

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AGROINDUSTRIAL**



**ESTABILIDADE DE BIOFENÓIS NO ÓLEO DE ARROZ SUBMETIDO AO
AQUECIMENTO EM DIFERENTES TEMPERATURAS**

MARIÂNGELA HOFFMANN BRUSCATTO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia Agroindustrial.

Pelotas, 2008

MARIÂNGELA HOFFMANN BRUSCATTO

**ESTABILIDADE DE BIOFENÓIS NO ÓLEO DE ARROZ SUBMETIDO AO
AQUECIMENTO EM DIFERENTES TEMPERATURAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia Agroindustrial.

Orientador: Prof. PhD Rui Carlos Zambiasi

Pelotas, 2008

Dados de catalogação na fonte:

(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

B912e Bruscatto, Mariângela Hoffmann

Estabilidade de biofenóis no óleo de arroz
submetido ao aquecimento em diferentes temperaturas
/ Mariângela Hoffmann Bruscatto. - Pelotas, 2008.
83f. : il.

Dissertação (Mestrado) –Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial.
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade
Federal de Pelotas. - Pelotas, 2008, Rui Carlos
Zambiasi, Orientador.

1. Estabilidade 2. Óleo de arroz 3. Temperatura
4. Refino químico 5. Refino físico 6. Biofenóis I.
Zambiasi, Rui Carlos (orientador) II. Título.

CDD 664.3

**ESTABILIDADE DE BIOFENÓIS NO ÓLEO DE ARROZ SUBMETIDO AO
AQUECIMENTO EM DIFERENTES TEMPERATURAS**

MARIÂNGELA HOFFMANN BRUSCATTO

Bacharel em Química de Alimentos

Comissão examinadora:

Prof. Rui Carlos Zambiasi, PhD., DCTA-DCA-UFPeI
(Orientador)

Prof^a. Carla Rosane Mendonça, Dr^a., DCA-UFPeI

Prof. Paulo Romeu Gonçalves, Dr., DQ-UFPeI

Pelotas, 2008

Agradecimentos

Agradeço a Deus, centro de minha vida e força maior...

Aos meus pais, Nelly e Alzir Antonio por terem dado o melhor de si em todos os momentos! A estes anjos presentes em minha vida, meu muito obrigada!

Ao prof. Rui Carlos Zambiasi, pela orientação, atenção, paciência e pela oportunidade de crescimento pessoal e intelectual.

Aos meus irmãos Vera Alice, Márcio Antônio e Anelise, pela amizade e amor e pela companhia dada não somente em horas solitárias em frente ao computador, mas por todos os momentos que passamos juntos.

Ao Reges Echer pela amizade, apoio e encorajamento.

Ao Mateus Casanova dos Santos, por se fazer presente na trajetória de minha vida!

A Vanessa Pestana pela amizade e pelo auxílio nas análises cromatográficas.

A todos os meus amigos, e aos colegas do laboratório de cromatografia que de alguma forma contribuíram para a realização desta obra.

A Déborah Otero, Flávia Paiva e Ravena Lima pelo auxílio em todas as análises realizadas para a construção deste trabalho.

Aos laboratórios do DCA e DCTA.

A Capes pela bolsa de estudo.

As indústrias Irgovel e Helmut Tessmann pela disponibilidade em fornecer os óleos para a realização deste trabalho.

“Conhecer não é o bastante; nós precisamos aplicar.

Desejar não é o bastante; nós precisamos fazer”.

Goethe

Resumo

BRUSCATTO, Mariângela Hoffmann. **Estabilidade de Biofenóis no Óleo de Arroz Submetido ao Aquecimento em Diferentes Temperaturas**. 2008. 83f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial – DCTA. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade dos ácidos graxos, tocoferóis e γ -orizanóis presentes em óleos de arroz refinados quimicamente e fisicamente, submetidos a diferentes temperaturas de aquecimento. O óleo de arroz refinado quimicamente foi obtido da Irgovel (Pelotas/RS), e o óleo refinado fisicamente foi obtido da indústria Helmut Tessmann (Camaquã/RS), indústrias processadoras de óleos vegetais. Os óleos foram submetidos ao aquecimento contínuo, sob ausência de luminosidade, nas temperaturas de 100 °C, 140 °C e 180 °C. Antes do aquecimento e em períodos pré-determinados durante o aquecimento, foi avaliado o teor umidade, viscosidade, acidez, índice de refração, índice de peróxido, matéria insaponificável, pH, ácido tiobarbitúrico (TBA), tocoferóis, γ -orizanóis e o perfil de ácidos graxos. Para a análise dos ácidos graxos empregou-se um cromatógrafo gasoso provido de coluna capilar (30 m x 0,252 mm) e detector FID; e para a análise de tocoferóis e γ -orizanóis, empregou-se um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência provido de coluna C18 (3,9 cm x 150 mm x 4 μ m) com detectores de fluorescência e UV-Visível. Verificou-se que ocorreram alterações nos parâmetros avaliados entre os dois óleos e as diferentes temperaturas de aquecimento. A temperatura de 180 °C exerceu maior influência nas alterações de ácidos graxos, bem como perdas mais expressivas de tocoferóis e γ -orizanóis nos óleos durante o período de aquecimento. Observou-se que o γ -orizanol apresentou maior estabilidade durante o aquecimento que os tocoferóis nas temperaturas avaliadas. Dentre os tocoferóis, o α -tocoferol apresentou menor estabilidade, seguido do γ - e δ -tocoferóis. O óleo refinado fisicamente apresentou menores alterações no perfil de ácidos graxos e menores perdas de tocoferóis e γ -orizanóis em todas as temperaturas utilizadas no processo, quando comparado ao óleo refinado quimicamente.

Abstract

BRUSCATTO, Mariângela Hoffmann. Biophenol stability of Rice Bran Oil Heated at Different Temperatures. 2008. 83f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial – DCTA. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The objective of this work was to evaluate the stability of fatty acids, tocopherols and γ -oryzanols of the rice bran oil chemically and physically refined, submitted to different heating temperatures. The chemically refined rice bran oil was obtained from Irgovel (Pelotas/RS), and the physically refined rice bran oil was obtained from Helmut Tessmann (Camaquã/RS), processing vegetable oil industries. The oils were submitted to an intermittent heating, without the light presence, at the temperatures of 100 °C, 140 °C and 180 °C. It was evaluated the humidity, viscosity, acidity, refraction index, peroxide index, unsaponifiable matter, pH, thyobarbituric acid (TBA), tocopherols, γ -oryzanols and fatty acid profile, before the heating and during the heating process of the oils. The fatty acid profile was done using a gaseous chromatography with capillary column (30 m x 0,252 mm) and FID detector, and for tocopherols and γ -oryzanols analyzes it was used a high performance liquid chromatography system, with a C18 column (3,9 cm x 150 mm x 4 μ m) and a fluorescent and UV-visible detectors. It was verified significant differences in the evaluated parameters, among oils and in different heating temperatures. The heating at temperature of 180 °C exerted greater influence in the fatty acid alterations, as well as more expressive losses of tocopherols and γ -oryzanols in oils during the heating period. It was observed that γ -oryzanol was more stable during the heating process than the tocopherols at the evaluated temperatures. Amongst the tocopherols, the α -tocopherol presented the lowest stability followed by γ - and δ -tocopherols. However, the physically refined oil presented lesser alterations in the fatty acid profile and lesser losses of tocopherols and γ -oryzanol in all the temperatures used in the process, when compared with the chemically refined oil.

Lista de Figuras

Figura 1	Estrutura geral dos componentes do γ - orizanol.....	24
Figura 2	Estrutura geral dos tocoferóis e dos tocotrienóis.....	27
Figura 3	Valores de acidez para o óleo refinado quimicamente e o óleo refinado fisicamente, submetidos à temperatura de 100 °C, 140 °C e 180 °C; (A) ORQ - óleo refinado quimicamente, (B) ORF - óleo refinado fisicamente.....	41
Figura 4	Valores de índice de peróxido para o óleo refinado quimicamente e o óleo refinado fisicamente, submetidos à temperatura de 100 °C, 140 °C e 180 °C; (A) ORQ - óleo refinado quimicamente, (B) ORF - óleo refinado fisicamente.....	43
Figura 5	Valores de TBA no óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos à temperatura de 100 °C, 140 °C e 180 °C; (A) ORQ - óleo refinado quimicamente, (B) ORF - óleo refinado fisicamente.....	45
Figura 6	Índice de refração para o óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos à temperatura de 100 °C, 140 °C e 180 °C; (A) ORQ - óleo refinado quimicamente, (B) ORF - óleo refinado fisicamente.....	47
Figura 7	Viscosidade para o óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, antes do aquecimento e após o aquecimento a 100 °C, 140 °C e 180 °C (ORQ - óleo refinado quimicamente; ORF - óleo refinado fisicamente).....	48
Figura 8	Conteúdo de α - tocoferol no óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos a 100°C, 140°C e 180°C; (A) ORQ - óleo refinado quimicamente, (B) ORF - óleo refinado fisicamente.....	56
Figura 9	Conteúdo de γ - tocoferóis no óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos a 100 °C, 140 °C e 180 °C; (A) ORQ - óleo refinado quimicamente, (B) ORF - óleo refinado fisicamente.....	57

Figura 10	Conteúdo de δ - tocoferóis no óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos a 100 °C, 140 °C e 180 °C; (A) ORQ - óleo refinado quimicamente, (B) ORF-óleo refinado fisicamente.....	59
Figura 11	Conteúdo de α -, γ - e δ - tocoferóis no óleo refinado quimicamente submetidos a 100 °C, 140 °C e 180 °C (ORQ - óleo refinado quimicamente).....	60
Figura 12	Conteúdo de α -, γ - e δ - tocoferóis no óleo refinado fisicamente, submetidos a 100 °C, 140 °C e 180 °C (ORF - óleo refinado fisicamente).	61
Figura 13	Perdas do total de tocoferóis no óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente submetido a 100 °C, 140 °C e 180 °C (ORQ - óleo refinado quimicamente, ORF - óleo refinado fisicamente).	63
Figura 14	Degradação de γ - orizanol no óleo de arroz refinado quimicamente submetido a 100 °C, 140 °C e 180 °C (ORQ - óleo refinado quimicamente).....	65
Figura 15	Degradação de γ - orizanol no óleo de arroz refinado fisicamente submetido a 100 °C, 140 °C e 180 °C (ORF - óleo refinado fisicamente).....	66

Lista de Tabelas

Tabela 1	Homólogos dos tocoferóis.....	27
Tabela 2	Características físico-químicas do óleo de arroz.....	36
Tabela 3	Composição relativa em ácidos graxos do óleo de arroz.....	39
Tabela 4	Proporção relativa dos ácidos graxos majoritários no óleo de arroz submetido ao aquecimento de 100 °C.....	49
Tabela 5	Proporção relativa dos ácidos graxos majoritários do óleo de arroz submetido ao aquecimento de 140 °C.....	51
Tabela 6	Proporção relativa dos ácidos graxos majoritários do óleo de arroz submetido ao aquecimento de 180 °C.....	52

Anexos

Tabela 7	Valores de acidez (% de ácido oléico), durante a exposição dos óleos ao aquecimento em diferentes temperaturas.....	78
Tabela 8	Índices de peróxidos (meqg.O ₂ .Kg ⁻¹) dos óleos submetidos ao aquecimento em diferentes temperaturas.....	78
Tabela 9	Valores de ácido tiobarbitúrico (TBA) em mg.MDA.Kg ⁻¹ , dos óleos submetidos ao aquecimento.....	79
Tabela 10	Índices de refração dos óleos submetidos ao aquecimento em diferentes temperaturas.....	79
Tabela 11	Valores da viscosidade do óleo refinado quimicamente e do óleo refinado fisicamente, antes e após o aquecimento a 100 °C, 140 °C e 180 °C.....	80
Tabela 12	Conteúdo de tocoferóis (mg.100g ⁻¹) no óleo de arroz refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente submetido a temperatura de 100 °C.....	80
Tabela 13	Conteúdo de tocoferóis (mg.100g ⁻¹) no óleo de arroz refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente submetidos a temperatura de 140 °C.....	81
Tabela 14	Conteúdo de tocoferóis (mg.100g ⁻¹) no óleo de arroz refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente submetido a temperatura de 180 °C.....	81
Tabela 15	Somatório total (mg.100g ⁻¹) e perdas (%) de tocoferóis, durante o tempo de exposição do óleo de arroz refinado quimicamente ao aquecimento.....	82
Tabela 16	Somatório total (mg.100g ⁻¹) e perdas (%) de tocoferóis, durante o tempo de exposição do óleo de arroz refinado fisicamente ao aquecimento.....	82

Tabela 17	Conteúdo de γ - orizanol ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) no óleo de arroz refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos ao aquecimento.....	83
-----------	--	----

Sumário

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Composição de óleos e gorduras.....	17
2.2 comportamento dos óleos submetidos ao aquecimento.....	18
2.3 Óleo de arroz.....	20
2.4 γ - Orizanol no óleo de arroz.....	23
2.5 Estabilidade de tocoferóis sob o aquecimento.....	26
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
3.1 Materiais.....	30
3.1.1 Amostras de óleo.....	30
3.2 Reagentes e solventes.....	30
3.2.1 Padrões cromatográficos.....	30
3.3 Processo de aquecimento.....	31
3.4 Análises físico-químicas.....	31
3.4.1 Viscosidade.....	31
3.4.2 Umidade.....	32
3.4.3 Teor de acidez.....	32
3.4.4 Índice de peróxido.....	32
3.4.5 Índice de refração.....	32
3.4.6 Matéria insaponificável.....	32
3.4.7 Ácido tiobarbitúrico.....	33
3.4.8 pH.....	33
3.4.9 Perfil de ácidos graxos.....	33
3.4.10 Quantificação de tocoferóis.....	34
3.4.11 Quantificação de γ - orizanois.....	35

3.4.12 Análise estatística.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1 Caracterização físico-química do óleo de arroz.....	36
4.1.1 Análises físico-químicas.....	36
4.1.2 Perfil de ácidos graxos do óleo de arroz.....	38
4.2 Composição físico-química do óleo de arroz submetido ao aquecimento.....	40
4.2.1. Acidez	40
4.2.2 Índice de Peróxido.....	42
4.2.3 Ácido tiobarbitúrico.....	44
4.2.4 Índice de Refração.....	46
4.2.5. Viscosidade.....	48
4.2.6. Ácidos graxos.....	49
4.2.7 Estabilidade de tocoferóis.....	54
4.2.8 Estabilidade de γ - orizanóis.....	64
5 CONCLUSÃO.....	68
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
7 ANEXO.....	77

Introdução

Óleos vegetais constituem-se em um importante derivado de plantas oleaginosas. A proporção dos diferentes ácidos graxos saturados e insaturados nos óleos e gorduras vegetais variam de acordo com as plantas das quais foram obtidas, sendo que dentro de uma mesma espécie ocorrem variações que são determinadas pelas condições climáticas e tipo do solo em que são cultivadas.

Os óleos comestíveis constituem-se, do ponto de vista nutricional, em excelente fonte de energia e importante veículo de vitaminas lipossolúveis ao organismo humano, além disso, apresentam-se como uma importante fonte de ácidos graxos essenciais. O equilíbrio entre a quantidade de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados (ω^3 , ω^6 e ω^9), auxilia na manutenção e proteção do organismo. Porém, os óleos constituem-se em substâncias altamente instáveis, e por isto sujeitas à drásticas mudanças em sua qualidade e em suas propriedades funcionais e nutricionais, quando submetidos ao aquecimento. Essas alterações termoxidativas estão associadas com uma variedade de doenças, como problemas cardiovasculares, câncer, obesidade e esclerose múltipla.

O óleo obtido do farelo de arroz tem sido considerado como um óleo nutricionalmente superior quando comparado com outros óleos vegetais, por conter componentes minoritários que estão compreendidos na fração insaponificável, incluindo os γ - orizanóis, tocoferóis, tocotrienóis e fitosteróis, os quais possuem alta atividade antioxidante e propriedades vitamínicas. Além da função nutricional, estes constituintes desempenham um importante papel na estabilidade e nas propriedades nutricionais do óleo de arroz.

A maior parte do óleo de arroz comestível passa por um processo de refino químico; porém, este processo, além de gerar perdas de óleo neutro, especialmente na

etapa de neutralização, devido ao alto conteúdo de ácidos graxos livres, também gera grandes perdas de tocoferóis e γ - orizanóis.

Os tocoferóis presentes naturalmente nos óleos vegetais são considerados potentes antioxidantes naturais, que podem atuar individualmente ou sinergicamente com outros componentes protegendo o óleo dos processos oxidativos, impedindo ou minimizando a formação de compostos oriundos de sua degradação. Estes compostos são "varredores de radicais livres", e por isto, são os primeiros a serem oxidados em temperaturas elevadas.

O γ - orizanol é outro importante componente presente no óleo de arroz, ao qual tem sido atribuído vários benefícios à saúde humana, além de atuar como um forte agente antioxidante, tem sido utilizado em indústrias alimentícias, farmacêuticas e de cosméticos.

O óleo de arroz tem atraído muita atenção nos países do Oriente e Ocidente, devido aos seus efeitos nutracêuticos, que tem sido atribuídos à presença de compostos bioativos, os quais conferem uma maior estabilidade oxidativa ao óleo de arroz quando este é submetido à temperaturas elevadas. Por isso é de fundamental importância maior conhecimento sobre o grau de estabilidade dos principais fitoquímicos presentes no óleo de arroz.

O objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade dos ácidos graxos, tocoferóis e orizanóis presentes no óleo de arroz refinado quimicamente e refinado fisicamente, quando submetidos ao aquecimento contínuo sob diferentes temperaturas.

Revisão de literatura

2.1 Composição de óleos e gorduras

Os óleos e gorduras constituem-se em substâncias insolúveis em água devido a sua hidrofobicidade, sendo constituídas predominantemente de triacilgliceróis, os quais são resultantes da esterificação do glicerol com ácidos graxos (MORETTO; FETT, 1998; ARAÚJO, 2004;). À temperatura ambiente possuem uma consistência de líquido para sólido; quando estão sob forma sólida são denominados de gorduras e quando estão sob forma líquida são denominados de óleos (FAGUNDES, 2002; ZAMBIAZI, 2003). Os triacilgliceróis podem ser formados por um a três ácidos graxos diferentes, os quais podem possuir diferentes graus de insaturações (VIANNI; BRAZ - FILHO, 1996; FARIA et al. 2002; ZAMBIAZI, 2003).

Os ácidos graxos presentes são comumente de cadeias alifáticas, que possuem uma parte polar devido à presença do ácido carboxílico e uma porção apolar caracterizada pela cadeia hidrocarbonada. À medida que aumenta a cadeia hidrocarbonada decresce a polaridade dos ácidos graxos (ZAMBIAZI, 2003). Devido a existência de vários tipos de ácidos graxos e a possibilidade de serem alocados em diferentes posições na estrutura do glicerol, ocorre um grande número de moléculas de triacilgliceróis no óleo ou gordura (ARAÚJO, 2004).

A ausência de ligações duplas na cadeia de grupos acila contribui para que os óleos e gorduras que contêm quantidades apreciáveis de ácidos graxos saturados sejam mais estáveis diante do processo degradativo da rancidez autoxidativa (VIANNI; BRAZ-FILHO, 1996; FARIA et al. 2002).

Além de triacilgliceróis, os óleos contêm vários componentes em menor proporção, como mono e diglicerídeos, ácidos graxos livres, tocoferóis, pigmentos (carotenóides e clorofilas), esteróis e vitaminas (ZAMBIAZI; PRZYBYLSKI, 1998; FARIA et al. 2002; ZAMBIAZI 2003; ARAÚJO, 2004), a maior parte destes constituintes são instáveis ao calor e a presença de oxigênio (RAMALHO; JORGE, 2006). No entanto, a presença e a quantidade dos componentes minoritários podem afetar a estabilidade do óleo ou gordura. Estes constituintes presentes naturalmente nos óleos vegetais, como os tocoferóis, tocotrienóis, compostos fenólicos, carotenóides e alguns fitosteróis, podem atuar individualmente ou sinergisticamente para proteger o óleo da deterioração oxidativa. Dentre esses constituintes, os tocoferóis são considerados como os mais potentes antioxidantes naturais (ZAMBIAZI; PRZYBYLSKI, 1998; RENNICK; WARNER, 2006).

A influência desses componentes minoritários no processo oxidativo de óleos e gorduras não é completamente conhecida; contudo, a composição de óleos vegetais é muito complexa e os componentes presentes podem atuar como antioxidantes, como pró-oxidantes ou não afetar a estabilidade de um óleo ou gordura. A estabilidade oxidativa depende da interação entre a composição de ácidos graxos e o tipo e quantidade de componentes minoritários presentes nos óleos vegetais (ZAMBIAZI; PRZYBYLSKI, 1998; ZAMBIAZI; ZAMBIAZI, 2000).

2.2 Comportamento dos óleos vegetais submetidos ao aquecimento

Os óleos e gorduras desempenham um importante papel no que diz respeito à qualidade de muitos produtos alimentares, particularmente em relação às propriedades energéticas, nutricionais (ácidos graxos essenciais) e sensoriais (*flavor*, cor e textura). No entanto, os óleos e gorduras se deterioram durante o armazenamento devido aos processos hidrolíticos e oxidativos. Quando expostos à luz, ao oxigênio e a altas temperaturas, o processo da oxidação é acelerado, ocorrendo reações de oxipolimerização e decomposição termo-oxidativa dos óleos (REDA, 2004).

As principais formas de deterioração de óleos são a hidrólise, a oxidação e a polimerização (ARAÚJO, 2004; JORGE; JANIERI, 2005; ROSSI; ALAMPRESE; RATTI, 2006).

A hidrólise de óleos e gorduras pode ser de origem química (hidrolítica) ou enzimática (lipolítica). A hidrólise é caracterizada pela reação de triacilgliceróis com a água, onde para cada molécula de água envolvida na reação, uma molécula de ácido graxo é liberado, resultando na formação de diacilgliceróis, monoacilgliceróis e ácidos graxos livres. Ácidos graxos livres são formados durante a colheita da matéria - prima, estocagem, e durante o processo de extração de óleos ou gorduras. Ácidos graxos livres de baixo peso molecular são responsáveis pelo odor e flavor característicos de gorduras rancificadas e de muitos produtos que contém alto teor de gordura (ZAMBIAZI, 2003).

A hidrólise não enzimática de lipídios é lenta à temperatura ambiente, mas é acelerada na presença de água à altas temperaturas, sob pressão ou durante tempo de aquecimento prolongado (ARAÚJO, 2004). O calor atua como catalisador desta reação; portanto, esta reação é comum em óleos ou gorduras submetidos ao processo de fritura. O aumento de ácidos graxos livres no meio está normalmente associado com o decréscimo da tensão superficial do óleo, e conseqüente redução da qualidade do óleo. Além disso, os ácidos graxos livres são mais susceptíveis à oxidação do que os ácidos graxos ligados ao glicerol (ZAMBIAZI, 2003). A oxidação lipídica é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, tornando os alimentos impróprios para o consumo, além de provocar alterações que podem afetar não somente a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos pela formação de compostos potencialmente tóxicos (FENNEMA, 2000; RAMALHO; JORGE, 2006).

A oxidação consiste em um processo degradativo que ocorre quando o oxigênio atmosférico, ou dissolvido no óleo, reage com ácidos graxos insaturados. As reações químicas envolvidas no processo de oxidação de óleos são extremamente complexas e geram em seus estádios intermediários produtos com odores e sabores desagradáveis para o consumo humano (MOGHARBEL; FREITAS, 2003; ZAMBIAZI, 2003).

Os níveis de oxidação dependem fundamentalmente das condições de armazenamento, principalmente da temperatura, presença de resíduos de metais, incidência de luz e disponibilidade de oxigênio. Sob condições favoráveis, a oxidação ocorre rapidamente, pela formação de radical livre e subsequente ataque na molécula lipídica, com formação de hidroperóxidos que podem se decompor ou polimerizar, resultando em uma complexa mistura de compostos (KANAVOURAS; CERT; HERNANDEZ, 2005).

Os ácidos graxos insaturados geram como primeiros produtos de reação os mono-hidroperóxidos, que reagem posteriormente para formar uma variedade de produtos secundários da oxidação, incluindo dímeros, polímeros e produtos de degradação voláteis e não voláteis (OLIVEIRA, 2003).

Para evitar a autooxidação de óleos e gorduras deve-se evitar as condições que favoreçam este processo, mantendo ao mínimo os níveis de energia (temperatura e luz), que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de formação de radicais livres, evitando a presença de traços de metais no óleo, evitando ao máximo o contato com oxigênio e bloqueando a formação de radicais livres por meio de antioxidantes naturais (RAMALHO; JORGE, 2006).

A polimerização ocorre quando duas ou mais moléculas de ácidos graxos combinam-se, como consequência das alterações do processo de oxidação e altas temperaturas, principalmente em operações de fritura. Os polímeros resultantes promovem aumento da viscosidade do óleo, que favorece maior encharcamento na superfície da massa de certos alimentos, causando impressão visual e alteração sensorial desagradáveis (MORETTO; FETT, 1998).

2.3 Óleo de arroz

O óleo de farelo de arroz é extensivamente consumido como óleo comestível em vários países da Ásia, assim como Japão, China, Korea, Índia Taiwan, Tailândia e Paquistão. A Índia e a Tailândia são os principais produtores de óleo de arroz, que juntos somam mais de 225.000 toneladas métricas de óleo por ano (HOED et al., 2006).

A utilização deste óleo tem aumentado consideravelmente nos países do ocidente, devido ao seu suposto potencial nutracêutico, cujos componentes mais importantes incluem os tocoferóis, tocotrienóis e a fração de γ -orizanol (KIM et al., 2001; WARNER; NEFF; ELLER, 2003; HA et al., 2005; RODRIGUES et al., 2005; NYSTRÖM, 2006; BALACHANDRAN et al., 2008).

Vários estudos realizados em animais e humanos têm demonstrado que a ingestão de ácidos graxos saturados elevam o colesterol total, em particular as lipoproteínas de baixa densidade (LDL), enquanto que os ácidos graxos insaturados reduzem o LDL (WILSON et al., 2007). O óleo de arroz tem atraído muita atenção devido à proporção de ácidos graxos saturados e insaturados e pelo elevado nível de componentes bioativos (HOED et al., 2006; NARAYAN; BARHATE; RAGHAVARAO, 2006; LILITCHAN et al., 2008). Este óleo possui propriedades de reduzir os níveis de colesterol sanguíneo, reduzir o nível de agregação de placas nas artérias, além de possuir ação anti - carcinogênica (ROGERS et al., 1993; KRISHNA et al., 2001; ABIDI, 2003; AUSMAN; RONG; NICOLOSI, 2005; HOED et al., 2006; BALACHANDRAN et al., 2007; CHOTIMARKORN; SILALAI, 2008).

No Brasil, principalmente no sul do país é comum o emprego de óleo de arroz para processos de frituras de alimentos. O óleo de arroz contém cerca de 19 % de ácidos graxos saturados, 42 % de ácido oléico, 36 % de ácido linolêico e 1,8 % de ácido linolênico (ZAMBIAZI, et al., 2007).

Além das propriedades nutracêuticas, os componentes bioativos presentes na matéria - insaponificável desempenham um importante papel na estabilidade deste óleo, aumentando o período de validade de muitos alimentos submetidos ao processo de fritura (WILSON et al., 2007; CHOTIMARKORN; SILALAI, 2008). O óleo de farelo de arroz contém alto conteúdo de matéria insaponificável, acima de 4,4 %, valor superior quando comparado a outros óleos vegetais (WILSON et al., 2007). Em estudo comparativo realizado por Abidi e Rennick (2003), avaliando a estabilidade do óleo de arroz (RBO), óleo de arroz com alto conteúdo de γ -orizanol (HORBO) e óleo de soja parcialmente hidrogenado (PHSBO), observaram que os parâmetros utilizados como indicadores da qualidade e estabilidade (compostos polares e triacilgliceróis

polimerizados) reduziram com o aumento do conteúdo de tocoferóis e γ -orizanóis na ordem: PHSBO > HORBO > RBO em 168 h de aquecimento a 191 °C.

O processo de extração do óleo do farelo de arroz origina o óleo de arroz bruto, que possui compostos indesejáveis como os ácidos graxos livres, fosfatídeos, hidrocarbonetos, aldeídos e cetonas. Estes compostos prejudicam a estabilidade oxidativa e a qualidade final do óleo. Por isso, para transformá-lo em um produto estável, nutritivo e com sabor agradável, o óleo é submetido ao processo de refino.

O processo de refino dos óleos pode ser realizado pelo refino químico ou pelo refino físico. O refino químico inclui como etapas principais a degomagem, neutralização, branqueamento, deceramento e a desodorização (MARTINS, 2006; PESTANA et al., 2007; DE; BATTACHARYYA, 1999). O processo de refino físico contempla as mesmas etapas, com exceção da etapa de neutralização. Na etapa de neutralização a soda cáustica é adicionada ao óleo e através da saponificação ocorre à remoção dos ácidos graxos livres, resíduos de metais e pigmentos. A borra formada é removida por centrifugação e o óleo neutro é conduzido para remoção de sabões residuais.

O óleo de arroz tem sido refinado industrialmente, mais comumente, pelo processo químico; no entanto, este processo gera perdas consideráveis de óleo neutro, de 18 a 22 % (ORTHOEFER, 1996). As perdas de óleo neutro na desacidificação química do óleo de arroz são consideravelmente maiores do que para outros óleos vegetais com conteúdos similares de ácidos graxos livres. Isto tem sido relacionado ao efeito sinérgico das ceras com a fração de γ - orizanol.

Além das elevadas perdas de óleo neutro, o refino químico provoca uma grande produção de sabão e de resíduos que geram poluição ambiental (DE e BHATTACHARYYA, 1998). Por isso, vários autores têm proposto a utilização do refino físico para óleos com altos níveis de ácidos graxos livres. O processo de refino físico utiliza vapor seco sob vácuo para remover os ácidos graxos livres, os quais são removidos por destilação. Estima-se uma perda de aproximadamente 80 a 90 % de γ -orizanol pelo processo de refino químico, enquanto que no processo de refino físico esta perda seria inferior a 10 %, porque o γ - orizanol, não destila juntamente com os ácidos graxos livres (KRISHNA; HEMAKUMAR; KHATOON, 2006).

No entanto, a desacidificação através do processo de refino físico não é tão eficaz quanto a do refino alcalino, além de muitas vezes provocar o escurecimento do óleo (ANTONIASSI; ESTEVES; MEIRELLES, 1998).

2.4 γ - Orizanol no óleo de arroz

O γ - orizanol constitui-se em uma mistura de ésteres de ácido ferúlico com esterol ou alcóois triterpênicos e fitosteróis; seu efeito fisiológico tem sido associado com a redução do colesterol e do risco de agregação de placas nas artérias, no tratamento de processos inflamatórios, na redução da biossíntese do colesterol hepático, além de ser utilizado para o tratamento de anomalias do sistema nervoso (KRISHNA et al., 2001; XU; HUA; GODBER, 2001; SIERRA et al., 2005; HOED et al., 2006). Este composto é utilizado por indústrias alimentares, farmacêuticas e de cosméticos (LILITCHAN et al., 2008). No entanto, sua utilização tem sido ainda restrita, principalmente devido ao seu alto custo; outro aspecto limitante é a carência de estudos sobre a atividade antioxidante e estabilidade deste componente quando associado a outros constituintes dos alimentos (XU; HUA; GODBER, 2001).

Dez componentes da fração do γ - orizanol foram identificados no óleo de farelo de arroz: o ferulato de 7 - estigmastenila, ferulato de estigmasterila, ferulato de cicloartenila, ferulato de 24-metilenocicloartenila, ferulato de campestenila, ferulato de capesterila, ferulato de stigmastenila, ferulato de sitostanila, ferulato de sitosterila e ferulato de compestanila (XU; GODBER, 1999) (Figura1). O ferulate de cicloartenila,, o ferulate de 24-metilenecicloartenila e o ferulato, de campesteril são os três componentes que se encontram em maior quantidade, contribuindo com 80 % do γ - orizanol no farelo de arroz (XU; GODBER, 1999; XU; HUA; GODBER, 2001).

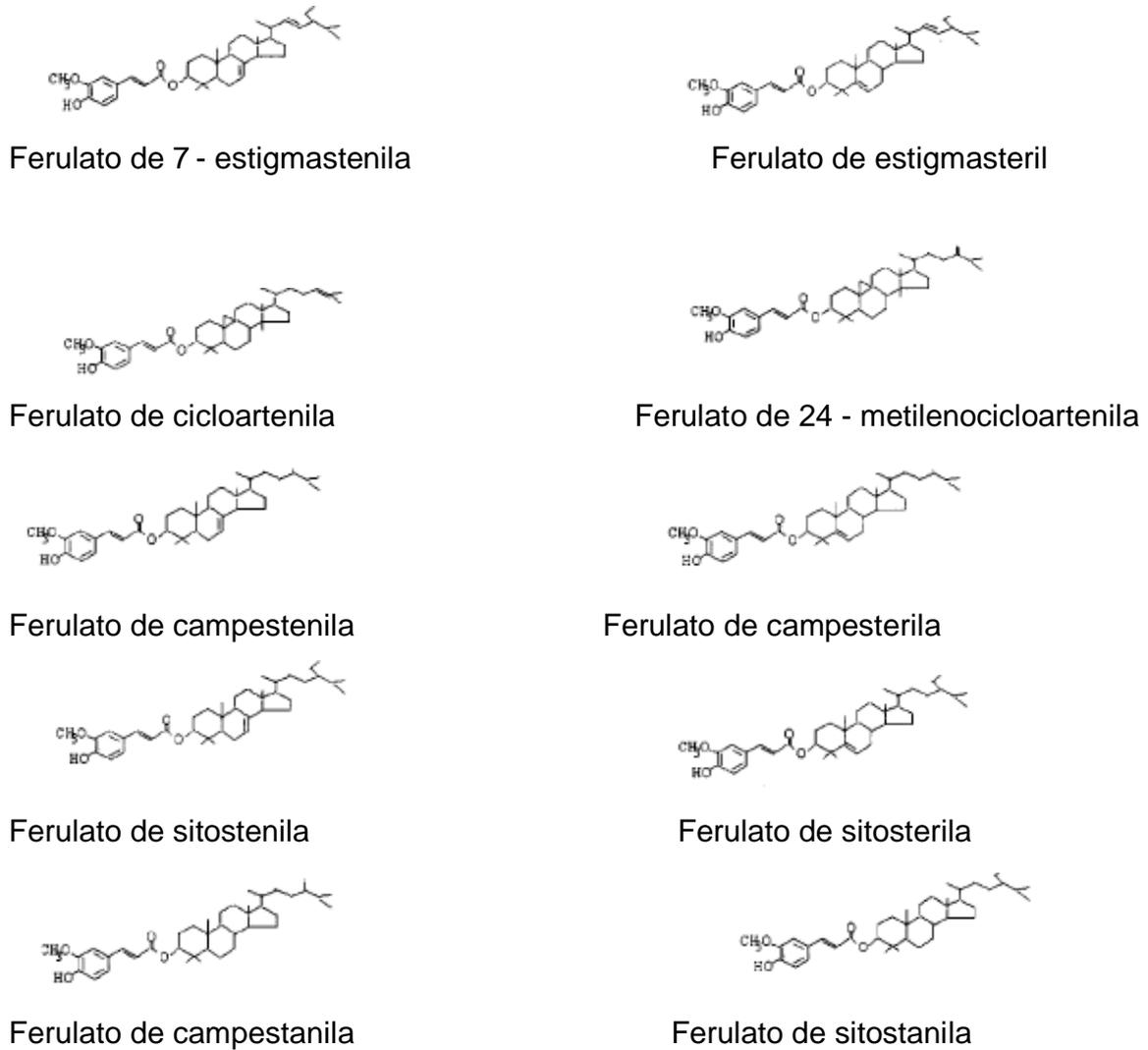


Figura 1. Estrutura geral dos componentes do γ - orizanol.

Fonte: XU; GODBER, 1999.

A presença de γ - orizanol em quantidades apreciáveis na matéria insaponificável do óleo de arroz é uma característica única deste óleo (GOPALA; KHATOON; BABYLATHA, 2004). A concentração de γ - orizanol depende das condições de extração e processamento (SASKA; ROSSITER 1998). Seus níveis no óleo de arroz

apresentam-se entre 1,5 a 2,9 % (SASKA; ROSSITER, 1998; KRISHANA, 2001; KRISHANA et al. 2003).

O óleo de arroz é bem conhecido por apresentar uma boa estabilidade quando submetido à fritura; no entanto, este óleo contém quantidades significativas de outros antioxidantes, como tocoferóis e tocotrienóis, e seus efeitos na estabilidade de óleos não são somente atribuídos ao γ - orizanol (NYSTROM, 2006).

Tem-se atribuído ao γ - orizanol uma forte ação antioxidante por possuir efeitos estabilizadores durante aplicações do óleo em frituras, além de melhorar a estabilidade de alimentos durante o armazenamento (WANG; HICKIS; MOREAU, 2002; CHEN; BERGMAN, 2005; CHOTIMARKORN; SILALAI, 2008). Esses antioxidantes, derivados do esteril ferulato são biologicamente e quimicamente ativos, apropriados para serem utilizados a altas temperaturas além de possuírem propriedades nutracêuticas (WANG; HICKIS; MOREAU, 2002).

A atividade antioxidante dos ésteres do ácido ferúlico é baseada na doação de hidrogênio do grupo hidroxil do ácido ferúlico, assim, estes compostos atuam como os demais antioxidantes comumente utilizados na indústria de alimentos (BHT, BHA e TBHQ). Estes ésteres são compostos polares e de baixo peso molecular, com solubilidade limitada em óleos. A solubilidade dos ésteres do ácido ferúlico no óleo pode aumentar quando ocorre sua esterificação com componentes não polares do óleo; este processo também promove o aumento de sua estabilidade térmica (NYSTROM, 2006).

Estudos recentes, realizados por Nyström et al. (2006), comparando as propriedades antioxidantes do esteril ferulato (composto presente na fração do γ -orizanol) com o α - tocoferol em altas temperaturas, observaram que ambos os antioxidantes obtiveram efeitos significativos na redução de polímeros, mas não foi observado efeito sinérgico entre eles. Porém, os níveis de ferulato de esterila foram degradados em menores taxas que o α - tocoferol, indicando que o ferulato de sitostanila é um antioxidante promissor em aplicações a altas temperaturas.

Em estudos realizados por Gopala, Khatoon e Babylatha (2004), o óleo de arroz refinado fisicamente foi comparado com o óleo de girassol e com o óleo de arroz refinado quimicamente. Os resultados demonstraram que, o óleo de arroz refinado

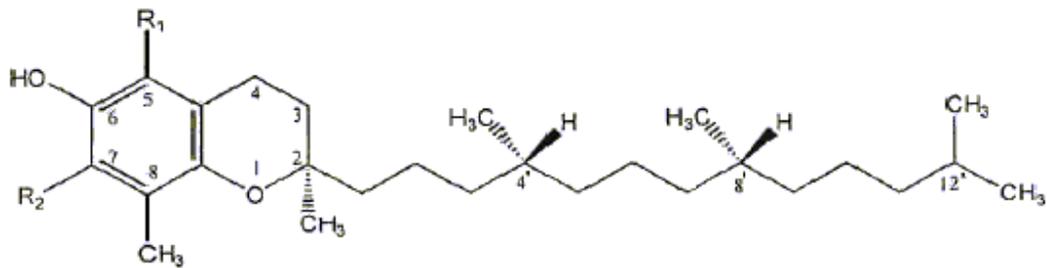
fisicamente apresentou as menores alterações; portanto, esse óleo, que apresentou maior concentração de γ - orizanol, também apresentou maior estabilidade térmica. Observaram também que o conteúdo de γ - orizanol após 1 h de fritura a 180 °C, permaneceu inalterado nos três óleos de arroz, indicando sua estabilidade durante as condições utilizadas no estudo.

A atividade antioxidante de fitosteróis, γ - orizanol, ácido ferúlico e éster de esteróis foram testados em óleos de soja e em óleo de arroz. Os resultados demonstraram que a estabilidade oxidativa dos óleos foi significativamente afetada pelo tipo de composto e concentração testada, onde o óleo de arroz foi significativamente menos susceptível à polimerização (WANG; HICKS; MOREAU 2002).

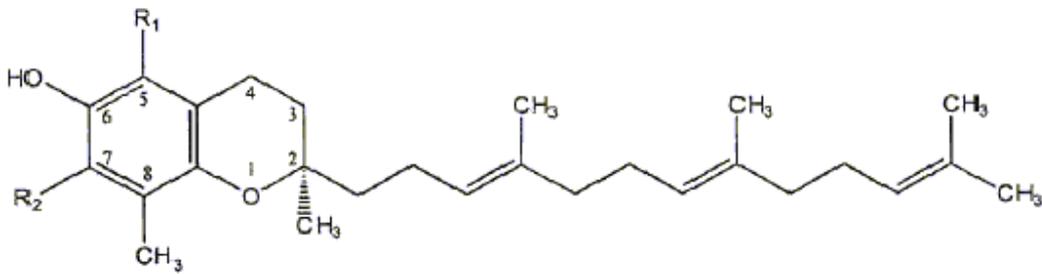
2.5 Estabilidade de tocoferóis sob o aquecimento

A vitamina E compreende compostos monofenólicos que são classificados em oito diferentes compostos pertencendo a duas famílias distintas: tocoferóis e os tocotrienóis (NOLASCO; AGUIRREZÁBALAB; CRAPISTEC, 2004; REDA, 2004). A vitamina E é o termo genérico usado para descrever os oito compostos que exercem atividade biológica dos tocoferóis (YOSHIDA et al., 1998; ABIDI, 2003). Este grupo compreende o α , β , γ e δ - tocoferol e o α , β , γ e δ - tocotrienol, os quais diferem entre si pelo número e localização dos grupos metila no anel aromático (MORRISSEY, SHEEHY 1999; CUNHA, 2006; FLOHÉ, 2006; ROSLI et al., 2006).

Os tocoferóis são caracterizados por uma cadeia lateral saturada com 3 carbonos quirais de assimetria nas posições 2, 4 e 8 (Figura 2a), e os tocotrienóis possuem uma cadeia lateral insaturada com duplas ligações nas posições 3, 7 e 11, e apenas um carbono quiral na posição 2 (Figura 2b).



(2a)



(2b)

Figura 2. Estrutura geral dos tocoferóis (2a) e dos tocotrienóis (2b).

Fonte: MARTINS, 2006.

Os homólogos dos tocoferóis variam estruturalmente em função do número e da localização de grupos metilas no anel cromanol (tabela1).

Tabela 1: Homólogos dos tocoferóis

Nome trivial	Nome químico	Posição no anel	
		R1	R2
α-tocoferol	5,7,8-trimetiltocol	CH ₃	CH ₃
β-tocoferol	5,8-dimetiltocol	CH ₃	H
γ-tocoferol	7,8-dimetil tocol	H	CH ₃
δ-tocoferol	8-metiltocol	H	H

FONTE: MARTINS, 2006

Estes compostos constituem-se nos antioxidantes naturais mais abundantes encontrados em vegetais, sendo reconhecidos por exercer efeitos biológicos que protegem membranas celulares, além de aumentar a estabilidade de óleos vegetais e gorduras animais.

O α - tocoferol é considerado o antioxidante natural mais abundante distribuído na natureza, encontra-se praticamente em todos os óleos vegetais, e apresenta a maior atividade biológica como vitamina E, sendo que a sua atividade biológica é duas vezes superior ao do β - e γ - e 100 vezes a do δ - tocoferol (NOLASCO; AGUIRREZÁBALAB; CRAPISTEC, 2004; ROMERO et al., 2007). Os tocoferóis inibem a peroxidação lipídica por atuarem como captadores de radicais lipídicos peroxila, evitando que estes radicais peroxila possam reagir com as cadeias laterais de ácidos graxos adjacentes ou com proteínas de membranas. O grupo-OH do α - tocoferol doa seu átomo de hidrogênio ao radical peroxila ($\text{LOO}\bullet$), formando um radical α - tocoferila ($\alpha\text{-T}\bullet$) e um hidroperóxido. Em uma reação subsequente, o radical α - tocoferila ($\alpha\text{-T}\bullet$) reage com um outro radical peroxil ($\text{LOO}\bullet$) formando um produto estável. Portanto, o α - tocoferol interrompe a reação de cadeia da peroxidação lipídica (PORTER et al., 1995; citado por PESTANA, 2007).

O conteúdo e a proporção dos diferentes homólogos dos tocoferóis presentes nos óleos depende de diversos fatores, como a espécie vegetal, estágio de maturação das sementes, procedimento de extração e purificação do óleo, tempo e condições de armazenamento, além do tipo e condições de refino (MARTINS, 2006). Estes compostos são parcialmente destruídos pelos processos de refino e estocagem dos óleos, sendo que a exposição à luz exerce grande influência neste processo (CERT; MOREDA; PÉREZ-CAMINO, 2000).

Os tocoferóis são facilmente oxidados por agentes oxidantes, especialmente na presença de calor, luz, metais e de meios alcalinos. Oxidam-se mais lentamente em atmosfera de oxigênio na ausência de luz, mesmo em temperaturas superiores a 200 °C. No entanto, na presença de oxigênio, a estabilidade do α - tocoferol diminui pela metade a cada 10 °C acima de 40 °C (MARTINS, 2006).

A degradação oxidativa dos tocoferóis é fortemente influenciada pela oxidação dos ácidos graxos insaturados. A degradação dos tocoferóis aumenta com o aumento

da oxidação dos óleos e com o aumento da taxa de oxigênio e radicais livres (PLAYER et al., 2006).

Pesquisas realizadas por Player et al. (2006), avaliando a estabilidade de α -, γ - e δ - tocoferol durante a oxidação do óleo de soja a 50 °C demonstraram que o α - tocoferol se degradou mais rapidamente que γ - e δ - tocoferol. Segundo os mesmos autores, a degradação dos tocoferóis aumenta com o aumento do grau de oxidação do óleo, e o α - tocoferol foi completamente destruído em 16 dias enquanto que o γ - e δ - tocoferóis permaneceram após 24 dias de aquecimento.

A degradação de α - e γ - tocoferóis também foi avaliada em estudos utilizando o óleo de girassol com médio e alto conteúdo de ácido oléico. O conteúdo de tocoferóis foi superior (43 %) no óleo de girassol com médio conteúdo de ácido oléico e sua degradação foi marcadamente inferior num período de 12 – 24 h, quando submetido à temperatura de 180 °C (NORMAND; ESKINA; PRZYBYLSKI, 2006).

Em estudo realizado por Rennick e Warner (2006), avaliando a degradação de α - tocoferol em óleos de soja e girassol, foi observado que o conteúdo de α - tocoferol apresentou uma taxa de redução superior no início do período de aquecimento a 180 °C, para ambos os óleos enriquecidos com α - tocoferol. Após 30 h de aquecimento o α - tocoferol já havia sido totalmente degradado, enquanto que no óleo de soja sem adição de α - tocoferol, ainda permanecia com 7 % de sua concentração inicial.

A concentração de α - tocoferol em amostras de azeite de oliva foi monitorada durante a oxidação térmica a 60 °C e 100 °C. Nestas condições os autores observaram que ao final de 100 h de aquecimento a 100 °C o α - tocoferol já havia sido totalmente degradado, e no mesmo período a 60 °C ainda permanecia 60,36 mg.Kg⁻¹ de α - tocoferol no meio (NISSIOTIS; TASIOULA-MARGARI, 2002).

Materiais e métodos

3.1 Materiais

3.1.1 Amostras de óleo

O óleo de farelo de arroz (*oryza sativa*) refinado quimicamente foi cedido pela indústria processadora de óleo de arroz - Indústria Rio - Grandense de Óleos vegetais Irgovel (Pelotas-RS). O óleo de farelo arroz refinado fisicamente foi cedido pela indústria processadora de óleo de arroz - Helmut Tessmann (Camaquã/RS).

O óleo refinado quimicamente estava acondicionado em bambona de plástico opaca com capacidade de 30 L, o óleo refinado fisicamente estava acondicionado em três galões de 5 L. Ambos os óleos permaneceram em temperatura ambiente até o momento das análises.

3.2 Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes utilizados no experimento foram de grau de pureza p.a e grau cromatográfico, adquiridos da Vetec, Synth e Sigma-Aldrich.

3.2.1 Padrões cromatográficos

Os padrões cromatográficos utilizados foram δ - tocoferol e γ - tocoferol (Sigma, na pureza de 90 % e maior ou igual a 96 %, respectivamente); α - tocoferol (Merck, de pureza 99 %); e γ - orizanol (grau analítico, TCL - Tokyo, Japão).

Os padrões de ácidos graxos constituíram-se de uma mistura contendo os ácidos capríco, caprílico, cáprico, caproléico, láurico, dodecenóico, mirístico, miristoléico, palmítico, palmitoléico, margárico, heptadecenóico, esteárico, oléico, linoléico,

linolênico, araquídico, gadoléico, eicosadienóico, eicosatrienóico, eicosatetraenóico, behênico, erúcico, docosadienóico, docosatrienóico, tetraenóico, lignocérico e nervônico (Sigma).

3.3 Processo de aquecimento

O óleo de arroz refinado quimicamente e o óleo refinado fisicamente foram submetidos ao aquecimento em estufa sem circulação de ar, e na ausência de luz. Para isto, três litros de cada tipo de óleo foram colocados separadamente em béquers abertos com capacidade de cinco litros. Os óleos foram previamente aquecidos em fogão até atingir à temperatura da estufa, e após colocados no interior da estufa na temperatura pré-determinada. Os experimentos foram conduzidos nas temperaturas de $180\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$, $140\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ e $100\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$.

Para cada experimento as amostras foram coletadas em intervalos de tempo pré-determinados e armazenadas em frascos de cor âmbar, que foram congeladas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises.

O período de coleta das amostras foi realizado a cada 48 h até completar 432 h. Após este período as amostras foram coletadas em intervalos de 72 h até completar 576 h e após, foram coletadas a cada 120 h de aquecimento. As amostras submetidas à temperatura de $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ foram aquecidas até atingir 1368 h, 1008 h e 432 h, respectivamente. O ponto final de coleta das amostras nas diferentes temperaturas foi definido em função da degradação total do α - tocoferol presente em uma das amostras de óleo.

3.4 Análises físico-químicas

3.4.1 Viscosidade

A viscosidade foi determinada a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ em viscosímetro Visco Tester^{6L} (Thermo Haake), segundo técnica descrita por Benetido et al. (2007). Foi determinada a

viscosidade apenas no tempo inicial e final de aquecimento dos óleos. Os resultados foram expressos em mPas.

3.4.2 Umidade

As amostras dos óleos foram pesadas em cápsulas de porcelana e colocadas em estufa a 85 °C até peso constante. Determinou-se o teor de umidade dos óleos, segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (1985). Os resultados foram expressos em %.

3.4.3 Teor de acidez

A determinação da acidez dos óleos foi realizada pela dissolução da amostra em solução de éter etílico:álcool etílico (2:1, v/v), e subsequente titulação com solução alcalina de hidróxido de sódio, segundo metodologia da AOCS (Ca 5 a - 40, 1992). Os resultados foram expressos em % de ácido oléico.

3.4.5 Índice de peróxido

O índice de peróxido nos óleos foi determinado pelo método titulométrico, segundo metodologia descrita pela AOCS (Cd8-53, 1992). Os resultados foram expressos em meqgO₂.Kg⁻¹ de amostra.

3.4.5 Índice de refração

Foi determinado o índice de refração nos óleos em refratômetro de ABBE, realizando a leitura a 40 °C, seguindo metodologia da AOCS (Cc7-25, 1993).

3.4.6 Matéria insaponificável

Foi realizada segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997) com pequenas modificações.

3.4.7 Ácido tiobarbitúrico

Foi determinado segundo metodologia descrita pela AOCS (1992).

3.4.8 pH

Realizado no óleo à temperatura ambiente, com auxílio de um potenciômetro.

3.4.9 Perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos das amostras do óleo de arroz, foi determinado segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997), com pequenas modificações.

Pesou-se aproximadamente 45 mg de óleo em tubos de ensaio com tampa, dissolveu-se em 1 mL de éter de petróleo, adicionou-se 12 mL de 0,5 N HCl em metanol, misturou-se no vortex e colocou-se em aquecimento em estufa a 65 °C por uma hora. Após a amostra foi resfriada a temperatura ambiente e adicionado 5 mL de isooctano e 6 mL de água destilada, seguida por uma homogeneização vigorosa em vortex. Removeu-se parte da fase superior e transferiu-se para frasco de 1,5 mL. Cerca de 1,5 µL de amostra foi injetado manualmente com seringa (PerkinElmer) de capacidade de 10 µL em cromatógrafo gasoso - CG (Shimadzu GC-14B), equipado com detector FID, utilizando split de 1:50.

Utilizou-se coluna capilar (J & W Scientific) de dimensão 30 m x 0,252 mm, revestida por filme 0,25 µm, com fase líquida DB-225. As condições cromatográficas foram: temperatura do injetor de 250 °C; temperatura do detector de 250 °C; gradiente de temperatura do forno: temperatura inicial de 100 °C mantida por 0,5 min, após passou para 150 °C com incremento linear de 8 °C min⁻¹, mantida por 0,5 min, seguindo a 180 °C com incremento linear com 1,5 °C min⁻¹, mantida por 5 min, e finalmente a 220 °C com incremento linear de 2 °C min⁻¹, mantida por 6 min, totalizando 58,25 min. Usou-se o nitrogênio como gás de arraste com fluxo de 1.0 mL.min⁻¹. Os dados adquiridos foram processados com auxílio do software Glass-GC10.

A identificação dos ácidos graxos nas amostras de óleos foi realizada através dos picos identificados por comparação com a mistura de padrões.

3.4.10 Quantificação de tocoferóis

As análises dos tocoferóis foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Chen e Bergman (2005), com pequenas modificações. Pesou-se aproximadamente 0,250 mg de óleo de arroz, que foram diluídas com acetona até completar o volume de 5mL. Procedeu-se a centrifugação por 6 minutos a 9000 rpm em microcentrífuga (NT800 Nova Técnica), transferindo-se a fase orgânica para frasco com capacidade de 1,5 mL.

Injetou-se entre 10-20 μ L de amostra no sistema de cromatografia líquida de alta eficiência-HPLC (SHIMADZU), constituído por um módulo de mistura dos solventes LC-10AT_{VP}, degaseificador FCV-10AL_{VP}, bomba reodine DGU-14_A, sistema de controle SCL-10^A_{VP}, forno da coluna CTO-10AS_{VP} e amostrador automático SIL-10AF. A separação foi realizada em uma coluna analítica de fase reversa, Shim-Pak CLC-ODS (3,9 cm x 150 mm x 4 μ m), tendo como fase estacionária grupamentos octadesil. Utilizou-se o detector fluorescência com excitação de 290 nm e emissão a 330 nm. Os dados foram adquiridos e processados com uso do software Class-VP.

Utilizou-se como fase móvel inicial acetonitrila:metanol:isopropanol nas proporção 50:40:10 (v/v/v) por 10 minutos; alterando-se linearmente para acetonitrila:metanol:isopropanol (30:65:5, v/v/v) até atingir 12 minutos; e retornando linearmente para a fase móvel inicial até 15 minutos de análise. Utilizou-se fluxo constante de 1 mL min⁻¹.

Para realizar a identificação e quantificação dos tocoferóis, utilizou-se curvas de calibração externa do α -, γ - e δ - tocoferol, através das equações correspondentes às respostas do detector em função da concentração dos padrões.

3.4.11 Quantificação de γ - orizanol

A análise de γ - orizanol foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Chen e Bergman (2005), com pequenas modificações. Pesou-se aproximadamente 0,500 mg de óleo, que foram diluídos com acetona até completar o volume de 5 mL. Procedeu-se a centrifugação por 6 minutos a 9000 rpm em microcentrífuga, transferindo-se a fase orgânica para frasco com capacidade de 1,5 mL. Injetou entre 20 - 40 μ L de amostra no sistema de cromatografia líquida de alta eficiência - HPLC.

O sistema cromatográfico, fase móvel e fluxo, foram os mesmos utilizados na separação dos tocoferóis. Para a identificação dos picos utilizou-se o detector de UV/VIS a 325 nm.

A quantificação foi realizada a partir de uma curva padrão do γ - orizanol que foi construída utilizando a soma total da área dos picos correspondentes aos compostos individuais presentes no padrão de γ - orizanol. Optou-se pela soma total dos picos pela falta de padrões individuais correspondentes a cada componente presente no γ - orizanol.

3.4.12 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através da análise de variância (ANOVA), e comparação de médias pelo teste de Tukey, ambos ao nível de 5% de probabilidade, através do programa Estatística 7.0 (STATSOFT, 2004).

Resultados e discussão

4.1 Caracterização físico-química do óleo de arroz

4.1.1 Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas referentes à avaliação da qualidade do óleo de arroz refinado quimicamente e refinado fisicamente estão expostos na Tabela 2.

Tabela 2. Características físico-químicas do óleo de arroz

Determinações	Óleo de arroz	
	ORQ	ORF
Acidez (% de ácido oléico)	0,19 b	1,10 a
Índice de refração	1,468 a	1,471 a
Índice de peróxido (meq.g.Kg ⁻¹)	2,07 a	1,72 a
Matéria Insaponificável (%)	2,47 a	2,62 a
pH	6,31 a	4,55 b
Umidade (%)	0,07 a	0,08 a
Tocoferóis totais (mg.100g ⁻¹)	43,52a	35,60 b
γ - Orizanóis totais (mg.100g ⁻¹)	33,55 b	732,60 a

Valores seguidos por letra iguais na mesma linha não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); ORF - óleo refinado fisicamente; ORQ - óleo refinado quimicamente.

A acidez máxima permitida pela legislação brasileira (ANVISA, 1999), para o óleo de arroz refinado fisicamente e refinado quimicamente é respectivamente 0,3%; portanto, somente o óleo de arroz refinado quimicamente apresenta acidez de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira.

O tipo de processo utilizado no refino físico pode ter influenciado no elevado conteúdo de acidez, pois o óleo refinado quimicamente passa pela etapa de

neutralização, onde os ácidos graxos livres são removidos pela adição de álcali, a qual não ocorre no processo de refino físico. Assim, observa-se menor eficiência na remoção de ácidos graxos livres pelo processo de refino físico, o qual utiliza apenas vapor seco sob vácuo para a remoção dos ácidos graxos livres, os quais são removidos por destilação a vapor.

Observou-se que o índice de refração do óleo de arroz refinado quimicamente (1,468) apresentou-se no limite superior dos valores estipulados pela legislação brasileira, que permite uma oscilação entre 1,465 a 1,468 (ANVISA, 1999). No entanto, os valores do índice de refração do óleo refinado fisicamente (1,471) apresenta-se acima dos valores estipulados pela legislação. Os valores superiores do índice de refração do óleo obtido pelo processo de refino físico podem ser atribuídos a um maior conteúdo de compostos presentes, pois no processo de refino químico ocorre a etapa de neutralização, que além da remoção de ácidos graxos livres auxilia em uma maior remoção de compostos que não fazem parte da fração glicerídica.

O óleo de arroz refinado quimicamente e o óleo refinado fisicamente não apresentaram diferenças significativas quanto ao conteúdo de matéria insaponificável, estando dentro do estabelecido pela legislação brasileira, que estipula o conteúdo máximo de 5 % no óleo de arroz (ANVISA, 1999). Pestana (2007) relata resultados similares para o óleo de arroz refinado quimicamente (2.01 %). De e Bhattacharyya (1998), relatam valores de 4,8 % de matéria - insaponificável no óleo de arroz bruto. Mesmo não apresentando diferenças significativas, o óleo de arroz refinado fisicamente apresenta maior conteúdo de matéria insaponificável, o que condiz com o índice de refração superior.

Os valores de índice de peróxidos encontrados para o óleo refinado quimicamente e o óleo refinado fisicamente foram respectivamente de 2,07 meq-g.Kg⁻¹ e de 1,72 meq-g.Kg⁻¹. Os óleos analisados apresentaram índices de peróxidos dentro do estipulado pela legislação brasileira (ANVISA, 1999), onde o máximo permitido é de 10 meq-g.Kg⁻¹.

O valor do pH no óleo de arroz refinado quimicamente foi similar ao encontrado por Pestana (2007) em óleo de arroz refinado quimicamente, que relata valores de 6,09. O valor do pH do óleo de arroz refinado fisicamente foi inferior ao valor do óleo de arroz

refinado quimicamente, indicando ser um óleo mais ácido, o que é comprovado pelo seu maior teor de acidez, em função do maior conteúdo de ácidos graxos livres.

Verifica-se que não houve diferenças significativas no teor de umidade nos óleos, apresentando valores similares aos relatados por Pestana (2007), que cita um teor de umidade de 0,08 % para o óleo de arroz refinado quimicamente.

O óleo refinado quimicamente apresentou um conteúdo de 43,52 mg.100g⁻¹, de tocoferóis totais, enquanto que o óleo refinado fisicamente apresentou um conteúdo de 35,60 mg.100g⁻¹. Com isto observa-se que a etapa de neutralização parece não afetar a redução do teor de tocoferóis nos óleos.

O conteúdo do γ - orizanol no óleo de arroz refinado quimicamente foi de 33,55 mg.100g⁻¹, estando de acordo com o encontrado por Rogers et al. (1993) que descreve um conteúdo de 10 a 80 mg.100g⁻¹, no óleo de arroz refinado quimicamente. No entanto, de acordo com Krishna et al. (2001), o óleo de arroz refinado quimicamente apresentou um conteúdo de 190 a 200 mg.100g⁻¹ de γ - orizanol. Rodrigues, Meirelles e Onoyana (2006), relatam conteúdos de γ - orizanol de 120 mg.100g⁻¹ no óleo de arroz refinado quimicamente e Gopala, Khatoon e Babylatha (2004), encontraram um conteúdo de 140 mg.100g⁻¹. No entanto, o conteúdo de γ - orizanol no óleo refinado fisicamente foi muito superior 732,60 mg.100g⁻¹. Estes resultados foram similares aos encontrados por Gopala Krishna, Khatoon e Babylatha (2004), que citam conteúdos de 560 mg.100g⁻¹ e de 1390 mg.100g⁻¹ respectivamente, para óleos refinados fisicamente com médio e alto conteúdo de γ - orizanol. Estes dados reforçam estudos de Pestana (2007), que relata perdas de até 95,9 % de γ - orizanol na etapa de neutralização durante o refino químico do óleo de arroz.

4.1.2 Perfil de ácidos graxos do óleo de arroz

Os ácidos graxos majoritários presentes no óleo de arroz tanto no refinado quimicamente quanto no refinado fisicamente, foram o ácido oléico (36,4 - 36,9 %) e o ácido linoléico (34,0 - 31,0 %), compreendendo cerca de 70 % do total de ácidos graxos presentes nos óleos. Dentre os ácidos graxos saturados, o ácido majoritário foi o ácido palmítico, apresentando proporções de 21,2 - 21,3 %.

O óleo refinado fisicamente apresentou proporções inferiores de ácido linoléico quando comparado com o óleo de arroz refinado quimicamente; e em contrapartida, apresentou um conteúdo pouco superior dos ácidos graxos saturados behênico e lignocérico.

A proporção relativa dos ácidos graxos majoritários presentes no óleo de arroz refinado quimicamente estão de acordo com os valores descritos por Rodrigues, Onoyama e Meirelles (2006), Pestana (2007), e Zambiasi et al. (2007) em óleo de arroz refinado quimicamente (Tabela 3).

Tabela 3. Composição relativa em ácidos graxos do óleo de arroz

Ácidos Graxos		Óleo de arroz	
		ORQ (%)	ORF(%)
Cáprico	C10:0	tr	tr
Láurico	C12:0	tr	tr
Mirístico	C14:0	0,4	0,4
Miristoléico	C14:1	0,2	tr
Palmítico	C16:0	21,2	21,3
Palmitoléico	C16:1	0,2	0,2
Margárico	C17:0	0,5	0,7
Heptadecenóico	C17:1	tr	tr
Estearíco	C18:0	1,7	1,6
Oléico	C18:1	36,4	36,9
Linoléico	C18:2	34,0	31,0
Linolênico	C18:3	1,4	1,8
Araquídico	C20:0	0,5	0,9
Gadoléico	C20:1	0,5	0,5
Eicosadienóico	C20:2	1,0	1,2
Eicosapentaenóico	C20:5	tr	tr
Behênico	C22:0	0,3	1,0
Docosadienóico	C22:2	tr	tr
Docosatrienóico	C22:3	tr	tr
Tetraenóico	C22:4	tr	0,2
Lignocérico	C24:0	0,5	0,8
Nervônico	C24:1	tr	tr
% Ácidos graxos saturados		26,2	27,5
% Ácidos graxos insaturados		73,8	72,5

tr – significa que somente foi detectado traços deste ácido; ORF - óleo refinado fisicamente; ORQ - óleo refinado quimicamente.

4.2 Composição físico-química do óleo de arroz submetido ao aquecimento

4.2.1. Acidez

Observou-se que o valor de acidez no óleo refinado quimicamente praticamente não se alterou, e manteve-se dentro dos padrões estipulados pela legislação, até o período de 768 h de aquecimento a 100 °C, atingindo apenas um conteúdo de 0,37 % de acidez ao completar 1.368 h (Figura 3). O conteúdo de ácidos graxos livres no óleo refinado fisicamente submetido à temperatura de 100 °C permaneceu estável até às 48 h de aquecimento, a partir deste período houve um aumento considerável no teor de acidez, e ao completar 1.368 h atingiu o teor de 3,33 % de ácidos graxos livres (tabela 7, em anexo). Portanto, a 100 °C o óleo de arroz refinado quimicamente apresentou-se mais estável às reações hidrolíticas que o óleo refinado fisicamente. Considerando que o conteúdo de umidade era praticamente o mesmo, na mesma temperatura de aquecimento, o maior aumento de acidez no óleo refinado fisicamente pode ser explicado em função do conteúdo superior de acidez inicial (tabela 2), presente neste óleo, que segundo Zambiasi (2000), pode atuar como acelerador dos processos degradativos nos óleos.

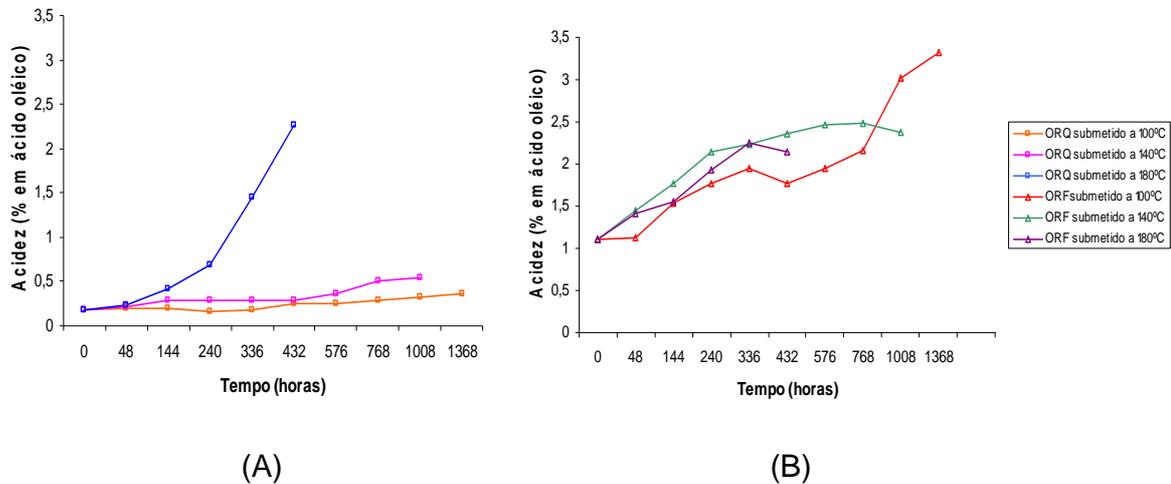


Figura 3: valores de acidez para o óleo refinado quimicamente e o óleo refinado fisicamente, submetidos à temperatura de 100 °C, 140 °C e 180 °C; (A) ORQ - óleo refinado quimicamente, (B) ORF - óleo refinado fisicamente.

Quando submetido à temperatura de 140 °C observou-se um aumento significativo no conteúdo de acidez do óleo refinado fisicamente, até completar 1.008 h de aquecimento (tabela 7, em anexo). Novamente, o aumento da acidez foi significativamente superior no óleo refinado fisicamente, o que pode ser devido a uma maior concentração inicial de ácidos graxos livres neste óleo, e de outras impurezas presentes no mesmo óleo.

O óleo refinado quimicamente submetido a 180 °C apresentou um conteúdo de ácidos graxos livres dentro dos limites permitidos pela legislação até o período de aquecimento de 48 h (0,24 % de acidez em ácido oléico). A partir de 240 h de aquecimento ocorreu uma taxa de incremento da acidez bem superior ao incremento no conteúdo de acidez no óleo refinado fisicamente, atingindo valores de acidez, inclusive, superiores na temperatura de 432 h de aquecimento (2,26 %). O conteúdo de acidez no óleo refinado fisicamente apresentou um aumento gradativo até o tempo de 432 h, onde atingiu valores de 2,14 % de ácidos graxos livres.

Comparando o conteúdo de acidez nos óleos submetidos ao aquecimento nas diferentes temperaturas, pode-se observar que em ambos os óleos ocorreu um aumento no conteúdo de acidez à medida que aumentou a temperatura em que o óleo

foi submetido, indicando que houve uma aceleração nas reações hidrolíticas com o aumento da temperatura. Este comportamento no conteúdo de acidez concorda com os dados reportados por Seppanen et al. (2006) e Lima (1995), os quais relatam que a hidrólise é uma das reações que ocorrem em óleos aquecidos, e que seus valores aumentam com o tempo e temperatura utilizada no processo.

No entanto, observou-se que apenas na temperatura de 180 °C o incremento do conteúdo de acidez no óleo refinado quimicamente foi mais acentuado que nas outras temperaturas, chegando inclusive a ultrapassar os valores de acidez do óleo refinado fisicamente ao final do período de aquecimento. Este aumento pode ser devido a menor concentração de γ - orizanóis no óleo de arroz refinado quimicamente; no entanto, segundo a literatura a ação protetora de γ - orizanol seria apenas como antioxidante, ou seja, atuando na redução apenas de reações oxidativas, e não frente às reações hidrolíticas.

4.2.2 Índice de Peróxido

O óleo refinado quimicamente apresentou um aumento significativo do índice de peróxido até o período de 336 h de aquecimento a 100 °C (tabela 8, em anexo), mantendo-se praticamente constante após este período, chegando até mesmo reduzir estes índices ao final do período de aquecimento (1.368 h) (Figura 4). Porém, até o período de 48 h este índice apresentou-se dentro dos limites estipulados pela legislação, valores inferiores a 10 meq-g.Kg⁻¹. No entanto, o índice de peróxido no óleo refinado fisicamente apresentou apenas um pequeno acréscimo durante todo o período de aquecimento, ficando com valores abaixo de 4,15 meq-g.Kg⁻¹ após 1.368 h de aquecimento.

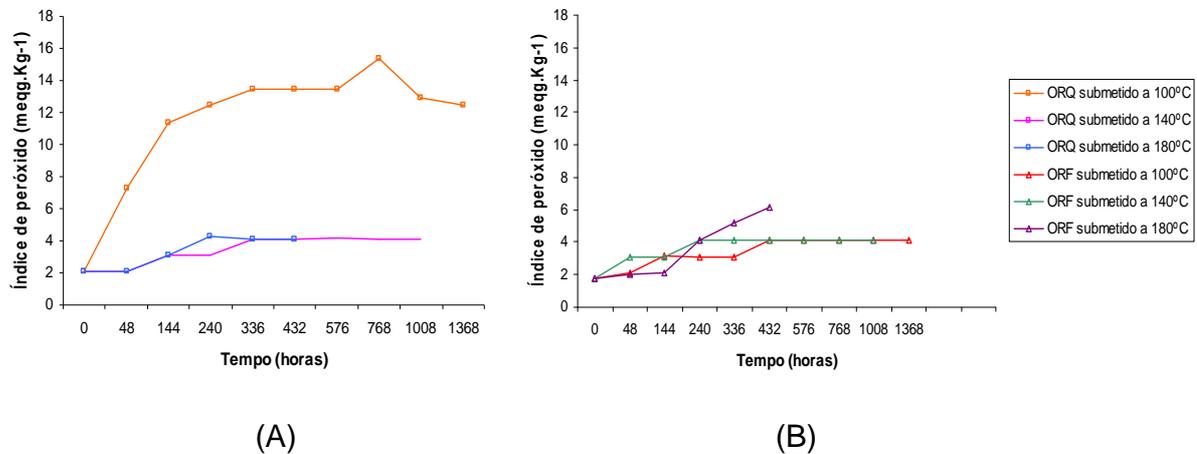


Figura 4: valores de índice de peróxido para o óleo refinado quimicamente e o óleo refinado fisicamente, submetidos à temperatura de 100°C, 140°C e 180°C; (A) ORQ- óleo refinado quimicamente, (B) ORF- óleo refinado fisicamente.

Na temperatura de aquecimento de 140 °C praticamente não se observou diferenças significativas nos valores do índice de peróxido nos óleos refinados quimicamente e no óleo refinado fisicamente, os quais apresentaram apenas um pequeno aumento durante o período de aquecimento. O óleo refinado quimicamente apresentou um aumento significativo no índice de peróxido até o período de 336 h, mantendo-se praticamente estável até o final do período de 1.008 h de aquecimento. No entanto, o óleo refinado fisicamente apresentou um aumento a partir das primeiras horas até o período de 240 h, após o qual apresentou comportamento estável, semelhante ao óleo refinado quimicamente. Os valores superiores do índice de peróxidos no óleo aquecido a 100 °C quando comparados aos valores nos óleos aquecidos a 140 °C e 180 °C podem ser atribuídos à taxa de formação de peróxidos ter sido maior que sua taxa de degradação.

O óleo refinado quimicamente apresentou um aumento do índice de peróxido a partir de 48 h e manteve-se praticamente constante após 240 h (4,23 meq.g.Kg⁻¹) de aquecimento a 180 °C. O índice de peróxido no óleo refinado fisicamente apresentou-se inferior ao índice de peróxido do óleo refinado quimicamente até as 336 h de aquecimento, a partir da qual apresentou valores significativamente superiores.

Os resultados do índice de peróxido em ambos os óleos submetidos nas temperaturas de 140 °C e 180 °C mantiveram-se com valores bem inferiores quando comparados com o óleo refinado quimicamente submetido à temperatura de 100 °C, demonstrando que em temperaturas inferiores ocorreu maior formação do que decomposição de peróxidos. Nas temperaturas mais elevadas ocorreu o oposto, o que pode estar relacionado a uma rápida degradação dos compostos primários (como peróxidos e hidroperóxidos) em compostos secundários da oxidação.

De acordo com Berdeaux et al., (1999) e Seppanen et al., (2006), os hidroperóxidos decompõem-se rapidamente a altas temperaturas. Ruiz-Lopez et al. (1995), comentam que os hidroperóxidos formados durante o aquecimento decompõem-se rapidamente antes mesmo de reagir com os tocoferóis presentes no meio.

Shiela, Sreerama e Gopala Krishna (2004), em estudos realizados com uma mistura de óleos, inclusive óleo de arroz, submetidos a 40 °C, também observaram uma tendência de decréscimo no conteúdo de peróxidos. Estes mesmos autores, observaram que ocorreu uma decomposição dos hidroperóxidos na mistura de óleos durante o período de aquecimento de seis meses a 40 °C. Por outro lado, Tan et al. (1999), também relatam que os índices de peróxidos são menos seguros para monitorar a oxidação térmica dos óleos submetidos às altas temperaturas, devido à rápida decomposição dos peróxidos em produtos secundários.

4.2.3 Ácido tiobarbitúrico

Observou-se que na temperatura de 100 °C ocorreu um pequeno aumento nos valores de ácido tiobarbitúrico (TBA) durante o tempo de aquecimento no óleo refinado quimicamente, diferindo significativamente do óleo refinado fisicamente, o qual apresentou variações inferiores deste índice durante o tempo de armazenamento (tabela 9, em anexo; Figura 5). Nesta mesma temperatura, também se observou um aumento significativo no índice de peróxido para o óleo refinado quimicamente, coincidindo com um maior aumento do valor de TBA. Com isto, observa-se que mesmo aumentando a concentração de peróxidos ocorreu a geração de produtos secundários

oriundos de sua decomposição. Porém, o óleo refinado fisicamente apresentou apenas um pequeno aumento no índice de peróxido e valores de TBA quando submetido ao aquecimento a 100 °C, sugerindo o possível efeito dos fitoquímicos na proteção do óleo em relação a oxidação.

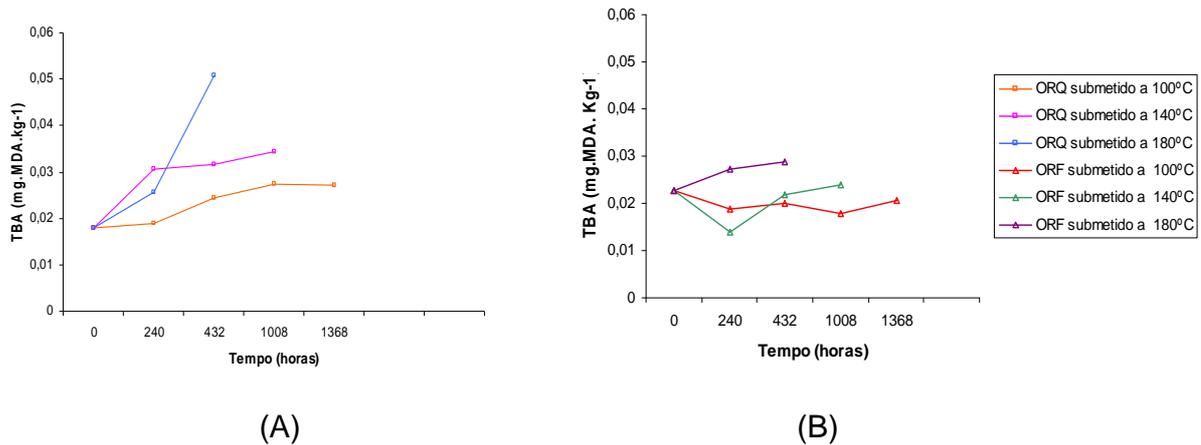


Figura 5: Valores de TBA no óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos à temperatura de 100°C, 140°C e 180°C; (A) ORQ- óleo refinado quimicamente, (B) ORF- óleo refinado fisicamente.

Observou-se o mesmo comportamento no valor do TBA nos óleos refinados quimicamente e fisicamente submetidos à temperatura de 140 °C, onde o óleo refinado quimicamente apresentou um aumento superior nos valores de TBA. Os valores superiores do TBA no óleo aquecido a 140 °C, quando comparados aos valores do óleo aquecido a 100 °C, podem ser atribuídos a maior taxa de conversão dos peróxidos em produtos secundários da oxidação, visto que, houve um menor acúmulo de peróxidos nesta temperatura.

No entanto, na temperatura de 180 °C, observou-se um aumento significativo nos valores de TBA para o óleo refinado quimicamente a partir de 240 h de aquecimento. Este comportamento sugere que nesta temperatura ocorreu uma maior taxa de conversão dos peróxidos em produtos secundários da oxidação lipídica.

Houhoula et, al. (2002), relataram um aumento significativo do índice de anisidina em óleo de algodão o qual aumentou consideravelmente com o aumento da temperatura durante 12 h de aquecimento 185 °C.

Comparando os índices de TBA dos óleos submetidos nas diferentes temperaturas, observou-se que tanto na temperatura de 140 °C quanto na temperatura de 180 °C ocorreu um aumento significativo do índice de TBA a partir do tempo de 240 h, para o óleo refinado quimicamente, o que coincide com a taxa de peróxidos formados nestes mesmos períodos de aquecimento. Não se observou diferenças significativas nos diferentes tempos de aquecimento nas temperaturas de 100 °C e 140 °C, para o óleo refinado fisicamente; porém, para a temperatura de aquecimento a 180 °C, observou-se um aumento nos valores de TBA e também de peróxidos. Na temperatura de 180 °C houve um aumento superior nos valores de TBA nos dois óleos; no entanto, os valores foram consideravelmente inferiores no óleo refinado fisicamente.

De acordo com Jorge e Janieri (2005), vários fatores podem afetar o conteúdo de ácido tiobarbitúrico, tais como o tipo de óleo vegetal, forma de envase, condições de armazenamento das amostras e pela presença de substâncias que inibem a oxidação do óleo. Como o óleo de arroz é rico em biofenóis, como tocoferóis, tocotrienóis e orizanóis, estes componentes podem ter contribuído parcialmente para uma maior estabilidade oxidativa neste óleo durante o período de aquecimento em temperaturas mais baixas.

4.2.4 Índice de Refração

Os valores do índice de refração para o óleo refinado quimicamente e para o óleo refinado fisicamente, praticamente não se alteraram durante o período de 1.368 h de aquecimento a 100 °C e durante 1.008 h de aquecimento a 140 °C (Figura 6). Não se observou diferenças significativas nestes índices nos diferentes tempos de aquecimento para as temperaturas de 100 °C e 140 °C (tabela 10, em anexo). No entanto, mesmo não havendo diferenças significativas, observou-se uma tendência de aumento do índice de refração, em ambos os óleos, ao final do período de aquecimento.

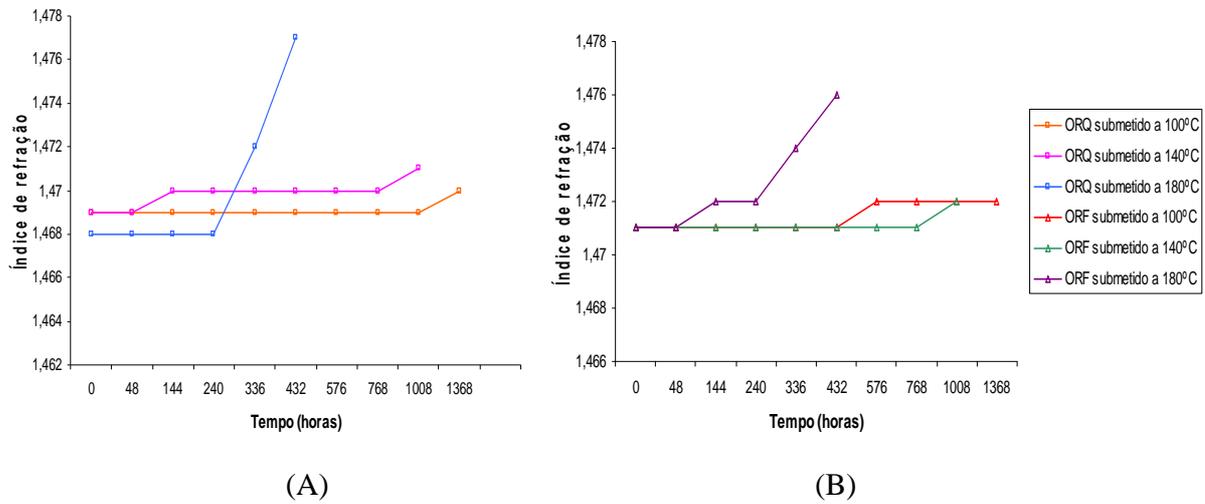


Figura 6. Índice de refração para o óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos à temperatura de 100°C, 140°C e 180°C; (A) ORQ - óleo refinado quimicamente, (B) ORF - óleo refinado fisicamente.

Na temperatura de aquecimento a 180 °C observou-se um aumento expressivo nos valores do índice de refração; tanto para o óleo refinado quimicamente quanto para o óleo refinado fisicamente, sendo este aumento significativo a partir do tempo de 336 h de aquecimento.

O aumento do índice de refração no óleo refinado quimicamente foi superior ao aumento no óleo refinado fisicamente, o que é justificado pela maior quantidade de ácidos graxos livres e de produtos secundários da oxidação, demonstrados pelos valores de acidez e de TBA. Os produtos da degradação dos triacilgliceróis, como ácidos graxos livres, ácidos graxos oxidados e polímeros resultantes das alterações oxidativas, podem estar relacionados com o aumento no índice de refração.

O aumento do índice de refração pode está relacionado com o grau de insaturação nas cadeias de ácidos graxos, onde este índice aumenta com o número de duplas ligações, conjugações e tamanho da cadeia hidrocarbonada. Embora ocorra uma redução no teor de ácidos graxos poliinsaturados nos óleos submetidos ao tratamento térmico, há formação de compostos oriundos da oxidação, decorrentes do tratamento térmico aplicado, com a possível formação de dienos conjugados oriundos do processo oxidativo e pela formação de polímeros, os quais podem influenciar no

aumento do índice de refração durante o período de estocagem (Jorge et al., 2005; Shahidi et al., 1997).

4.2.5. Viscosidade

Observou-se que tanto o óleo refinado quimicamente quanto o óleo refinado fisicamente, não apresentaram diferenças significativas na viscosidade inicial (tempo zero), e após o aquecimento a 100 °C (tabela 11, em anexo). No entanto, o comportamento da viscosidade variou entre os óleos após o aquecimento nas temperaturas de 140°C e 180°C (Figura 7).

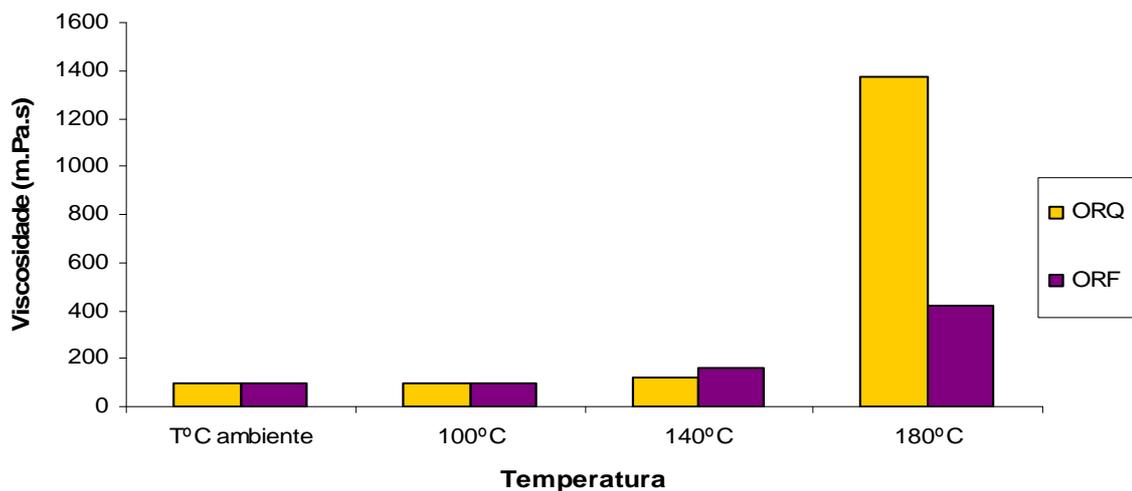


Figura 7: Valores de viscosidade no óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, antes e após o aquecimento a 100°C, 140°C e 180°C (ORQ- óleo refinado quimicamente; ORF- óleo refinado fisicamente).

Comparando a viscosidade dos óleos submetidos ao aquecimento nas temperaturas de 140 °C e 180 °C, pode-se observar que em ambos os óleos, ocorreu um aumento na viscosidade à medida que aumentou a temperatura e após o tempo de exposição do óleo ao aquecimento. No entanto, observou-se que houve um incremento superior na viscosidade para o óleo refinado quimicamente submetido a 180 °C, coincidindo com os maiores valores no índice de refração e TBA. Este aumento brusco

na viscosidade do óleo refinado quimicamente em relação ao óleo refinado fisicamente pode ser devido à degradação dos tocoferóis e a menor quantidade de γ - orizanóis, o qual também atua como um antioxidante natural fazendo com que as alterações no óleo ocorram mais lentamente.

De acordo com Besbes et al. (2005), o aumento da viscosidade durante o aquecimento está relacionado com a formação de polímeros e a formação de compostos de alto peso molecular, incluindo ligações de carbono - carbono e carbono - oxigênio - carbono entre os ácidos graxos. Benedito et al., (2007), também afirma que a degradação de óleos aquecidos aumentam a viscosidade, o conteúdo de compostos polares e o conteúdo de polímeros.

4.2.6. Ácidos graxos

Observou-se uma pequena variabilidade na proporção relativa do conteúdo de ácidos graxos do óleo de arroz durante o período de exposição ao aquecimento a 100°C, envolvendo principalmente o conteúdo dos ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico (tabela 4).

Tabela 4: Proporção relativa dos ácidos graxos majoritários no óleo de arroz submetido ao aquecimento de 100°C

Ácidos Graxos	Tempo de aquecimento (h)									
	0		240		432		1.008		1.368	
	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF
C16:0	21,2	21,3	21,2	21,9	21,4	22,4	21,8	22,3	22,4	22,7
C18:0	1,7	1,6	1,7	1,7	1,8	1,6	1,5	1,1	1,5	1,3
C18:1	36,4	36,9	37,9	38,6	39,0	39,4	38,9	40,7	40,8	40,6
C18:2	33,9	31,0	36,4	33,6	34,7	34,0	34,9	31,7	29,9	30,0
C18:3	1,4	1,8	0,4	0,9	0,4	0,7	0,4	1,1	1,1	0,99
%AGSa	26,2	27,5	24,8	26,0	24,7	25,3	24,7	25,2	25,6	24,7
%AGIns	73,8	72,5	75,2	74,0	75,3	74,7	75,3	74,8	74,4	75,3

*AGSa,=Ácido graxo saturado.

*AGIns = Ácido graxo insaturado

*ORF- óleo refinado fisicamente

*ORQ- óleo refinado quimicamente

Observou-se uma tendência de aumento na proporção dos ácidos palmítico (C16:0) e oléico (C18:1), e uma redução do ácido linolênico (C18:3) e do esteárico (C18:0), tanto para o óleo refinado quimicamente quanto para o óleo refinado fisicamente durante o período de aquecimento a 100 °C. Em ambos os óleos, o conteúdo de ácido linoléico (18:2) apresentou um incremento na fase inicial do aquecimento, seguido de um decréscimo na fase final de aquecimento.

Em função destas variações, observou-se que tanto para o óleo refinado quimicamente quanto para o óleo refinado fisicamente, ocorreram pequenas alterações na proporção do total de ácidos graxos saturados e insaturados ao final do período de exposição ao aquecimento a 100 °C. De acordo com Kalucka et al. (2005), estas variações na composição de ácidos graxos ocorrem apenas em etapas mais avançadas da oxidação lipídica.

Ao final do período de aquecimento a 100 °C do óleo refinado quimicamente, observou-se que a proporção do total de ácidos graxos insaturados/saturados (2,95) ficou praticamente na mesma proporção (2,82) apresentada antes de iniciar o processo de aquecimento. Para o óleo refinado fisicamente, a proporção inicial de ácidos graxos insaturados/saturados foi de 2,64 e a final de 3,05. Com isto observou-se que, embora tenha ocorrido uma variabilidade no conteúdo de alguns ácidos graxos, a proporção relativa dos ácidos graxos insaturados/saturados permaneceu praticamente constante.

A mesma variabilidade no conteúdo de ácidos graxos do óleo de arroz também foi observada durante o período de exposição ao aquecimento a 140 °C (tabela 5).

Tabela 5: Proporção relativa dos ácidos graxos majoritários do óleo de arroz submetido ao aquecimento de 140°C

Ácidos Graxos	Tempo de aquecimento (h)							
	0		240		432		1.008	
	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF
C16:0	21,2	21,3	21,3	21,5	20,0	21,9	22,1	22,3
C18:0	1,7	1,6	1,2	1,6	1,6	1,6	1,4	1,7
C18:1	36,4	36,9	41,0	40,1	40,6	40,4	43,4	43,4
C18:2	33,9	31,0	32,5	34,6	33,6	33,9	29,3	29,6
C18:3	1,4	1,8	1,9	0,7	1,8	0,8	1,1	0,5
%AGSa	26,2	27,5	24,6	24,3	23,2	24,5	25,5	25,9
%AGIns	73,8	72,5	75,4	75,7	76,8	75,5	74,5	74,1

*AGSa,=Ácido graxo saturado.

*AGIns = Ácido graxo insaturado

*ORF- óleo refinado fisicamente

*ORQ- óleo refinado quimicamente

Observou-se um pequeno aumento dos ácidos palmítico (C16:0) e oléico (C18:1) em ambos os óleos, durante o período de aquecimento. Para os ácidos esteárico (C18:0), linoléico (C18: 2) e linolênico (C18:3), observou-se uma redução em seu conteúdo.

A proporção relativa do ácido linoléico, em ambos os óleos, apresentou uma tendência de aumento no início do aquecimento e de uma redução em sua proporção no final do período de aquecimento, apresentando o mesmo comportamento no aquecimento a 100 °C (tabela 4). Porém, sua redução foi mais expressiva no óleo refinado quimicamente a 140 °C, onde apresentou uma redução de 13,57 %, e uma redução de apenas 4,51 % no óleo refinado fisicamente.

O óleo refinado fisicamente apresentou maior variação no conteúdo de ácidos graxos saturados quando comparado com o óleo refinado quimicamente, principalmente em relação aos ácidos graxos palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0), apresentando um aumento de 4,7 % e 6,3 % respectivamente.

A proporção de ácidos graxos insaturados/saturados no óleo de arroz refinado quimicamente, durante o período de exposição ao aquecimento a 140 °C (2,90), praticamente não alterou em relação ao seu conteúdo inicial (2,82). A mesma tendência

foi observada para o óleo refinado fisicamente a proporção de insaturado/saturados no início de 2,64 e no final do período de aquecimento de 2,86.

As maiores variações no conteúdo de ácidos graxos foram observadas durante o aquecimento a 180 °C (tabela 6).

Tabela 6: Proporção relativa dos ácidos graxos majoritários no óleo de arroz submetido ao aquecimento a 180 °C

Ácidos graxos	Tempo de aquecimento (h)					
	0		240		432	
	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF
C16:0	21,2	21,3	21,8	22,0	28,1	25,1
C18:0	1,7	1,6	2,1	1,6	2,6	2,1
C18:1	36,4	36,9	45,5	43,2	43,9	41,8
C18:2	33,9	31,0	26,3	29,6	13,0	19,0
C18:3	1,4	1,8	0,9	0,7	0,8	0,8
%AGSa	26,2	27,5	26,0	25,2	39,3	33,9
%AGIns	73,8	72,5	74,0	74,8	60,7	66,1

*AGSa,=Ácido graxo saturado.

*AGIns = Ácido graxo insaturado

*ORF- óleo refinado fisicamente

*ORQ- óleo refinado quimicamente

Pelo perfil dos ácidos graxos majoritários do óleo de arroz refinado quimicamente e do óleo refinado fisicamente, observou-se que houve um aumento dos ácidos graxos palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) e oléico (C18:1) para ambos os óleos, e uma redução dos ácidos graxos insaturados linoléico (C18:2) e linolênico (C18:3), ao final do período de aquecimento a 180 °C.

No final do período de aquecimento do óleo refinado quimicamente pode-se verificar a redução da proporção de ácidos graxos insaturados/saturados de 2,82 (inicial) para 1,54 (final). No óleo de arroz refinado fisicamente, ao final do período de aquecimento, verificou-se a redução de ácidos graxos insaturados/saturados de 2,64 (inicial) para 1,95 (final). Com isto observa-se que a redução na proporção relativa dos ácidos graxos insaturados/saturados foi maior no óleo de arroz refinado quimicamente. Observou-se que nesta temperatura (180 °C, o óleo refinado fisicamente apresentou maior estabilidade lipídica que o óleo refinado quimicamente, por apresentar menor redução no conteúdo de ácidos graxos insaturados, tanto do ácido linoléico (18:2)

quanto do ácido oléico (18:1), e conseqüentemente um aumento inferior dos ácidos graxos saturados palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0).

Observou-se que tanto no óleo refinado quimicamente quanto no óleo refinado fisicamente ocorreu um aumento no conteúdo de ácidos graxos saturados, principalmente do ácido palmítico (C16:0), e do ácido oléico (C18:1), e uma redução no conteúdo de ácidos graxos insaturados, principalmente dos ácidos graxos linoléico (C18:2) e linolênico (C18:3). Portanto, os ácidos graxos poliinsaturados demonstraram ser mais susceptíveis a oxidação que os ácidos graxos monoinsaturados.

Estes resultados concordam com estudos de Houhoula, Oneopoulou e Tzia (2002), que observaram aumento significativo do ácido palmítico (C16:0) e uma redução significativa do ácido linoléico (C18:2), em alterações termoxidativas do óleo de algodão a 185 °C sob condições de fritura.

De acordo com Sulieman, El-Makhzangy e Ramadan (2006), a tendência é de ocorrer uma redução do conteúdo dos ácidos linoléico (18:2), enquanto ocorre um aumento no conteúdo dos ácidos palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) e oléico (18:1), com o tempo de exposição do óleo ao calor, com isto, segundo os mesmos autores, o conteúdo dos ácidos graxos poliinsaturados reduz e o conteúdo dos ácidos graxos saturados aumenta com o tempo de aquecimento.

Segundo Ulusoy et al., (2004), o conteúdo do ácido linolênico reduz mais rapidamente que o conteúdo do ácido linoléico e do ácido oléico nos óleos de soja e milho, autoclavados a 121 °C por 60 min.

A proporção dos ácidos graxos insaturados/saturados no óleo de arroz refinado quimicamente e no óleo de arroz refinado fisicamente, nas temperaturas de 100 °C e 140 °C, embora tivessem tendência a aumentar, praticamente não se alteraram em relação ao seu conteúdo inicial. No entanto, a 180 °C verificou-se nitidamente um aumento mais expressivo no conteúdo dos ácidos graxos saturados e uma redução dos ácidos graxos insaturados, tanto para o óleo refinado quimicamente, quanto para o refinado fisicamente; porém, a maior variação ocorreu no óleo refinado quimicamente.

Portanto, das temperaturas utilizadas neste estudo, observou-se que a temperatura de 180 °C exerceu maior influência na degradação oxidativa dos óleos, afetando mais intensamente o óleo de arroz obtido via processo de refino químico. O

óleo refinado quimicamente, quando submetido ao aquecimento a 180 °C, apresentou valores superiores no conteúdo de acidez, índice de refração, valor de TBA, viscosidade e aumento dos ácidos graxos saturados e uma redução no conteúdo de ácido graxos insaturados, quando comparado com o óleo refinado fisicamente. Estes resultados indicam que o óleo refinado fisicamente apresentou maior estabilidade a 180 °C, em relação às reações hidrolíticas e oxidativas.

Estas diferenças encontradas para a estabilidade dos óleos submetidos a 180 °C pode estar relacionada a maior concentração de γ - orizanol no óleo refinado fisicamente, uma vez que, este age como um forte antioxidante, protegendo o óleo da oxidação devido a sua capacidade de doar os seus hidrogênios ao radical livre.

4.2.7 Estabilidade dos tocoferóis

Observou-se que, tanto no óleo de arroz refinado quimicamente, quanto no óleo refinado fisicamente, o α - tocoferol está em maior concentração, seguido pelo γ - e δ - tocoferol. O conteúdo de γ - e δ - tocoferóis foi praticamente igual em ambos os óleos. No entanto, o óleo refinado quimicamente apresentou teores mais elevados de α - tocoferol (tabela 12, 13 e 14, em anexo).

O conteúdo de α - tocoferol no óleo refinado quimicamente apresentou uma redução gradativa até 432 h de aquecimento a 100 °C, totalizando uma perda neste período de 28,65 % (tabela 12, em anexo). Após este período a sua degradação foi mais intensa, atingindo, ao completar 1.008 h de aquecimento, uma redução de 80,85 %; e no período de 1.368 h apresentou uma degradação de 100 % em relação ao seu conteúdo inicial. O α - tocoferol presente no óleo refinado fisicamente apresentou um grau de degradação inferior, atingindo uma perda de 8,53 % no período de 432 h de aquecimento. Após este período a sua degradação foi mais intensa, apresentando perdas de 47,56 % no período de 1.008 h de aquecimento; no entanto, totalizando apenas uma perda de 63,69 % ao completar 1.368 h de aquecimento (Figura 8).

O conteúdo de α - tocoferol no óleo refinado quimicamente submetido a 140 °C, apresentou uma pequena redução (5,02 %) no período de 48 h de aquecimento (tabela 13, em anexo). Uma maior degradação ocorreu no período de 432 h de aquecimento, onde apresentou uma redução de 32,19 % em relação ao seu conteúdo inicial; e ao

completar 1.008 h apresentou uma redução de 100 % de seu conteúdo inicial. Novamente, o conteúdo de α - tocoferol no óleo refinado fisicamente apresentou uma degradação inferior à ocorrida no óleo refinado quimicamente, apresentando uma redução de 27,93 % no período de 432 h de aquecimento, e de 59,80 % ao final do período de 1.008 h de aquecimento.

No óleo refinado quimicamente submetido a 180 °C, observou-se que o α -tocoferol apresentou uma degradação acima de 90 % ao final de 144 h de aquecimento, atingindo 100 % de degradação ao final do período de 240 h de aquecimento (tabela 14, em anexo). A redução do conteúdo de α - tocoferol no óleo refinado fisicamente foi bem inferior a do refinado quimicamente, de apenas 39,42 % nas 144 h; e de 70,55 % ao final de 240 h de aquecimento.

Portanto, observou-se uma redução mais acentuada no conteúdo do α - tocoferol nos óleos submetidos às temperaturas mais elevadas. No entanto, em todas as temperaturas de aquecimento, observou-se que o conteúdo de α - tocoferol no óleo refinado quimicamente apresentou uma redução em seu conteúdo mais rápida que no óleo refinado fisicamente, provavelmente devido a maior concentração de γ - orizanol no óleo refinado fisicamente.

De acordo com Kalucka et al. (2005) e Player et al. (2006), a rápida degradação do α - tocoferol, resulta em reações secundárias do radical tocoferoxil com hidroperóxidos ou ácidos graxos não oxidados para gerar mais radicais. Mas a molécula inicial do tocoferol também pode reagir com hidroperóxidos para formar radical peroxil. Segundo o mesmo autor, ambas reações aumentam a rapidez da oxidação lipídica.

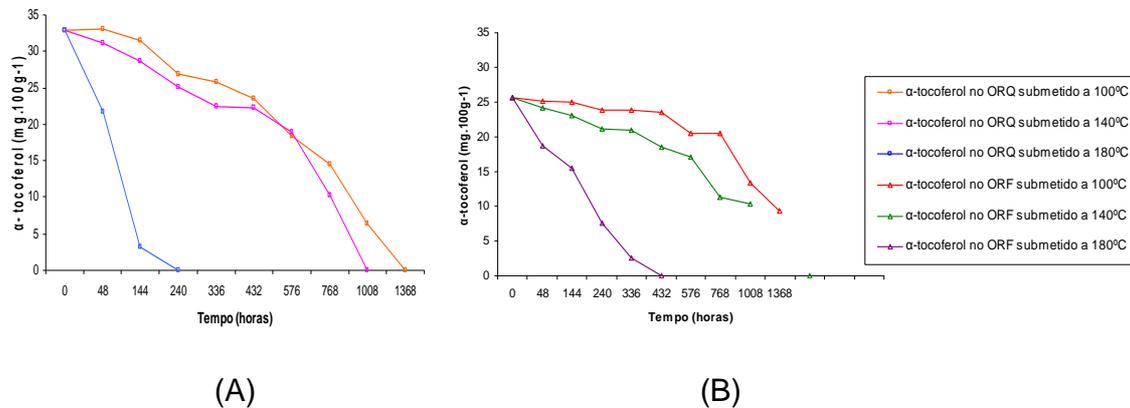


Figura 8: Conteúdo de α - tocoferol no óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos a 100°C, 140°C e 180°C; (A) ORQ - óleo refinado quimicamente, (B) ORF - óleo refinado fisicamente.

O conteúdo de γ - tocoferol no óleo refinado quimicamente submetido a 100 °C apresentou uma degradação de 19,37 % no período de 432 h de aquecimento, atingindo perda de 58,02 % nas 1.008 h de aquecimento. Uma maior taxa de degradação do γ - tocoferol ocorreu ao final do período de aquecimento (1.368 h), quando o conteúdo de γ -tocoferol apresentou uma redução de 79,82 % em relação ao seu conteúdo inicial. O óleo refinado fisicamente apresentou uma redução de 30,91 % no período de 432 h de aquecimento; no entanto, o maior percentual de degradação ocorreu no período de 1.008 h de aquecimento (59,87 %), sendo que ao final do período de aquecimento (1.368 h) a redução do γ - tocoferol (74,19 %) foi um pouco inferior a que ocorreu no óleo refinado quimicamente (tabela 12, em anexo; Figura 9).

O óleo refinado quimicamente submetido ao aquecimento a 140 °C apresentou uma redução gradativa do γ - tocoferol em todos os períodos de aquecimento, apresentado, ao completar 432 h de aquecimento, uma degradação de 41,57 %, e de 87,08 % ao final do período de aquecimento (1.008 h) (tabela 13, em anexo). O γ - tocoferol no óleo refinado fisicamente apresentou uma redução de 59,65 %, comparado aos 41,57 % de redução do γ - tocoferol no óleo refinado quimicamente no mesmo período; ou seja, mais da metade de seu conteúdo inicial já havia sido degradado. Ao completar 1.008 h de aquecimento, apresentou 86,23 % de redução deste composto. Novamente, o conteúdo de γ - tocoferol no óleo refinado fisicamente apresentou uma

degradação mais rápida durante o tempo de aquecimento que no óleo refinado quimicamente; porém, ao final da exposição ao aquecimento apresentou taxas de redução do γ - tocoferol muito similares.

O óleo refinado quimicamente submetido a 180 °C (tabela 14, em anexo), apresentou uma rápida redução no conteúdo de γ - tocoferol, atingindo um percentual de degradação de 96,06 % em 240 h de aquecimento. Ao final do período de aquecimento (432 h), o percentual de degradação foi de 98,59 %. A degradação do γ - tocoferol presente no óleo refinado fisicamente foi similar à ocorrida no óleo refinado quimicamente, atingindo percentuais de 98,37 % no período de 432 h de aquecimento.

Portanto, assim como se observou para o α - tocoferol, à medida que aumentou a temperatura ocorreu maior taxa de degradação do γ - tocoferol. A temperatura de 180 °C exerceu uma influência bem mais acentuada na taxa de degradação do γ - tocoferol. Novamente, o γ - tocoferol presente no óleo refinado fisicamente apresentou-se mais estável que o γ - tocoferol presente no óleo refinado quimicamente.

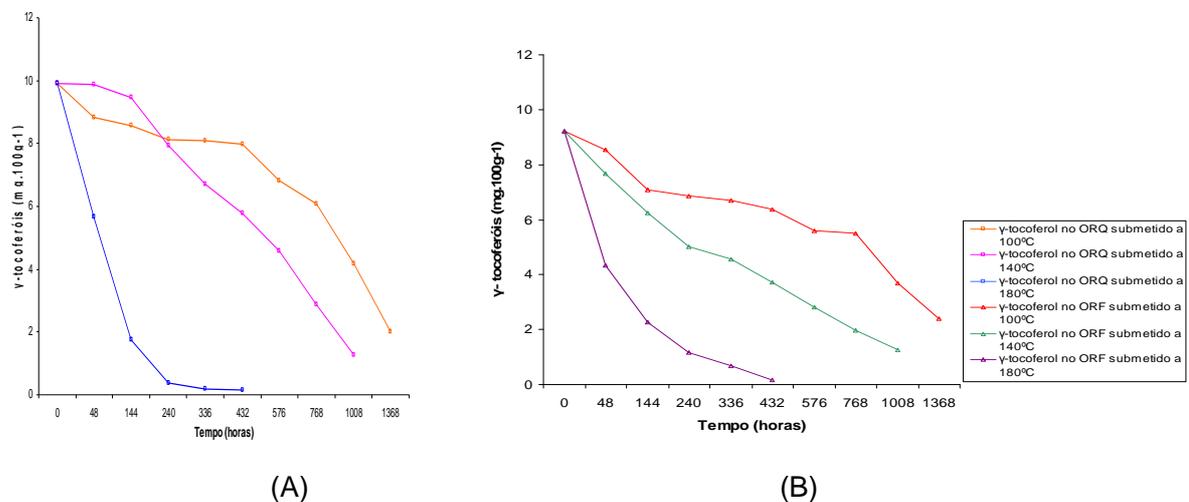


Figura 9: Conteúdo de γ - tocoferóis do óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos a 100 °C, 140 °C e 180 °C; (A) ORQ - óleo refinado quimicamente, (B) ORF - óleo refinado fisicamente.

O conteúdo do δ - tocoferol do óleo refinado quimicamente submetido a 100 °C (tabela 12, em anexo; Figura 10), apresentou uma redução de 16,88 % no período de 432 h, e de 37,77 % no final do período de aquecimento (1.368 h). O conteúdo do δ -

tocoferol no óleo refinado fisicamente apresentou um decréscimo mais intenso que o conteúdo de δ - tocoferol no óleo refinado quimicamente, apresentando uma redução de 26,76 % no período de 432 h de aquecimento, e de 60,56 % ao final do período de aquecimento (1.368 h). Ao final do período de aquecimento, a degradação do δ - tocoferol ultrapassou um pouco mais da metade de seu conteúdo inicial, apresentando uma degradação superior ao δ - tocoferol presente no óleo refinado quimicamente.

O conteúdo de δ - tocoferol no óleo refinado quimicamente apresentou uma redução gradativa até atingir o período de 432 h de aquecimento (29,87 %) a 140 °C (tabela 13, em anexo). Após este período a sua degradação foi mais intensa, atingindo, ao completar 1.008 h de aquecimento, uma redução de 44,16 %. O δ - tocoferol presente no óleo refinado fisicamente apresentou no decorrer do período de aquecimento, perdas um pouco superiores às ocorridas no óleo refinado quimicamente, atingindo uma perda de 42,25 % no período de 432 h de aquecimento, e de 67,61 % ao completar 1.008 h de aquecimento.

O δ - tocoferol presente no óleo refinado quimicamente e submetido ao aquecimento a 180 °C (tabela 14, em anexo), apresentou uma degradação gradativa em todo o período de exposição do óleo de arroz ao aquecimento, mostrando uma redução de 96,10 % ao período de 432 h de aquecimento. O óleo refinado fisicamente apresentou uma redução superior no conteúdo de δ - tocoferol nas primeiras 48 h de aquecimento (16,90 %) do que as perdas ocorridas no óleo refinado quimicamente. No final do período de aquecimento (432 h), o percentual de degradação do δ - tocoferol foi de 95,77 %. Portanto, como observado para o α - e γ - tocoferóis, à medida que aumentou a temperatura, aumentou a degradação do δ - tocoferol, para ambos os óleos.

No entanto, o δ - tocoferol presente no óleo refinado fisicamente apresentou-se mais instável que o δ - tocoferol presente no óleo refinado quimicamente.

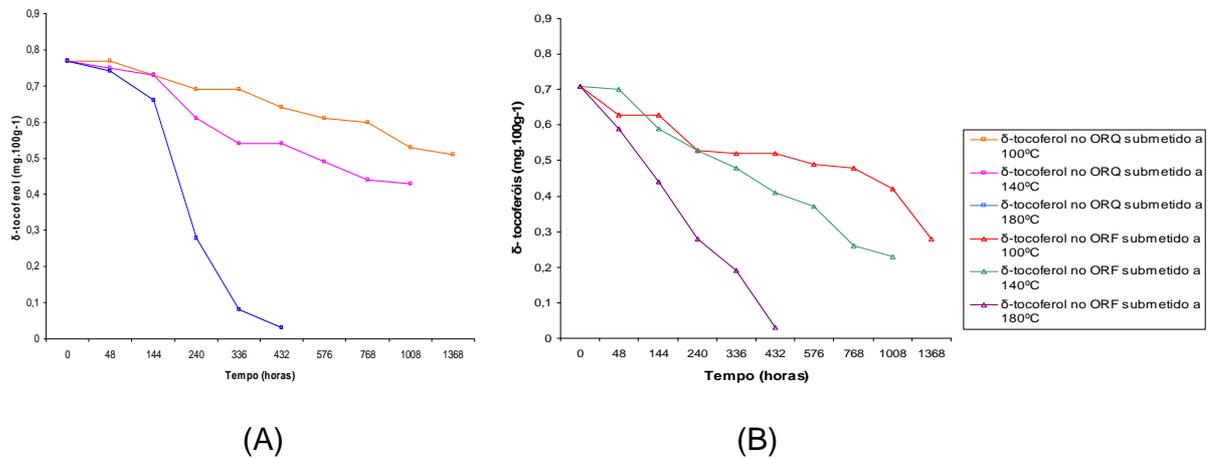


Figura 10: Conteúdo de δ - tocoferóis do óleo refinado quimicamente e refinado fisicamente submetido a 100 °C, 140 °C e 180 °C; (A) ORQ - óleo refinado quimicamente, (B) ORF - óleo refinado fisicamente.

Comparando o comportamento frente ao aquecimento de α -, γ - e δ - tocoferóis identificados no óleo de arroz refinado quimicamente (Figura 11), observou-se que o α - tocoferol foi o composto que apresentou uma degradação mais rápida nas três temperaturas de aquecimento. No entanto, a temperatura de 180 °C diferiu das demais por influenciar na maior velocidade de degradação do α -, γ - e δ - tocoferol.

O conteúdo de γ - e δ - tocoferol apresentaram apenas um pequeno decréscimo durante o aquecimento nas temperaturas de 100 °C e 140 °C, bem inferior ao decréscimo do α - tocoferol; no entanto ambos, apresentaram um decréscimo bem superior na temperatura de 180 °C, o que demonstra a maior estabilidade do γ - e δ - tocoferóis em relação ao α - tocoferol durante o aquecimento do óleo em temperaturas mais baixas, inferiores a 180 °C.

O grau de degradação dos tocoferóis encontrado neste estudo para o óleo refinado quimicamente, apresentou, nas temperaturas de 100 °C, 140 °C e 180 °C, a ordem: α - > γ - > δ - tocoferol, sendo, portanto, o α - tocoferol menos estável; estando de acordo com os resultados encontrados por Player et al. (2006) e Lampi e Kamal-Eldin (1998).

A maior estabilidade apresentada pelo δ - tocoferol pode ser devida a sua incapacidade de doar os seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres. Segundo Kalucka et al. (2005), o menor efeito antioxidante do δ - tocoferol pode estar associado a sua alta estabilidade, quando comparado com o α - tocoferol, o qual é oxidado mais rapidamente para radical tocoferil, os quais podem participar de reações em cadeia que resultam na aceleração da oxidação.

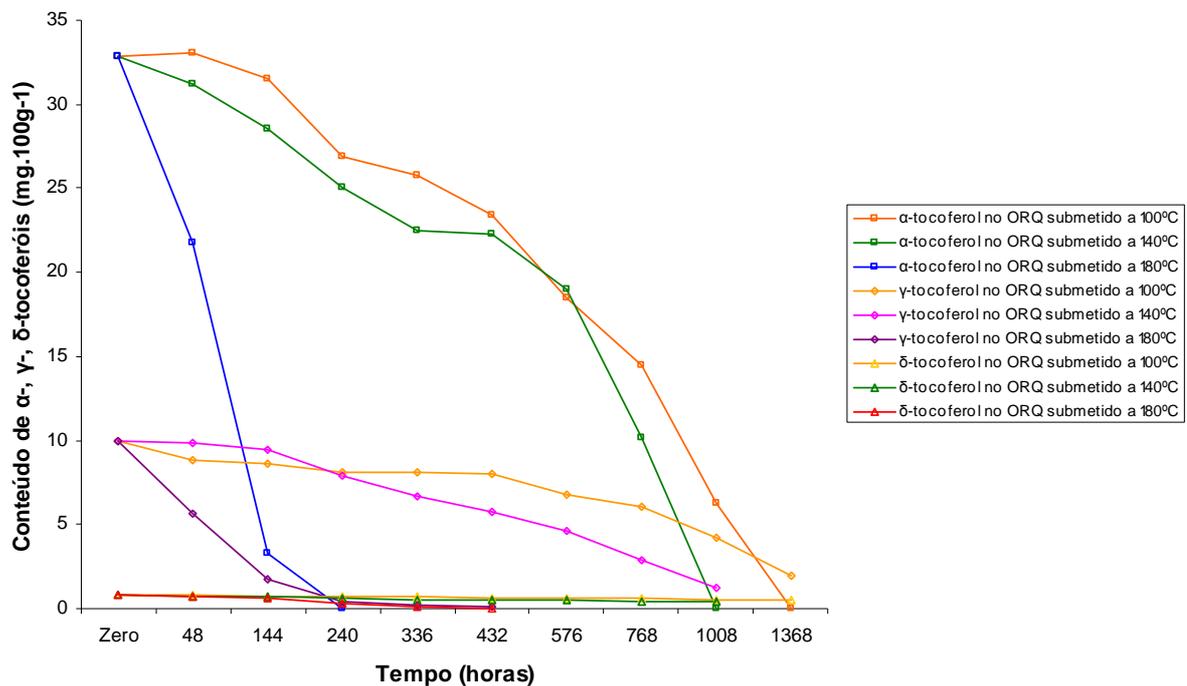


Figura 11: Conteúdo de α -, γ - e δ - tocoferóis do óleo refinado quimicamente submetido a 100 °C, 140 °C e 180 °C (ORQ - óleo refinado quimicamente).

O óleo refinado fisicamente também apresentou maior degradação ao longo do período de aquecimento para o α -, γ - e δ - tocoferóis na temperatura de 180 °C (Figura 12).

Na de temperatura de 100 °C observou-se maior retenção do α - tocoferol em função de uma degradação superior do γ - tocoferol. A ordem de degradação a 100 °C para o óleo refinado fisicamente foi: γ - > α - > δ - tocoferol; e a 140 °C a ordem de degradação foi: γ - > δ - > α - tocoferol. Somente a 180 °C observou-se uma taxa de degradação na ordem: α - > γ - > δ - tocoferol, observando-se assim, um

comportamento semelhante ao ocorrido no óleo refinado quimicamente, e estando de acordo com os resultados encontrados por Player et al., (2006) e Lampi e Kamal-Eldin (1998). De acordo com Kalucka et al., (2005), o δ - tocoferol é mais estável porque não participa tão facilmente como o α - tocoferol de reações secundárias com hidroperóxidos para formar mais radicais em temperaturas mais elevadas.

De acordo com Kim e Lee (2007) e Player et al., (2006), os antioxidantes possuem a capacidade de doar seus hidrogênios dos grupamentos fenólicos aos radicais livres, e o α - tocoferol por possuir alta atividade antioxidante em óleos vegetais, possui pouca estabilidade a altas temperaturas.

De acordo com Steel, Dobarganes e Barrera - Arellano (2005), a curva de degradação dos tocoferóis demonstra que o α - e γ - tocoferóis também foram destruídos mais rapidamente que β - e o δ - tocoferol presentes no óleo de soja a 180 °C.

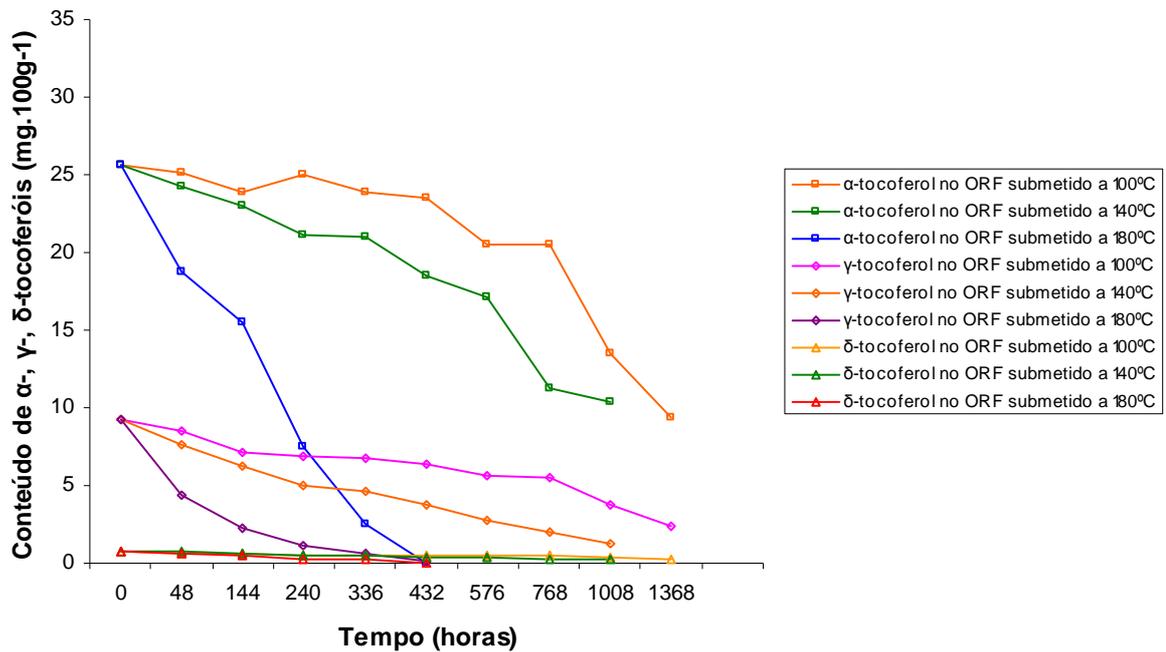


Figura 12: Conteúdo de α -, γ - e δ - tocoferóis do óleo refinado fisicamente submetido a 100 °C, 140 °C e 180 °C (ORF - óleo refinado fisicamente).

O conteúdo total de tocoferóis do óleo refinado quimicamente submetido ao aquecimento a 100 °C apresentou uma redução superior a ocorrida no óleo refinado fisicamente, atingindo perdas de 94,23 % e de 66,35 %, respectivamente, no final do período de aquecimento (1.368 h) (tabela 16, em anexo; Figura 13). Portanto, nesta temperatura, o óleo refinado fisicamente apresentou uma maior estabilidade no conteúdo total de tocoferóis, quando comparado ao conteúdo do óleo refinado quimicamente. No entanto, esta variação no conteúdo de tocoferóis não refletiu em uma alteração marcante na proporção do total de ácidos graxos saturados e insaturados nestes óleos ao final do período de exposição ao aquecimento a 100 °C. Estes dados concordam com Kalucka et al. (2005), os quais relatam que as mudanças na composição de ácidos graxos ocorreram apenas em etapas avançadas da oxidação lipídica.

A 140 °C, tanto o óleo refinado quimicamente quanto o óleo refinado fisicamente apresentaram uma redução superior no conteúdo total de tocoferóis que os óleos refinados quimicamente submetidos à temperatura de 100 °C, atingindo uma perda de 96,07 % e de 66,80 %, respectivamente no período de 1.008 h de aquecimento. Portanto, o óleo refinado fisicamente apresentou uma perda do total de tocoferóis inferior ao ocorrido no óleo refinado quimicamente.

Observou-se que, tanto no óleo refinado quimicamente quanto no óleo refinado fisicamente, ocorreram pequenas alterações na proporção do total de ácidos graxos saturados e insaturados ao final do período de exposição dos óleos ao aquecimento a 140 °C, mas não se evidenciou uma diferença marcante na proporção relativa dos ácidos graxos em função do conteúdo de tocoferóis.

As maiores taxas de degradação no conteúdo total de tocoferóis foram observadas nos óleos aquecidos a 180 °C, quando comparado as temperaturas de 140 °C e 100 °C. Novamente, o óleo refinado fisicamente apresentou maior estabilidade no conteúdo do total de tocoferóis que o óleo refinado quimicamente, atingindo a 240 h de aquecimento, perdas de 74,69 % e de 98,46 %, respectivamente. Observou-se que nesta temperatura, o óleo refinado fisicamente apresentou maior estabilidade lipídica que o óleo refinado quimicamente, por apresentar menor redução no conteúdo de ácidos graxos insaturados.

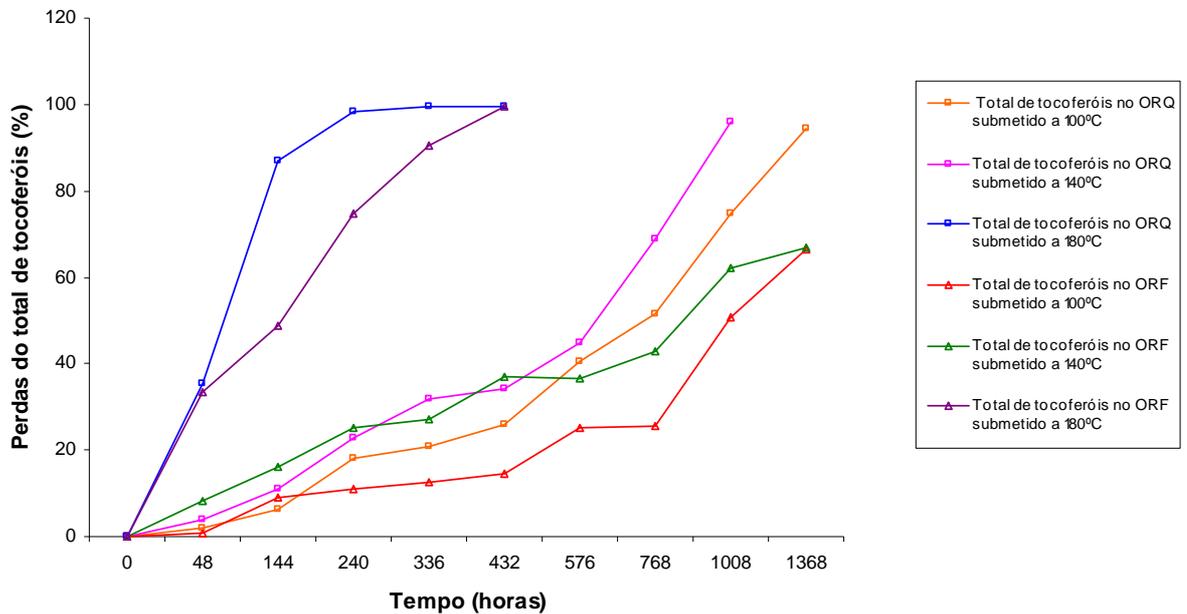


Figura 13: Perdas de tocoferóis no óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente submetido a 100 °C, 140 °C e 180 °C (ORF - óleo refinado fisicamente; ORQ - óleo refinado quimicamente).

Observou-se que a temperatura de 180 °C exerceu maior influência na degradação dos tocoferóis, tanto para o óleo refinado quimicamente, quanto para o óleo refinado fisicamente. No entanto, o óleo refinado fisicamente apresentou maior estabilidade de tocoferóis em todas as temperaturas, diferindo do óleo refinado quimicamente, indicando que, os orizanóis e outros compostos presentes no óleo, tenham aumentado o período de indução oxidativa e conseqüentemente, a estabilidade do óleo frente o aquecimento.

Ko et al. (2003), observaram que curtos períodos de aquecimento do óleo de arroz e farelo de arroz, tanto em forno microondas quanto em forno elétrico, utilizando temperaturas de 170 °C, 180 °C e 190 °C, causaram perdas extremas de vitamina E. Segundo os mesmos autores, uma degradação total da vitamina E foi observada quando utilizou-se longos períodos de aquecimento. De acordo com Nystrom et al. (2006), a boa estabilidade do óleo de arroz tem sido atribuída ao alto conteúdo de

ferulato de esterila (presente na fração do γ - orizanol) e ao conteúdo de tocoferóis presentes no óleo.

4.2.8 Estabilidade do γ - orizanol

Observou-se que o óleo de arroz refinado quimicamente submetido ao aquecimento a 100 °C apresentou uma redução de 3,22 % no conteúdo de γ - orizanol, no período de 48 h de aquecimento, sendo que a taxa de degradação para o período de 432 h foi de apenas 6,47 %. O conteúdo de γ - orizanol praticamente não se alterou até as 1.008 h (23,10 %) de aquecimento (Figura 14). O maior decréscimo ocorreu após este período, atingindo ao final do aquecimento (1.368 h) uma degradação de 53,47 %, em relação a sua concentração inicial (tabela 17, em anexo).

Na temperatura de 140 °C observou-se uma degradação superior a partir de 48 h (1,64 %) de aquecimento, ao apresentado a 100 °C, ocorrendo uma degradação de 29,93 % no período de 432 h. A maior taxa de degradação foi observada após 576 h (34,46 %), apresentando no período de 1.008 h uma degradação de 58,48 %.

A taxa de degradação do γ - orizanol aumentou consideravelmente quando o óleo foi exposto à temperatura de 180 °C, a partir do período de 48 h (1,46 %), atingindo um percentual de perdas de 97,05 % em apenas 432 h de aquecimento.

Portanto, o γ - orizanol apresentou-se menos estável à medida que ficou exposto em temperaturas mais elevadas, degradando-se rapidamente na temperatura de 180 °C.

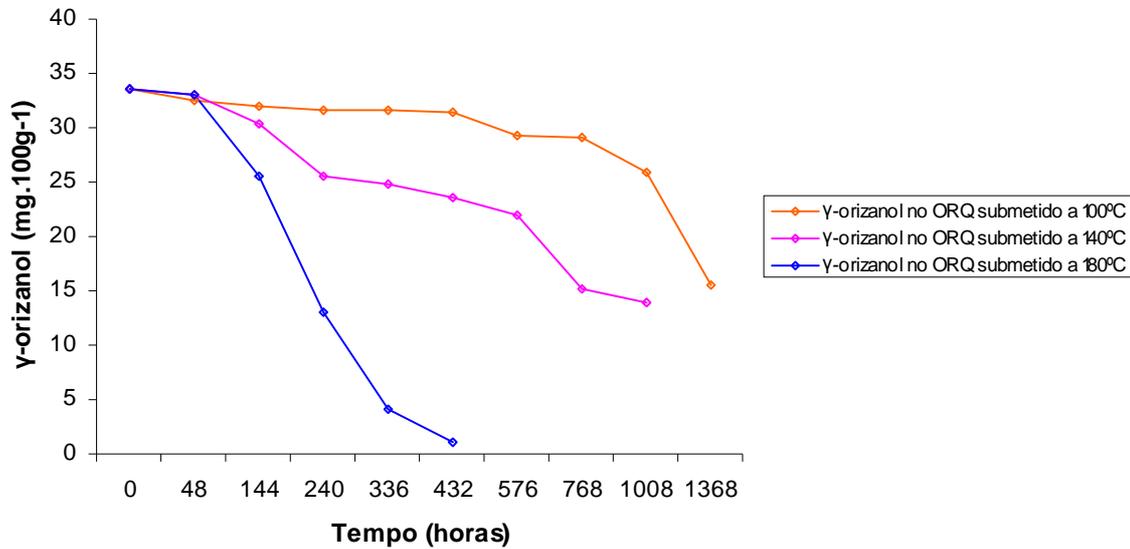


Figura 14: Conteúdo de γ - orizanol no óleo de arroz refinado quimicamente submetido a 100 °C, 140 °C e 180 °C (ORQ - óleo refinado quimicamente).

Observou-se a mesma tendência de degradação no óleo de arroz refinado fisicamente, quando submetido à temperatura de 100 °C (Figura 14). Observou-se uma taxa de degradação de 0,77 % no período de 48 h e de 6,46 % nas 432 h de aquecimento. Observou-se apenas uma pequena perda no conteúdo γ - orizanol até o período de 1.008 h (13,27 %) de aquecimento, apresentando uma perda mais expressiva após este período, atingindo ao final do aquecimento (1.368 h) uma perda de 38,11 %.

Em todo o período de exposição do óleo ao aquecimento a 140 °C verificou-se uma degradação gradativa, atingindo uma perda de 3,13 % e 24,57 %, respectivamente para os períodos de 48 h e 432 h de aquecimento, atingindo ao completar 1.008 h uma redução de 53,58 %. Comparando com o mesmo período a 100 °C, observou-se que houve uma perda mais expressiva de γ - orizanol na temperatura de 140 °C.

Na temperatura de 180 °C observou-se uma degradação superior aos outros tempos de aquecimento, atingindo uma perda de 19,19 % no período de 48 h, e uma perda no final do aquecimento ao completar 432 h de 91,11 %, restando apenas 65,09 mg.100g⁻¹ de γ - orizanol de sua concentração inicial.

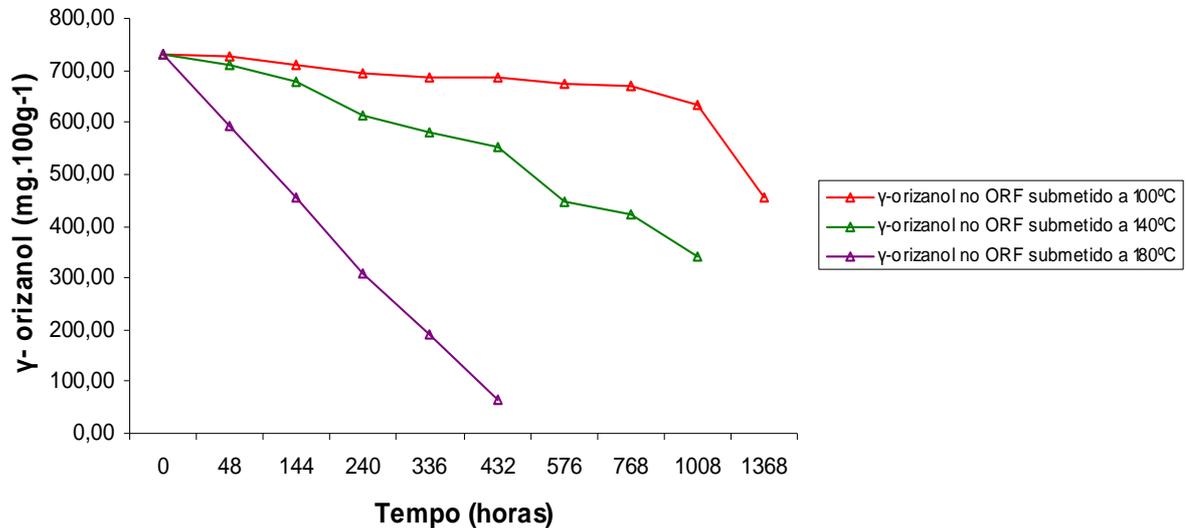


Figura 15: Conteúdo de γ - orizanol no óleo de arroz refinado fisicamente submetido a 100 °C, 140 °C e 180 °C (ORF - óleo refinado fisicamente).

Observou-se que as temperaturas mais elevadas exerceram maior influência na degradação dos γ - orizanois, tanto no óleo refinado quimicamente quanto no óleo refinado fisicamente, apresentando ordem crescente de degradação nas temperaturas de 100 °C, 140 °C e 180 °C (Figuras 13 e 14). Observou-se também que em todas as temperaturas houve uma maior degradação de tocoferóis em relação à degradação dos γ - orizanois, onde a velocidade de degradação aumentou consideravelmente com o aumento da temperatura para ambos os óleos; no entanto, o óleo refinado quimicamente apresentou maior degradação de tocoferóis. Estes resultados estão associados a uma menor concentração de γ - orizanol presentes no óleo de arroz refinado quimicamente, indicando uma possível ação protetora contra a degradação dos tocoferóis.

De acordo com Nystrom et al. (2006), alguns autores sugerem que a presença do ferulato de esterila possibilita reduzir a degradação dos tocoferóis a altas temperaturas. No entanto, assim como ocorreu com os tocoferóis, o γ - orizanol presente no óleo refinado fisicamente apresentou menor taxa de degradação em todas as temperaturas, quando comparado com a degradação no óleo refinado

quimicamente. Portanto, o óleo de arroz refinado fisicamente apresentou maior estabilidade em relação ao conteúdo de tocoferóis, bem como o conteúdo de γ - orizanóis, em todas as temperaturas avaliadas.

Comparando a composição dos dois óleos, observou-se que houve maior estabilidade dos tocoferóis e de γ - orizanóis em todas as temperaturas no óleo refinado fisicamente. Este óleo apresentou um menor conteúdo inicial de tocoferóis e maior conteúdo de γ - orizanóis que o óleo refinado quimicamente. Com isto observa-se que, a presença de γ - orizanóis em maiores concentrações no óleo está associado a maior estabilidade do óleo frente o aquecimento.

A proporção dos ácidos graxos insaturados/saturados no óleo de arroz refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos às temperaturas de 100 °C e 140 °C, embora apresentassem uma tendência de redução, praticamente não se alteraram em relação ao seu conteúdo inicial. No entanto, a 180 °C verificou-se nitidamente um aumento mais expressivo no conteúdo dos ácidos graxos saturados e uma redução dos ácidos graxos insaturados, tanto para o óleo refinado quimicamente, quanto para o óleo refinado fisicamente; porém, a maior variação ocorreu no óleo refinado quimicamente.

De acordo com Wang, Hicks e Moreau (2002), o óleo de arroz possui maior atividade antioxidante que outros óleos, e esta atividade aumenta marcadamente com a concentração de γ - orizanol. Coni, Podestá e Catone, (2004), também relatam que a atividade antioxidante do γ - orizanol é particularmente alta.

Os dados deste estudo sugerem que o maior conteúdo de γ - orizanóis exerceu influência no aumento da estabilidade, tanto de tocoferóis quanto de ácidos graxos presentes no óleo refinado fisicamente submetido ao aquecimento contínuo.

Conclusão

O aquecimento na temperatura de 180 °C exerceu maior influência na degradação dos óleos, os quais apresentaram um aumento significativo no conteúdo de acidez, índice de refração, valor de TBA e na viscosidade.

O óleo refinado fisicamente apresentou-se mais estável que óleo refinado quimicamente por apresentar menores valores de TBA, de viscosidade, de acidez e de índice de refração.

A 180 °C verificou-se nitidamente uma redução mais expressiva na relação dos ácidos graxos insaturados/saturados, tanto no óleo refinado quimicamente, quanto no óleo refinado fisicamente sendo que a maior variação ocorreu no óleo refinado quimicamente.

Em todas as temperaturas ocorreu uma degradação de tocoferóis, que aumentou consideravelmente com o aumento da temperatura de aquecimento em ambos os óleos; no entanto, o óleo refinado quimicamente apresentou maior degradação de tocoferóis em todas as temperaturas.

A taxa de degradação do γ - orizanol aumentou consideravelmente com o aumento da temperatura de aquecimento em ambos os óleos; no entanto, o óleo refinado quimicamente apresentou maior degradação de γ - orizanol em todas as temperaturas. Observou-se que a maior concentração de γ - orizanol exerceu maior influência no aumento da estabilidade dos óleos.

Referências

ABIDI, S.L. Tocol-Derived Minor Constituents in Selected Plant Seed Oils. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.80, n. 4, p. 327-333, 2003.

ABIDI, S.L.; RENNICK, K.A. Determination of Nonvolatile Components in Polar Fractions of Rice Bran Oils, **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 80, n.11, p. 1057-1062, 2003.

ANTONIASSI, R.; ESTEVES, W.; MEIRELLES, A.J.A. Pretreatment of corn oil for physical refining. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.75, n.10, p.1411-1415, 1998.

ANVISA. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais**. Anexo 3. resolução nº. 482, de 23 de setembro de 1999. On line. Disponível na internet: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/482_99.htm> acesso em: 3 de junho de 2007..

AOCS. American oil Chemists' Society. **Official and tentative methods of the American Oils Chemists Society**, Champaign, IL. 1992.

AOCS. American oil Chemists' Society. **Official and tentative methods of the American Oils Chemists Society**, Champaign, IL. 1993.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos- prática e teoria**. 3º edição. Editora Viçosa, UFV, 2004, 478 p.

AUSMAN, L.M.; RONG, N.; NICOLOSI, R.J. Hypocholesterolemic effect of physically refined rice bran oil: studies of cholesterol metabolism and early atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.16, p.521-529, 2005.

BALACHANDRAN, C; MAYAMOL, P.N. THOMAS, S.; SUKUMAR, D.; SUNDARESAN, A. An ecofriendly approach to process rice bran for high quality rice bran oil using supercritical carbon dioxide for nutraceutical applications. **Bioresource Technology**, v.99, p.290 -2912, 2008.

BENEDITO, J.; GARCIA-PÉREZ, J.V.; DOBARGANES, M.C.; MULET, A. Rapid evaluation of frying oil degradation using ultrasonic technology. **Food Research International**, v. 40, p. 406-414, 2007.

BERDEAUX, O.; MARQUEZ-RUIZ, G.; DOBARGANES, C. Selection of methylation procedures for quantitation of short-chain glycerol-bound compounds formed during thermoxidation. **Journal of Chromatography A**, v.863, p.171-181, 1999.

BESBES, S.; BLECKER, C.; DEROANNE, C.; LOGNAY, G.; N.-E. DRIRA, N.E.; ATTIA, H. Quality Characteristics and Oxidative Stability of Date Seed Oil During Storage. **Food Science Technology International**. v.10, n.5, p.333-338, 2005.

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

CHEN, M. H.; BERGMAN, C.J. A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and γ -oryzanol contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p.139-151, 2005.

CHOTIMARKORN, C. SILALAI, N. Addition of rice bran oil to soybean oil during frying increases the oxidative stability of the fried dough from rice flour during storage. **Food Research International**, v.16, p.1-10, 2008.

CONI, E.; PODESTÁ, E.; CATONE, T. Oxidizability of different vegetables oils evaluated by thermogravimetric analysis. **Thermochemica Acta**, v.418, p.11-15, 2004.

CUNHA, S.C.; AMARAL, J.S.; FERNANDES, J.O.; OLIVEIRA, M.B.P.P. Quantification of tocopherols and tocotrienols in portuguese olive oils using HPLC with three different detection systems, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p.3351-3356, 2006.

DE, B.K.; BHATTACHARYYA, D.K. Deacidification of high-acid rice bran oil by reesterification with monoglyceride. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 76, n.10, p.1243 -1246,1999.

DE, B.K.; BHATTACHARYYA, D.K. Physical refining of rice bran oil in relation to degumming and dewaxing. **Journal of American Oil Chemists' Society** , v.75, n.11, p. 1683-1686, 1998.

FAGUNDES, L. A. **Ômega-3 & Ômega-6: o equilíbrio dos ácidos gordurosos essenciais na prevenção de doenças**. Editora, AGE, Porto alegre, RS, 2002 , p. 111.

FARIA, E.A.; LELES, M.I.G.; IONASHIRO, M.; ZUPPA, T.O.; ANTONIOSI FILHO, N.R. Thermal stability of vegetal oils and fats by TG/DTG and DTA, **Eclética Química**. v. 27, p. 111-119, 2002.

FENNEMA, O.R. **Química de los Alimentos**. 2ª. ed. Zaragoza: Acríbia, p.1258, 2000, p.1258.

FLOHÉ, R. B. Bioactivity of vitamin E. **Nutrition Research reviews**, v.19, p.174-186, 2006.

GOPALA, A.G.K. KHATOON, S.; BABYLATHA, R. Frying performance of processed rice bran oils. **Journal of Food Lipids**. India, v.12, p.1-11, 2004.

HOED, V.V.; DEPAEMELAERE, G.; AYALA, J.V.; SANTIWATTANA, P.; VERHÉ, R.; GREYT, W. D. Influence of chemical refining on the major and minor components of rice bran oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.83, n.4, p. 315-321, 2006.

HA, T.Y.; HAN, S.; KIM, S.R.; KIM, I.H.; LEE, H.Y.; KIM, H.K. Bioactive components in rice bran oil improve lipid profiles in rats fed a high-cholesterol diet. **Nutrition Research**, v. 25, p. 597-606, 2005.

HOUHOULA, D.P.; OREOPOULOU, V.; TZIA, C. A kinetic study of oil deterioration during frying and a comparison with heating. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.79, n.2, p.133-137, 2002.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: **Método químico e físicos para análise de alimentos**. v.1, São Paulo: O Instituto, p.245-263, 1985

JORGE, N. JANIERI, C. Avaliação do óleo de soja submetido ao processo de fritura de alimentos diversos. **Ciência Agrotécnica**. Lavras, v.29, n. 5, p.1001 -1007, 2005.

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

KALUCKA, M.N.; KORCZAK, J.; ELMADFA, I.; WAGNER, K.H. Effect of α - and δ -tocopherol on the oxidative stability of a mixed hydrogenated fat under frying conditions. **European Food Research Technology**. v. 221, p.291-297, 2005.

KANAVOURAS, A.; CERT, A.; HERNANDEZ, R.J. Oxidation of Olive Oil under Still Air. **Food Sci Tech Int**; v.11, n.3, p.183-189, 2005.

KIM, H.J. LEE, O .H. MIM, D. B. Effects and prooxidant mechanisms of oxidized α -tocopherol on the oxidative stability of soybean oil. **Journal of Food Science**, v.72, n. 4, p. 223-230, 2007.

KIM, J.; GODBER, J.; KING, J.; PRIYAWIWATKUL, W. Inhibition of cholesterol autoxidation by the nonsaponifiable fraction in rice bran in an aqueous model system. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.78, n. 7, p. 685-689, 2001.

KRISHNA, A. G. G.; HEMAKUMAR, K. H.; KHATOON, S. Study on the composition of rice bran oil and its higher free fatty acids value. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 83, n. 2, p. 117-120, 2006.

KRISHNA, A.G.G.; PRASHANTH, P.A.; PRAGASAM, A.; RAGHAVENDRA, K.V.; MATOON, S. Unsapompiable matter and oxidative stability of commercially produced indian rice bran oils. **Food Lipids**, v.10, p. 329-340, 2003.

KRISHNA, A.G.G.; KHATOON, S.; SHIELA, P.M.; SARMANDAL, C.V.; INDIRA, T.N.; MISHARA, A. Effect of refining of crude rice bran oil on the retention of oryzanol in the refined oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.78, n.2, p. 127-131, 2001.

KO, S.N.; KIM, C.J.; KIM, C.T.; KIM, H.; CHUNG, S.H.; LEE, S.M.; YOON, H.H.; KIM, I.H. Changes of vitamin E content in rice bran with different heat treatment. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.105, n.5, p.225-228, 2003

LAMPI, A.M.; KAMAL-ELDIN, A. Effect of α - and γ -tocopherols on thermal polymerization of purified high-oleic sunflower triacylglycerols. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.75, n.12, p. 1699-1703, 1998.

LILITCHAN, S.; TANGPRAWAT, C.; ARYUSUK, K.; KRISNANGKURA, S.; CHOKMONH, S.; KRISNANGKURA, K. Partial extraction method for the rapid analysis of total lipids and γ -oryzanol contents in rice bran, **Food Chemistry**, v.106 p.752-759, 2008.

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

MARTINS, Patrícia Fazzio. **Estudos e experimentos para a concentração de tocoferóis e fitosteróis por meio da destilação molecular**. Campinas, SP, 2006, 224f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química,

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1998. 150p.

MORGHARBEL, A. D. I.; FREITAS, R. J. S. Influência do aquecimento nos meios de fritura sobre o grau de acidez e índice de iodo. **Brasil Alimentos**. Paraná, n. 20, p. 35-37, 2003.

MORRISSEY, P.A.; SHEEHY, J.A. Optimal nutrition: vitamin E. **Proceedings of the Nutrition society**, v.58, p.459-468, 1999.

NARAYAN, A.V. BARHATE, R.S.; RAGHAVARAO, K.S.M.S. Extraction and purification of oryzanol from rice bran oil and rice bran oil soapstock, **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.83, n.8, p. 663-670, 2006.

NISSIOTIS, M.; TASIOULA-MARGARI, M. Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. **Food chemistry**, v.77, p.371 - 376, 2002.

NYSTRÖM, L.; ACHRENIUS, T.; LAMPI, A.M.; MOREAU, R.A. PIIRONEN, V. A comparison of the antioxidant properties of steryl ferulates with tocopherol at high temperatures. **Food Chemistry**, v.46, n.2, p.1-8, 2006.

NYSTRÖM, L.; MARKINEN, M.; LAMPI, A.M.; PIIRONEN, V. Antioxidant activity of steryl ferulate extracts from rye and wheat bran. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53,n. 7, p.2503-2510, 2005.

NOLASCO, S.M.; AGUIRREZÁBALB, L.A.N.; CRAPISTEC, G.H. Tocopherol Oil Concentration in Field-Grown Sunflower Is Accounted for by Oil Weight per Seed. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.81, n.11, p. 1045-1051, 2004.

NORMAND, L. ESKINA. A.M.; PRZYBYLSKI, R. Comparison of the Frying Stability of Regular and High-Oleic Acid Sunflower Oils. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.83, n.4, p. 331-334, 2006.

OLIVEIRA, Janaína Tavares Goulart de Sá Belchior de. **Melhor dose e dose econômica de TBHQ nos óleos de milho e canola**, Piracicaba – SP. 92f. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo.

ORTHOEFER, F.T. Rice bran oil: healthy lipid source. **Food Technology**, n.50, p. 62-64, 1996.

PLAYER, M. E.; KIM, H. J.; LEE, H.O. MIN, D. B. Stability of α -, γ - or δ - tocopherol during soybean oil oxidation. **Journal of Food Science**, v.71, n.8, p. 456-460, 2006.

PESTANA, vanessa Ribeiro. **Avaliação da qualidade do óleo de arroz e do conteúdo de tocoferóis e orizanois durante o processo de refino**, Pelotas, RS. 74f. 2007. Dissertação (Mestrado em ciência e Tecnologia Agroindustrial), Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel.

PORTER, N.A.; CALDWELL, S.E.; MILLS, K.A. Mechanisms of free radical oxidation of insaturated lipids. **Lipids**, v.30, n.4, citado por Pestana, p. 17, 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.

REDA, Seme yousef. **Estudo comparativo de óleos vegetais submetidos a estresse térmico**, Ponta Grossa – Pr. 153f. 2004. Dissertação (Mestrado em Avaliação Tecnológica de Matérias-Primas), Universidade Estadual.

- RENNICK, K.A.; WARNER, K. Effect of elevated temperature on development of tocopherolquinones in oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.6, p. 2188-2192, 2006.
- RODRIGUES, C.E.C.; ONOYAMA, M.M.; MEIRELLES, A.J.A. Optimization of the rice bran oil deacidification process by liquid-liquid extraction. **Journal of food engineering**. Brazil, v.73, n.4, p. 370-378, 2005.
- ROGERS, E.J.; RICE, S.M.; NICOLOSI, R.J.; CARPENTER, D.R.; Mc CLELLAND, C. A.; ROMANCZYK, L.J. Identification and quantification of γ -oryzanol components and simultaneous assessment of tocopherols in rice bran oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v.70, n.3, p.301-307, 1993.
- ROMERO, N.; ROBERT, P.; MASSON, L. ORTIZ, J.; GONZALEZ, K.; TAPIA, K.; DOBARGANES, C. Effect of α -tocopherol, α -tocotrienol and Rosa mosqueta shell extract on the performance of antioxidant-stripped canola oil (*Brassica sp.*) at high temperature. **Food Chemistry**, v.104, p. 383-389, 2007.
- ROSLI, W.I.W.; BABJI, A. S.; AMINAH, A.; FOO, S.P.; MALIK, ABD. Vitamin E contents of processed meats blended with palm oils, **Journal of Food Lipids**, v.13, p. 186-198, 2006.
- ROSSI, M.; ALAMPRESE, C.; RATTI, S. Tocopherols and tocotrienols as free radical-scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying. **Food Chemistry**. Itália, v.102, p.812-817, 2006.
- RUIZ-LOPEZ, M.D.; ARTACHO, R.; FERNANDEZ PINEDA, M.A.; LOPEZ GARCIA DE LA SERRANA, H.; LOPEZ MARTINEZ, M.C. Stability of α -tocopherol in oil during microwave heating. **Technology**. v.28, p.644-646, 1995.
- SASKA, M. ROSSITER, G. Recovery of γ -oryzanol from rice bran oil with silica-based continuous chromatography. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 75, n. 10, p. 1421-1427, 1998.
- SEPPANEN, C.N.; CSALLANY, S. A. The Effect of Intermittent and Continuous Heating of Soybean Oil at Frying Temperature on the Formation of 4-Hydroxy-2-*trans*-nonenal and Other α -, β -Unsaturated Hydroxyaldehydes. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 83, n.2, p. 121-127, 2006.
- SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P.K.J.P.D.; WANASUNDARA, U.N. Changes in edible fats and oils during processing. **Journal of Food Lipids**, v. 4, p.199-231, 1997.
- SHIELA, P.M.; SREERAMA, Y.N.; GOPALA KRISHNA, A.G. Storage stability evaluations of some packaged vegetable oil blends. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 81, n.12, p. 1125-1129, 2004.

SIERRA, S.; VILLOSLADA, F. L.; OLIVARES, M.; JIMENEZ, J.; BOZA, J.; XAUS, J. Increased immune response in mice consuming rice bran oil. **European Journal of Nutrition**, v.44, n.8, p.509-516, 2005.

STATSOFT Inc. **Statistica for windows**. Versão 7.0. Tulsa, OK, 2004.

STEEL, C.J.; DOBARGANES, M.C.; BARRERA-ARELLANO, D. The influence of natural tocopherols during thermal oxidation of refined and partially hydrogenated soybean oils. **Grasas y Aceites**, v.56, n.1, p.46-52, 2005.

SULIEMAN, A.E-R.; E-MAKHZANGY, A.; RAMADAN, M.F. Antiradical performance and physicochemical characteristics of vegetable oils upon fryng of French fries: a preliminary comparative study. **Journal of Food Lipidis**, v.13, p.259-276, 2006.

TAN, C.P.; CHE MAN, Y. B. Diferential scanning calorimetric analysis for monitoring the oxidation of heated oils. **Food Chemistry** , v.67, p.177-184, 1999.

ULUSOY, B. Ö; KARABULUT, I.; TURAN, S. Performance of some edible oils during heating in a steam pressure cooker. **Journal of Food Lipids**, v.11, p. 234-241, 2004.

VIANNI, R.; BRAZ-FILHO, R. Ácidos graxos naturais: importância e ocorrência em alimentos. **Química Nova**. Rio de Janeiro. v.19, n. 4, p. 400-4007, 1996.

WANG, T.; HICKS, K. B.; MOREAU, R. Antioxidant activity of phytosterols, oryzanol, and other phytosterol conjugates. **Journal of American Oil Chemists' Society** , v.79, n.12, p. 1201-1206, 2002.

WARNER, K.; NEFF, W. E.; ELLER, F.J. Enhancing quality and oxidative stability of aged fried food with γ -tocopherol. **Journal Food Chemistry**, v.51, n. 3, p.623-627, 2003.

WILSON, T.A.; NICOLOSI, R. J.; WOOLFREY, B.; KRITCHEVSKY, D. Rice bran oil and oryzanol reduce plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations and aortic cholesterol éster accumulation to a greater extent than ferulic acid in hypercholesterolemic hamsters. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 3, n.18, p.105-112, 2007.

XU, Z. GODBER, J.S. Purification and identification of components of γ -orizanol in rice bran oil. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.47, p.2724-2728, 1999.

XU, Z.; HUA, N.; GODBER, J.S. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidatin accelerated by 2,2 - azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.49, p. 2077-2081, 2001.

- XU, Z.; GODBER, S. Antioxidant activities of major components of γ -oryzanol from rice bran using a linoleic acid model. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.78, n.6, p. 645-649, 2006.
- YOSHIDA, H.; TAKAGI, S.; LENAGA, H. TSUCHIYA, C. Regional Distribution of Tocopherols and Fatty Acids Within Soybean Seeds. **Journal of American Oil Chemists' Society**, n.7, v.75, p. 767-774, 1998.
- ZAMBIAZI, R.C.; PRZYBYLSKI, R. Effect of endogenous minor components on the oxidative stability of vegetable oils. **Lipid Technology**, v. 10, n.3, p.58-62, 1998.
- ZAMBIAZI, R.C.; PRZYBYLSKI, R.; ZAMBIAZI, M.W.; MENDONÇA, C.B. Fatty acid composition of vegetable oils and fats. **Boletim do CEPPA**, v.25, n.1, p.111-120, 2007.
- ZAMBIAZI, R.C.; ZAMBIAZI, M. Vegetable oil oxidation: effect of endogenous components. **Boletim Sociedade Brasileira de Ciencia e Tecnología Agroindustrial**, v.34, n.1, p.22-32, 2000.
- ZAMBIAZI, R.C. **Tecnologia de óleos e gorduras**. Universidade Federal de Pelotas, 2003, 122p.
- ZAMBIAZI, R.Z. **The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability**. Manitoba/Canadá, 1997. 304p. Tese (Doutorado em Fisiologia), Food and Nutritional Sciences Interdepartmental Program, University of Manitoba.

ANEXO

Tabela 7. Valores de acidez (% de ácido oléico) durante a exposição dos óleos ao aquecimento em diferentes temperaturas

Tempo (hr)	Temperatura de aquecimento					
	100 °C		140 °C		180 °C	
	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF
Zero	0,19 cdeB	1,10 cA	0,19 cB	1,10 cA	0,19 deB	1,10 dA
48	0,20 cdeB	1,12 cA	0,22 cB	1,45 bA	0,24 deB	1,41 cA
144	0,20 cdeD	1,54 eB	0,29 decD	1,76 aA	0,41 cdC	1,55 bB
240	0,17 cF	1,77 efC	0,29 deE	2,14 gA	0,69 cD	1,92 aB
336	0,19 ceB	1,95 dfC	0,29 eB	2,24 fgC	1,45 bA	2,25 eC
432	0,26 bdeB	1,77 efA	0,29 eB	2,36 efgC	2,26 aC	2,14 eC
576	0,26 bdeD	1,95 dfB	0,36 dC	2,47 efA	-	-
768	0,29 abdD	2,16 dB	0,50 bC	2,48 eA	-	-
1008	0,33 abD	3,01 bA	0,55 bC	2,37 efgB	-	-
1368	0,37 aB	3,33 aA	-	-	-	-

Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Valores seguidos de letras maiúscula iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de tukey ($P > 0,05$).

ORQ: óleo refinado quimicamente

ORF: óleo refinado fisicamente

Tabela 8. Índices de peróxidos ($\text{meq.gO}_2 \cdot \text{Kg}^{-1}$) dos óleos submetidos ao aquecimento em diferentes temperaturas

Tempo (hr)	Temperatura de aquecimento					
	100 °C		140 °C		180 °C	
	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF
Zero	2,07 dA	1,72 cA	2,07 cA	1,72 cA	2,07 cA	1,72 eB
48	7,24 cA	2,07 cC	2,07 cC	3,09 bB	2,07 cC	2,06 dC
144	11,35 bA	3,16 bB	3,10 bB	3,08 bB	3,09 bB	2,07 dC
240	12,41 eA	3,11 bC	3,10 bC	4,13 aB	4,23 aB	4,10 cB
336	13,45 fA	3,10 bD	4,10 aC	4,12 aC	4,11 aC	5,16 bB
432	13,41 fA	4,10 aC	4,10 aC	4,11 aC	4,12 aC	6,17 aB
576	13,44 fA	4,14 aB	4,14 aB	4,11 aB	-	-
768	15,40 aA	4,11 aB	4,13 aB	4,14 aB	-	-
1008	12,94 feA	4,12 aB	4,13 aB	4,11 aB	-	-
1368	12,42 eA	4,14 aB	-	-	-	-

Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Valores seguidos de letras maiúscula iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de tukey ($P > 0,05$).

ORQ: óleo refinado quimicamente

ORF: óleo refinado fisicamente

Tabela 9. Valores de ácido tiobarbitúrico (TBA) em mg.MDA.Kg⁻¹, dos óleos submetidos ao aquecimento

Tempo (h)	Temperatura de aquecimento					
	100 °C		140 °C		180 °C	
	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF
Zero	0.0179 aBC	0.0228 aA	0.0179 bC	0.0228 aA	0.0179 bBC	0.0228 bAB
240	0.0188 aBC	0.0188 aBC	0.0305 aA	0.0140 aC	0.0257 bAB	0.0273 aA
432	0.0244 aB	0.0200 aB	0.0315 aB	0.0217 aB	0.0508 aA	0.0288 aB
1008	0.0273 aA	0.0179 aA	0.0343 aA	0.0240 aA	-	-
1368	0.0271 aA	0.0205 aA	-	-	-	-

Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Valores seguidos de letras maiúscula iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de tukey ($P > 0,05$)

ORQ: óleo refinado quimicamente

ORF: óleo refinado fisicamente

Tabela 10. Índices de refração dos óleos submetidos ao aquecimento em diferentes temperaturas

Tempo (h)	Temperatura de aquecimento					
	100 °C		140 °C		180 °C	
	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF
Zero	1.468 aAB	1.471 aA	1.468 aAB	1.471 aA	1.468 cB	1.471 cA
48	1.469 aAB	1.471 aA	1.469 aAB	1.471 aA	1.468 cB	1.471 cA
144	1.469 aAB	1.471 aA	1.470 aA	1.471 aA	1.468 cB	1.472 bcA
240	1.469 aAB	1.471 aA	1.470 aAB	1.471 aA	1.468 cB	1.472 bcA
336	1.469 aC	1.471 aB	1.470 aBC	1.471 aB	1.472 bAB	1.474 abA
432	1.469 aB	1.471 aB	1.470 aB	1.471 aB	1.477 aA	1.476 aA
576	1.469 aA	1.472 aA	1.470 aA	1.471 aA	-	-
768	1.469 aA	1.472 aA	1.470 aA	1.471 aA	-	-
1008	1.469 aB	1.472 aA	1.471 abAB	1.472 aA	-	-
1368	1.470 aA	1.472 aA	-	-	-	-

Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Valores seguidos de letras maiúscula iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de tukey ($P > 0,05$)

ORQ: óleo refinado quimicamente

ORF: óleo refinado fisicamente

Tabela 11: Valores de viscosidade do óleo refinado quimicamente e do óleo refinado fisicamente, antes e após o aquecimento a 100 °C, 140 °C e 180 °C

Óleo de arroz	Temperatura de aquecimento			
	Viscosidade Inicial	100 °C	140 °C	180 °C
		Viscosidade final (m.Pa.s)		
		1.368h	1.008h	432h
Refinado quimicamente	94 aC	95 aC	122 bB	1370 bA
Refinado fisicamente	99 aC	97 aC	158 bB	417 bA

Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Valores seguidos de letras maiúscula iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de tukey ($P > 0,05$)

Tabela 12. Conteúdo de tocoferóis ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$), no óleo de arroz refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos a temperatura de 100 °C

Tempo (h)	α - tocoferol		γ - tocoferol		δ - tocoferol	
	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF
Zero	32,84 a	25,67 a	9,91 a	9,22 a	0,77 a	0,71 a
48	32,17b	25,15 b	8,84 b	8,54 b	0,77 a	0,63 b
144	31,51 c	25,01 c	8,59 c	7,09 c	0,73 b	0,63 b
240	26,88 d	23,93 d	8,13 d	6,85 d	0,69 c	0,53 c
336	25,77 e	23,83 e	8,10 d	6,71 e	0,69 c	0,52 cd
432	23,43 f	23,48 f	7,99 f	6,37 f	0,64 d	0,52 cd
576	18,43 g	20,49 g	6,82 g	5,60 g	0,61 de	0,49 d
768	14,46 h	20,45 g	6,07 h	5,51 h	0,60 e	0,48 d
1008	6,29 i	13,46 h	4,16 i	3,70 i	0,53 f	0,42 e
1368	0 j	9,32 i	2,00 j	2,38 j	0,51 f	0,28 f

Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

ORQ: óleo refinado quimicamente

ORF: óleo refinado fisicamente

Tabela 13. Conteúdo de tocoferóis (mg.100g⁻¹), no óleo de arroz refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente, submetidos a temperatura de 140°C

Tempo (h)	α - tocoferol		γ - tocoferol		δ - tocoferol	
	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF
Zero	32,84 a	25,67 a	9,91 a	9,22 a	0,77 a	0,71 a
48	31,19 b	24,27 b	9,88 b	7,66 b	0,75 a	0,70 b
144	28,58 c	23,05 c	9,45 c	6,25 c	0,73 b	0,59 b
240	25,05 d	21,15 d	7,93 d	5,01 d	0,61 c	0,53 c
336	22,46 e	20,95 e	6,69 d	4,57 e	0,54 c	0,48 cd
432	22,27 f	18,50 f	5,79 e	3,72 f	0,54 d	0,41 cd
576	18,98 g	17,12 g	4,59 f	2,81 g	0,49 de	0,37 e
768	10,19 h	11,26 g	2,87 g	1,97 h	0,44 e	0,26 e
1008	0 i	10,32 h	1,28 h	1,27 i	0,43 f	0,23 f

Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey (p > 0,05).

ORQ: óleo refinado quimicamente

ORF: óleo refinado fisicamente

Tabela 14. Conteúdo de tocoferóis (mg.100g⁻¹), no óleo de arroz refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente submetidos a temperatura de 180 °C

Tempo (h)	α - tocoferol		γ - tocoferol		δ - tocoferol	
	ORQ	ORF	ORQ	ORF	ORQ	ORF
Zero	32,84 a	25,67 a	9,91 a	9,22 a	0,77 a	0,71 a
48	21,75 b	18,77 b	5,68 b	4,34 b	0,74 a	0,59 b
144	3,27 c	15,55 c	1,76 c	2,28 c	0,66 b	0,44 b
240	0	7,56 d	0,39 d	1,17 d	0,28 c	0,28 c
336	0	2,52 e	0,20 de	0,68 e	0,08 cd	0,19 cd
432	0	0 f	0,14 e	0,15 f	0,03 d	0,03 d

Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey (p > 0,05).

ORQ: óleo refinado quimicamente

ORF: óleo refinado fisicamente

Tabela 15. Somatório total (mg.100g⁻¹), e perdas (%) de tocoferóis, durante o tempo de exposição do óleo de arroz refinado quimicamente ao aquecimento

Tempo (h)	Temperatura de aquecimento					
	100 °C		140 °C		180 °C	
	$\sum(\alpha,\gamma,\delta)$ tocoferóis	Perda (%)	$\sum(\alpha,\gamma,\delta)$ tocoferóis	Perda (%)	$\sum(\alpha,\gamma,\delta)$ tocoferóis	Perda (%)
Zero	43,52	-	43,52	-	43,52	-
48	42,61	2,09 i	41,82	3,90 h	28,17	35,27 e
144	40,83	6,18 h	38,76	10,94 g	5,69	86,93 d
240	35,70	17,97 g	33,59	22,82 f	0,67	98,46 c
336	34,45	20,84 f	29,69	31,78 e	0,28	99,36 b
432	32,17	26,08 e	28,60	34,28 d	0,17	99,61 a
576	25,85	40,60 d	24,06	44,72 c	-	-
768	21,14	51,42 c	13,50	68,98 b	-	-
1008	10,98	74,77 b	1,71	96,07 a	-	-
1368	2,51	94,23 a	-	-	-	-

Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey (P>0,05).

Tabela 16. Somatório total (mg.100g⁻¹), e perdas (%) de tocoferóis, durante o tempo de exposição do óleo de arroz refinado fisicamente ao aquecimento

Tempo (h)	Temperatura de aquecimento					
	100 °C		140 °C		180 °C	
	$\sum(\alpha,\gamma,\delta)$ tocoferóis	Perda (%)	$\sum(\alpha,\gamma,\delta)$ tocoferóis	Perda (%)	$\sum(\alpha,\gamma,\delta)$ tocoferóis	Perda (%)
Zero	35,60	-	35,60	-	35,60	-
48	35,34	0,73 i	32,63	8,34 h	23,70	33,43 e
144	32,39	9,02 h	29,89	16,04 g	18,27	48,68 d
240	31,65	11,10 g	26,69	25,03 f	9,01	74,69 c
336	31,06	12,75 f	26,00	26,97 e	3,39	90,48 b
432	30,37	14,69 e	22,63	36,43 d	0,18	99,49 a
576	26,58	25,34 d	20,30	42,98 c	-	-
768	26,44	25,73 c	13,49	62,11 b	-	-
1008	17,58	50,62 b	11,82	66,80 a	-	-
1368	11,98	66,35 a	-	-	-	-

Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey (P> 0,05).

Tabela 17. Conteúdo de γ - orizanol ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$), no óleo de arroz refinado quimicamente e no refinado fisicamente, submetidos ao aquecimento

Tempo (h)	Óleo refinado quimicamente			Óleo refinado fisicamente		
	100 °C	140 °C	180 °C	100 °C	140 °C	180 °C
Zero	33,55 a	33,55 a	33,55 a	732,60 a	732,60 a	732,60 a
48	32,47 b	33,00 b	33,06 b	726,93 b	709,70 b	591,99 b
144	31,94 c	30,40 c	25,54 c	709,91 c	678,23 c	453,58 c
240	31,68 d	25,60 d	13,03 d	693,67 d	613,05 d	308,73 d
336	31,57 e	24,81 e	4,10 e	687,55 e	581,49 e	190,63 e
432	31,38 f	23,51 f	0,99 f	685,27 f	552,57 f	65,09 f
576	29,37 g	21,99 g	-	673,09 g	448,42 g	-
768	29,14 h	15,18 h	-	669,59 h	421,82 h	-
1008	25,81 i	13,93 i	-	635,38 i	340,06 i	-
1368	15,61 j	-	-	453,40 j	-	-

Valores seguidos por letras minúscula iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).