados para a composição de tocoferóis no óleo dos quatro tratamentos ao longo de seis meses de estocagem podem ser observados na Tabela 7.

O principal tocoferol encontrado no óleo de soja estudado foi o γ -tocopherol (680,3 ppm), seguido pelo δ -tocopherol (257,2 ppm), α -tocopherol (180,8 ppm) e β -tocopherol (19,1 ppm). Warner(2005) e Evans et al. (2002) reportaram para óleo de soja refinado teores de tocoferóis totais de 1000 e 1030 mg/Kg, sendo 610; 260;120 e 10 mg/Kg de γ ; δ ; α ; e β -tocopherol e; 710, 50 e 270 mg/Kg de γ - e β -, α - e δ -, e tocoferóis, respectivamente.

Ao longo do tempo foi observada uma redução no teor de tocoferóis totais de 13.6; 11.6; 14.1 e 4.7% para os tratamentos T0, T1, T2 e T3 respectivamente. A análise de regressão linear indicou que a diminuição foi significativa ($p < 0,05$) para os tratamentos T0 e T1 ($R = 0,79$ e $0,85$ e; $R^2 = 0,62$ e $0,72$; respectivamente). Para os tratamentos T2 e T3 não houve variação linear significativa ($p > 0,05$).

TABELA 7: Composição de tocoferóis na estocagem de óleo de soja refinado com adição de tocoferóis.

Tratamento	Frações (ppm)	Tempo (dias)						
		0	30	60	90	120	150	180
T0	α	180,8	146,6	145,9	123,4	168,1	147,4	132,6
	β	19,1	15,3	16,9	22,8	13,3	18,7	15,6
	γ	680,3	629,4	677,1	660,6	632,2	636,9	626,6
	δ	257,2	227,1	220,9	228,9	191,5	217,4	207,6
	Total	1137	1018	1061	1036	1005	1020	982
T100	α	198,1	170,6	165,6	149,4	141,6	170,5	153,5
	β	20,5	23,3	18,4	25,7	20,7	21,2	17,7
	γ	751,7	737,1	730,4	722,0	714,5	722,3	690,0
	δ	280,1	254,6	258,1	249,9	240,7	251,6	244,0
	Total	1250	1186	1173	1147	1118	1166	1105
T200	α	210,7	172,4	174,8	174,5	160,1	193,1	157,7
	β	20,1	21,7	19	29,7	24,5	23,8	19,4
	γ	805,4	740,8	757,6	816,3	785,6	794,6	707,5
	δ	299,5	274,4	265	280,8	271,1	273,4	262,3
	Total	1336	1209	1216	1301	1241	1285	1147
T300	α	243,5	212,7	217,7	190,9	201,5	220,7	197,8
	β	20,6	27,4	19,1	32,0	28,7	26,1	21,1
	γ	844,9	890,9	901,0	912,0	917,7	906,7	833,7
	δ	320,1	336,6	331,2	317,4	318,3	319,6	309,8
	Total	1429	1468	1469	1452	1466	1473	1362

T0= sem adição de tocoferóis ; T1= 100mg/kg ; T200 = 200mg/kg ; T300= 300mg/kg

O monitoramento do conteúdo de tocoferóis nos óleos tem sido utilizado como um indicativo do processo de oxidação, já que a exposição dos mesmos aos peróxidos formados na rancidez oxidativa diminui o seu conteúdo (JOHNSON e PETERSON, 2001). Arruda et al. (2006) reportaram uma diminuição de 58% de tocoferóis naturais após 180 dias em óleo de soja embalado em PET armazenado no escuro.

Frankel et al. (1959), estudando a estabilidade de tocoferóis durante a autooxidação (teste acelerado a 60°C e 100°C) em óleos refinados e gorduras de várias fontes comerciais, observaram que a perda de tocoferóis durante a autooxidação foi muito menor em óleos vegetais altamente insaturados (óleo de soja) que em óleo de algodão e banha, sugerindo que os hidroperóxidos formados em óleos vegetais altamente insaturados decompõem-se rapidamente antes de reagirem com os tocoferóis. Esta alta estabilidade dos tocoferóis em substratos

altamente insaturados também pode ser explicada pelo fato de que quanto maior o grau de insaturação, maior a competitividade dos ácidos graxos frente à oxidação (KAMAL-ELDIN e APPELQVIST, 1996).

4 CONCLUSÕES

A adição de diferentes concentrações (100, 200 e 300 ppm) da mistura de tocoferóis naturais no óleo de soja embalado em garrafas PET e armazenado ao abrigo da luz, não interferiu nos índices de qualidade determinados, indicando que os tocoferóis não foram eficientes para retardar a oxidação ou aumentar a vida útil do óleo de soja nas condições utilizadas no presente estudo, quando comparado ao óleo sem adição de tocoferóis após processamento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Cargill Agrícola SA, unidade de Mairingue/SP, pela matéria-prima e apoio na realização desta pesquisa e ao CNPq pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

ABIOVE – ASSOCIAÇÃO DAS INDÚSTRIAS BRASILEIRAS DE ÓLEOS VEGETAIS. **Informativo Abiove**. Disponível em: <<http://www.abiove.com.br>>.

Acesso em: 06 novembro 2006.

AKOH, C.C. Oxidative stability of fat substitutes and vegetable oils by the oxidative stability index method. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.71, n.2, p.211-216, 1994.

ALVES, M.A.O.; ARRUDA, C.S.; OGLIARI, P.J.; MEINERT, E.M.; TEIXEIRA, E.; BARRERA-ARELLANO, D.; BLOCK, J.M. Effect of the addition of ultraviolet absorber (Tinuvin 234) on the quality of soybean oil packaged in polyethylene terephthalate (PET), **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 56, n.4, p.245-253, 2005.

ANDERSSON, K.; LINGNERT, H. Kinetic studies of oxygen dependence during initial lipid oxidation in rapeseed oil. **Journal of Food Science**, Chicago, v.64, n.2, p.262-266, 1999.

AOCS- **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**, Washington, 2004.

ARRUDA, C.S.; GARCEZ, W.S.; BARRERA-ARELLANO, D.; BLOCK, J.M. Industrial trial to evaluate the effect of oxygen concentration on overall quality of refined, bleached, and desodorized soybean oil in PET bottles. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 83, n.9, p.797-802, 2006.

BOCKISH, M., Ed. **Fats and oils handbook**; AOCS Press: Champaign, IL, 1998, cap. 4, p 223-227.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 23, de 15 de fevereiro de 2005. **Aprova o Regulamento Técnico que Aprova o uso de Aditivos Alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos óleos e gorduras - subcategoria creme vegetal e margarinas**. Brasília: Diário Oficial da União de 16 de fevereiro de 2005a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. **Aprova o Regulamento Técnico Para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal**. Brasília: Diário Oficial da União de 23 de setembro de 2005b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA - Instrução Normativa nº 49, de 22 de dezembro de 2006. **Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Óleos Vegetais Refinados; a Amostragem; os Procedimentos Complementares; e o Roteiro de Classificação de Óleos**

Vegetais Refinados. Brasília: Diário Oficial da União de 26/12/2006.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Food Standards Programme. **Codex Alimentarius for edible fats and oils.** CODEX-STAN 210. Rome: FAO/WHO, 1999, v. 11, p. 1-13.

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

FARHOOSH, R. The effect of operational parameters of the Rancimat Method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. **Journal of American Oil Chemists' Society,** Champaign, v.84, p.205-209, 2007.

FRANKEL, E.N.; EVANS, C.D.; COONEY, P.M. Tocopherol oxidation in natural fats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** Washington, DC, v.7, n. 6, p. 438-441, 1959.

GUPTA, M.K. Oil quality improvement through processing. In: O'BRIEN, R.D.; FARR, W.E.; WAN, P.J. (Eds.) **Introduction to Fats and Oils Technology.** 2.ed. Champaign: AOCS press, 2000, cap. 19, p.371-382.

HILST, M.A.S. **Avaliação da Estabilidade de óleo de soja acondicionado em latas e na embalagem Tetra Brik.** 1999, 101f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas.

HRAS, A.R.; HADOLIN, M.; KNEZ, Z.; BAUMAN, D. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food Chemistry,** Missouri, v.71, p.229-233, 2000.

HUANG, S.W.; FRANKEL, E.N.; GERMAN, J.B. Antioxidant activity of α - and γ -tocopherols in bulk oils and in oil-in-water emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., v.42, p. 2108-2114, 1994.

HUANG, S.W.; FRANKEL, E.N.; GERMAN, J.B. Effects of individual tocopherols and tocopherol mixtures on the oxidative stability of corn oil triglycerides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., v.43, p. 2345-2350, 1995.

JOHNSON, A.; PETERSON, M. Componentes específicos de los aceites vegetales: tocoferoles. In: **Libro 10° Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo II. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.733.

JUNG, M.Y.; MIN, D.B. Effects of α -, γ - e δ -tocopherols on oxidative stability of soybean oil. **Journal of Food Science**. Chicago, US, v.55, n.5, p. 464-465, 1990.

KAMAL-ELDIN, A.; APPELQVIST, L-A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, Champaign, IL, v.31, n. 7, p.671-701, 1996.

LAMBELET, P.; SAUCY, F.; LÖLIGER, J. Mecanismos de acción de los antioxidantes. In: **Libro 10° Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos**. Tomo II. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.733.

MEDINA-JUÁREZ, L.M.; GONZÁLEZ-DÍAZ, N.; GÁMEZ-MEZA, J.; ORTEGA-GARCÍA, A.B.; MORENO-VARELA, L.; BRINGAS-ALVARADO; ANGULO-GUERRERO, O. Effects of processing on the stability of soybean oil produced in Mexico. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 9, p.1729-1733, 1998.

NOGALA-KALUCKA, M.; KORCZAK, J.; DRATWIA, M.; LAMPSRT-SZCZAPA, E.; SIGER, A.; BUCHOWSKI, M. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. **Food Chemistry**, Missouri, v.93, p.227-235, 2005.

O'BRIEN, R.D. **Fats and Oils Formulation and Processing for Applications**. Lancaster, PA: Technomic, 1998, p. 130-150, 550-650.

OSHIMA, K.; ANJOS C.A.R. Fatores que afetam as propriedades físico-mecânicas e de barreira da embalagem soprada de PET. In: Seminário sobre embalagens de PET para alimentos e bebidas, 1989, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1989, 160 p.

POKORNÝ, J.; PARKÁNYIOVÁ, J. **Lipids with antioxidant properties**. In: AKHO, C.; LAI, O.M. *Healthful lipids*. New York: Marcel Dekker, 2005, cap. 13, p. 273-300.

SÁNCHEZ-PÉREZ, A.; DELGADO-ZAMARREÑO, M.M.; BUSTAMANTE-RANGEL, M.; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J. Automated analysis of vitamin E isomers in vegetable oils by continuous membrane extraction and liquid chromatography-electrochemical detection. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, NL, v. 881, p.229-241, 2000.

SHAHIDI, F. Quality assurance of fats and oils. In: SHAHIDI, F. (Ed.) **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. 6 ed. Hoboken: Wiley-Interscience, 2004, cap. 14, p.571.

WAGNER, K. H.; ELMADFA, I. Effects of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Frankfurt, v. 103, p.624-629, 2001.

WARNER, K., Effects on the flavor and oxidative stability of stripped soybean and sunflower oils with added pure tocopherols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, Pa., v.56, p. 9906-9910, 2005.

WAN, P.J. Properties of fats and oils. In: O'BRIEN, R.D., FARR, W.C., WAN, P.J. **Introduction to Fats and Oils Technology**. 2.ed. Champaign: AOCS Press, 2000, cap. 2, p. 20-48.

WHITE, P.J. Flavor quality of fats and oils. In: O'BRIEN, R.D., FARR, W.C., WAN, P.J. **Introduction to Fats and Oils Technology**. 2.ed. Champaign: AOCS Press, 2000, cap. 18, p. 341-370.

Zehnder, C.T. Deodorization. In: Erickson, D.R. **Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization**. Champaign:AOCS Press and USB, 1995, cap. 14, p.239-257.