**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Bioacessibilidade *in vitro* de tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais

Flávia Regina Paggiaro Tintori

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
e Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2018**

Flávia Regina Paggiaro Tintori
Nutricionista

Bioacessibilidade *in vitro* de tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais

Orientadora:
Profa. Dra. **SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI BRAZACA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2018

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Tintori, Flávia Regina Paggiaro

Bioacessibilidade *in vitro* de tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais /
Flávia Regina Paggiaro Tintori. - - Piracicaba, 2018.

88 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz".

1. Caco-2 2. Vitamina E 3. Fritura 4. Ácidos graxos poli-insaturados I. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Vladimir e Sandra pelo amor e dedicação.

À minha querida avó Maria José pelo amor, incentivo, paciência e carinho.

Ao meu amor João Augusto pelo apoio, parceria, paciência, amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu melhor amigo e conselheiro, Deus. Agradeço a Ele por sua bondade em me proporcionar essa experiência tão rica e desafiadora na minha formação acadêmica. Obrigada pela fé nos momentos difíceis, pelos sonhos que me movem e obrigada pelos anjos que estão nomeados abaixo.

À minha família pela compreensão nos momentos de ausência. Obrigada pai e mãe, por vocês acreditarem em mim, por se esforçarem e dedicarem tanto amor e cuidado para que absolutamente nada me faltasse; vocês são muito especiais. Agradeço em especial a minha avó por acreditar em mim, me incentivar nos estudos, me mimar, e compreender meus momentos de intenso estresse.

Ao meu grande amor João Augusto, por todo cuidado e zelo comigo. Obrigada por ser meu incentivo, ombro amigo e me compreender em cada etapa desse trabalho. Ter você ao meu lado, foi essencial! Estar com você nessa vida é fundamental! Você é meu equilíbrio e parceiro de absolutamente todas as horas! Muito obrigada por tudo!

Aos docentes da Escola Superior Agricultura “Luiz de Queiroz” e do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN) pelos preciosos ensinamentos, conselhos e aprendizado que contribuíram na minha formação acadêmica e pessoal.

À minha querida e estimada orientadora, Profa. Dra. Solange Guidollin Canniatti Brazaca, obrigada por ter me acolhido de forma tão humana e atenciosa no programa da pós-graduação. Desde o contato inicial sempre cordial, educada e muito paciente. Minha eterna gratidão pela oportunidade e por ser essa profissional que é.

À Profa. Dra. Ana Paula Badan Ribeiro por seu acolhimento, paciência, carinho e profissionalismo. Obrigada por me proporcionar interação com a equipe do Laboratório de Óleos da FEA/Unicamp. Agradeço toda a estrutura, atenção e cordialidade que fui recebida.

Aos alunos do doutorado Larissa Bueno, Paulo Roberto Berni e Adriano Costa de Camargo, pelas orientações iniciais e dicas preciosas no laboratório com as análises e experimentos.

Agradeço toda a equipe da planta piloto do laboratório de Óleos da FEA/Unicamp. Muito obrigada pelo auxílio nas análises, em especial a Rosana Nogueira por sua paciência, Marcela Stahl, Ana Paula (Cordinha) e Carol.

Às estagiárias Gabriela e Giovana pelas ajudas nos testes iniciais, e em especial ao José Eduardo durante a etapa de experimentos *in vitro* no Laboratório de Cultivo Celular. Muita gratidão pela sua paciência, apoio e contribuição nesse trabalho.

Agradeço também ao amigo Érick Saldaña, aluno do doutorado, pelo auxílio no delineamento experimental e nas análises estatísticas. Obrigada pela imensa paciência, amizade e risadas.

Às amigas que fiz nesse período e que foram tão especiais e essenciais nessa etapa. Em especial agradeço: Talita Negri, Izabella Soletti, Jéssica Aranha e Anna Paula Silva. Quantas risadas, enrascadas, angústias e diversão tivemos meninas... Eu tenho muita gratidão pela vida de vocês !!!

Às alunas que estiveram comigo no Laboratório de Cultivo Celular: Larissa Torres, Alexys Boim e Talita Negri. Meninas, obrigada por cada momento que desfrutamos juntas! Desde a limpeza do laboratório até as boas risadas e torcida quando as células CACO cresciam para nossos experimentos. Agradeço porque conseguimos trabalhar em equipe para que todas pudessem concluir seus trabalhos com sucesso, superando cada desafio que aparecia.

Aos técnicos de laboratório do LAN, em especial a Regina, Rose e Dona Amábile que sempre se mostraram solícitas quando precisei.

Aos secretários do LAN e da pós-graduação pela atenção e prontidão em me orientar e ajudar com as burocracias e papeladas.

Agradeço a Cargill e Agropalma pela doação das amostras utilizadas neste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço em especial à amiga e Profa. Dra. Denise Ap. Gonçalves de Oliveira, obrigada por me dar a oportunidade e abrir as portas da Universidade Paulista, *campus* Limeira. Agradeço pelo incentivo e pelos conselhos; por acreditar em mim. Muito Obrigada!

E por fim agradeço aos meus alunos, que me movem e me inspiram sempre a estudar e fazer o melhor.

Muito obrigada!

EPÍGRAFE

*“Sem a curiosidade que me move, que me inquieta,
que me insere na busca, não aprendo nem ensino.”*
Paulo Freire

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. ÓLEOS VEGETAIS	15
2.1.1 ÓLEO DE CANOLA	21
2.1.2 ÓLEO DE MILHO	22
2.1.3 ÓLEO DE GIRASSOL	23
2.1.4 ÓLEO DE PALMA	24
2.2. O PROCESSO DE FRITURA	25
2.3. VITAMINA E: TOCOFERÓIS E TOCOTRIENÓIS	28
2.4. BIOACESSIBILIDADE E BIODISPONIBILIDADE DE VITAMINA E	34
3. MATERIAIS E MÉTODOS	41
3.1. MATERIAIS	41
3.1.1 PREPARO DAS AMOSTRAS	41
3.2. MÉTODOS ANALÍTICOS	41
3.2.1 UMIDADE	41
3.2.2 ÁCIDOS GRAXOS LIVRES	42
3.2.3 ÍNDICE DE PERÓXIDOS	42
3.2.4 ESTABILIDADE OXIDATIVA	43
3.2.5 COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS	43
3.2.6 QUANTIFICAÇÃO DOS TOCÓIS	44
3.2.7 BIOACESSIBILIDADE	44
3.2.7.1 CULTIVO DAS CÉLULAS	45
3.2.7.2 DIGESTÃO <i>IN VITRO</i>	45
3.2.7.3 ABSORÇÃO DA VITAMINA E PELAS CÉLULAS CACO-2	46
3.2.8 DELINEAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1. UMIDADE DA BATATA	47
4.2. CARACTERIZAÇÃO DOS ÓLEOS VEGETAIS	47
4.3. QUANTIFICAÇÃO DOS TOCOFERÓIS E TOCOTRIENÓIS	53
4.4. BIOACESSIBILIDADE DA VITAMINA E	56
5. CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS.....	67
APÊNDICES	81

RESUMO

Bioacessibilidade *in vitro* de tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais

Os óleos vegetais constituem-se uma das fontes mais acessíveis da vitamina E pela população, sendo que o Brasil ocupa posição de destaque na América Latina como produtor e consumidor de óleos vegetais. Atualmente, dentre os óleos de maior consumo estão soja, palma, canola e girassol. As isoformas de vitamina E compreendem uma classe de oito compostos distintos denominados tocoferóis e tocotrienóis, sendo o α -tocoferol a isoforma de maior notoriedade, por sua conhecida ação antioxidante em sistemas biológicos e também como antioxidante natural na indústria de alimentos. A eficiência nutricional de um composto pode estar relacionada com a bioacessibilidade. Bioacessibilidade é a fração do nutriente que é liberada da matriz alimentar para a região gastrointestinal e está passível de absorção, podendo ser afetada por diversos fatores relacionados à própria matriz alimentar. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi inicialmente quantificar as isoformas de vitamina E em quatro óleos refinados (girassol, canola, palma e milho) e avaliar a bioacessibilidade da vitamina E nesses óleos antes e após tratamento térmico. O tratamento térmico utilizado foi a fritura contínua em batatas (1 h a 180°C). Foi realizada a caracterização físico-química dos óleos vegetais refinados, antes e após o processo de fritura e verificado parâmetros de qualidade dos óleos. Para isso foram realizadas as análises de umidade da batata, teor de ácidos graxos livres, índice de peróxidos, composição em ácidos graxos e estabilidade oxidativa. A quantificação das isoformas de vitamina E foi realizada por CLAE acoplada ao detector de fluorescência, e para a determinação da bioacessibilidade da vitamina E, foi utilizado um modelo *in vitro* com cultivo de células Caco-2. O óleo de palma apresentou bioacessibilidade superior aos demais óleos estudados, seguido do óleo de milho, canola e girassol. A fritura contínua por 1 hora reduziu significativamente os teores totais de tocoferóis e tocotrienóis, e influenciou positivamente sobre a vitamina E na fração bioacessível.

Palavras-chave: Caco-2; Vitamina E; Fritura; Ácidos graxos poli-insaturados

ABSTRACT

Bioaccessibility in vitro of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils

The vegetable oils are one of the most accessible sources of vitamin E by the population, and Brazil occupies the leading position in Latin America as a producer and consumer of vegetable oils. Currently, soybean, palm, canola and sunflower oils are among the most consumed oils. The vitamin E isomers comprise the class of eight distinct components called tocopherols and tocotrienols, with α -tocopherol being the most notorious isomer, due to its known antioxidant action in biological systems and also as a natural antioxidant in the food industry. The nutritional efficiency of compounds may be related to bioaccessibility. Bioaccessibility is the fraction of the nutrient that is released from the food matrix into the gastrointestinal region and is possible to absorb, which can be affected by several factors related to the food matrix. Thus the objective of this study was to quantify vitamin E isomers in four refined oils (sunflower, canola, palm and corn) and to evaluate its bioaccessibility in these oils before and after heat treatment. The heat treatment used was the continuous frying of potatoes (1 h at 180 ° C). The physico-chemical characterization of refined vegetable oils before and after the frying process was carried out, and the quality parameters of the oils were verified. For this, the potato moisture and the content of free fatty acids, peroxide index, fatty acid profile of the oils were carried out. Quantification of vitamin E isomers was performed by HPLC coupled to a fluorescence detector, and an in vitro model of Caco-2 cell culture was used to determine the bioaccessibility of vitamin E. Palm oil had higher bioaccessibility than corn, canola and sunflower oil. Continuous frying for 1 hour significantly reduced the total contents of tocopherols and tocotrienols, and positively influenced by the vitamin E in the bioaccessible fraction.

Keywords: Caco-2; Vitamin E; Frying; Polyunsaturated fatty acids

1. INTRODUÇÃO

Uma das formas de fazer a ingestão diária da vitamina E consiste no consumo de óleos vegetais refinados. A oferta global de óleos e gorduras tem crescido nos últimos anos e acompanhado a demanda, sendo a produção de óleos vegetais alta na América Latina; tornando o Brasil um dos países de força como produtor e exportador de óleos vegetais (AMARAL, 2017).

As oleaginosas com maior teor de óleo aumentaram a produção nos anos de 2016 e 2017, sendo dentre elas a soja, além da canola, girassol e palma. A alimentação determina a maior parte da demanda por óleos vegetais, sendo o óleo de soja o de maior exportação. Do ponto de vista de mercado, o cenário da produção e comercialização de óleos vegetais os torna alimentos e matéria prima de fácil acesso e baixo custo pela população (AMARAL, 2017).

Os óleos vegetais são alimentos energéticos do ponto de vista nutricional, e fornecedores de nutrientes essenciais como os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAS), além de vitamina E (O'BRIEN, 2004).

Cada óleo vegetal terá naturalmente uma composição em ácidos graxos variada, no qual irá determinar suas características físico-químicas e classificação, sendo que essa diferença na composição e no grau de insaturação da cadeia alifática do ácido graxo pode alterar qualidades físico-químicas e sensoriais dos óleos, além de favorecer ou diminuir as alterações ocasionadas pelo processo, armazenamento e preparo desses produtos. Óleos e gorduras podem ser considerados muitas vezes uma matriz alimentar complexa do ponto de vista analítico (VIANNI; BRAZ-FILHO, 1996; FREIRE; MANCINI-FILHO; FERREIRA, 2013).

Os óleos vegetais podem ser destinados em preparações diversas, com vasta aplicabilidade na indústria de alimentos, além de ser destacado como um alimento básico e bastante empregado no contexto doméstico, podendo ser utilizado a frio; em saladas, e também em processos de cocção e fritura (REDA; CARNEIRO, 2007).

Os alimentos submetidos à fritura são mundialmente aceitos tanto pela rapidez e praticidade em seu preparo quanto por suas características sensoriais marcantes como aroma, textura e sabor (GHIDURUS et al., 2010). Além dessas características sensoriais a fritura promove alterações oxidativas e mudanças químicas no óleo tais como diminuição das insaturações da cadeia do ácido graxo,

aumento do teor de ácidos graxos livres, aumento de substâncias polares e poliméricas (ABRÃO et al., 2004; CHOE; MIN, 2007)

Os óleos vegetais são boas fontes de vitamina E, assim como: avelãs, amêndoas, óleo de gérmen de trigo; além de vegetais folhosos verdes, gema de ovo e leite. Os óleos tornam-se alimentos mais acessíveis e de vasta aplicabilidade conforme exposto anteriormente. Portanto constitui uma das formas de assegurar a ingestão adequada desse nutriente. Para a população adulta, a recomendação de ingestão diária de vitamina E consiste em 15 mg/dia, conforme preconizado pelas *Dietary reference intakes* (Dris) 2002 (GUINAZI et al., 2009; INSTITUT OF MEDICINE, 2000).

A vitamina E é um termo utilizado para caracterização de oito compostos divididos em duas famílias: os tocoferóis e os tocotrienóis. Dentre as funções conhecidas da vitamina E, a de maior notoriedade é sua ação antioxidante (TRABER, 2007). Estudos vêm apontando a vitamina E como a vitamina do século XXI, tendo em vista que sua função extrapola a ação antioxidante (AGGARWAL et al., 2010). Ao considerar a função de um nutriente, mediante sua ação fisiológica, devemos ter cautela e assumir que sua absorção depende de uma série de variáveis da própria matriz alimentar e também do indivíduo (CARDOSO et al., 2015).

Para avaliar quanto realmente o organismo utilizou de um determinado nutriente é utilizado a terminologia biodisponibilidade. Na maioria das vezes esse termo não possui relação com a quantidade do nutriente ingerido e sim com o quanto do nutriente foi de fato utilizado para desempenhar sua função fisiológica em tecidos alvos. Portanto a biodisponibilidade trata a eficiência nutricional do nutriente envolvendo a digestão gastrointestinal, absorção, metabolismo, distribuição nos tecidos e bioatividade. Já a bioacessibilidade é definida como a fração de nutriente que é liberado de sua matriz alimentar para a região gastrointestinal e está passível de ser absorvida, envolvendo o sistema de metabolismo pré-sistêmico (intestinal e hepático). Assim, a bioacessibilidade de um nutriente é dependente da estabilidade do processo digestivo, da sua liberação da matriz alimentar, da eficiência no transporte transepitelial e de diversos fatores fisiológicos (FERNÁNDEZ-GARCÍA; CARVAJAL-LÉRIDA; PÉREZ-GÁLVEZ, 2009; CARBONELL-CAPELLA et al., 2014).

Observa-se que dentre os métodos para avaliação de bioacessibilidade, o modelo *in vitro* utilizando o cultivo de células Caco-2 tem apresentado destaque por possibilitar a avaliação das diferentes vias de adsorção (paracelular e transcelular),

além de exibir características funcionais e morfológicas semelhantes aos enterócitos (LE FERREC, 2001).

Alguns estudos são encontrados sobre a biodisponibilidade e bioacessibilidade de vitamina E, sobretudo da isoforma α -tocoferol; envolvendo diversas matrizes alimentares como brócolis, leite, batata e refeições combinando diferentes alimentos (REBOUL et al., 2006; KENNY; O'CALLAGHAN; O'BRIEN, 2008; GRANADO-LORENCIO et al., 2009; HERRERO-BARBUDO et al., 2009; FAILLA et al., 2014; CHITCHUMROONCHOKCHA et al; 2017). Até o momento, não se tem conhecimento sobre o estudo da bioacessibilidade de vitamina E em óleos vegetais como delineado no presente estudo.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi quantificar as isoformas de vitamina E em quatro óleos refinados (girassol, canola, palma e milho) e avaliar a bioacessibilidade das isoformas nesses óleos antes e após tratamento térmico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Óleos vegetais

Os óleos vegetais compõem a rotina alimentar da população, possuindo grande representatividade na cadeia do agronegócio mundial e brasileiro. Cerca de 161.879 mil toneladas de óleos vegetais a nível mundial foram destinadas para a alimentação no ano de 2014 seguido de 30.410 mil toneladas para a produção de biodiesel. Os principais óleos de movimentação mundial nos anos de 2016 e 2017 foram soja e palma, embora canola e girassol venham ganhando destaque no mercado interno segundo dados de produção nos anos de 2016 e 2017 (Figura 1). No Brasil a maior produção ainda se concentra no óleo de soja, seguido por palma e algodão (AMARAL, 2017). Além do consumo alimentício, a busca por técnicas renováveis e o investimento em biodiesel contribuem muito para o crescimento e produção dos diversos óleos vegetais pelo mundo.

Na Pesquisa de Orçamento Familiar (POF, 2008-2009), foi possível verificar o consumo per capita (Kg) de óleos vegetais por faixa de renda mensal, o que permite concluir que o óleo de soja possui o maior consumo per capita em função da renda salarial, sendo possível observar o aumento substancial no consumo de óleo de canola, girassol e oliva conforme ocorre o aumento salarial.

Figura 1. Produção mundial de óleos vegetais (milhões/tonelada) por ano. Fonte: AMARAL (2017).

Souza et al.; (2013) reuniram dados a respeito dos alimentos mais consumidos pela população no Brasil, e pode-se observar uma frequência de consumo de aproximadamente 40% nos óleos e gorduras comparado a outros

alimentos bastante consumidos por homens e mulheres como arroz (84%), café (79%) e feijão (72,8%).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) de acordo com Instrução Normativa Federal n. 49, de 22 de Dezembro de 2006, entende-se por óleo vegetal comestível:

produto alimentício constituído principalmente por triglicerídeos de ácidos graxos, obtidos unicamente de matéria-prima vegetal, refinado mediante o emprego de processos tecnológicos adequados. Poderão conter pequenas quantidades de outros lipídios, tais como fosfolipídeos, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres, naturalmente presentes no óleo vegetal.

Um óleo vegetal é composto majoritariamente de triacilglicerol (composto glicerídeo), seguido de componentes menores ou compostos não glicerídeos, conhecido como fração ou material insaponificável. Encontramos nessa fração fosfatídeos, hidrocarbonetos insolúveis, esteróis, tocoferóis, pigmentos carotenoides, clorofila entre outros (O'BRIEN, 2006; REDA, CARNEIRO, 2007) Os óleos vegetais brutos possuem menos de 5% desses compostos sendo que dependendo do tipo de matéria-prima e do método de extração, esses compostos podem diferir significativamente de um óleo para outro. (FIB, 2014).

Segundo Shahidi (2005), o processo de refino se faz necessário aos óleos vegetais, pois componentes como ácidos graxos livres, fosfatídios, metais, pesticidas e micotoxinas implicam em prejuízo para o consumo e estabilidade dos óleos. A instabilidade acarreta características não desejáveis como redução do ponto de fumaça, escurecimento, formação de espumas e redução da vida útil da matéria prima. O processo de refino envolve basicamente três etapas: neutralização, clarificação e desodorização.

Em relação à solubilidade, os óleos vegetais classificam-se como hidrofóbicos, sendo necessário para sua absorção a formação de micelas ou lipoproteínas com núcleos hidrofóbicos, sendo as mais conhecidas LDL colesterol, HDL colesterol, VLDL colesterol e quilomícron sintetizadas pelo fígado (O'BRIEN, 2004). Do ponto de vista físico químico, possuem boa solubilidade em solventes orgânicos (hexano, isopropanol, éter, acetona e outros), sendo esses reagentes de vasta aplicabilidade para as análises físico-químicas.

Os lipídeos possuem inúmeras funções, como manutenção da temperatura corporal (funcionam como material isolante), proteção de órgãos contra lesões e promoção da saciedade. Na tecnologia de alimentos conferem características de leveza, maciez e lubrificação aos produtos alimentícios (LEMARCHAL, 1996).

A diferença entre o termo óleo e gordura consiste em sua forma de apresentação, ou seja, o ponto de fusão irá influenciar em como será a consistência do produto em temperatura ambiente. Óleos apresentam-se na forma líquida, devido o ponto de fusão ser menor comparado ao elevado ponto de fusão das gorduras (O'BRIEN, 2004; GUNSTONE, 2005).

Do ponto de vista nutricional, os óleos são alimentos energéticos e contribuem com 9 kcal/g, sendo superior aos nutrientes carboidratos e proteínas que oferecem cerca de 4 kcal/g. Porantanto constituem uma importante reserva de energia para o corpo, na forma de triglicerídeos. Além disso, os óleos vegetais possuem quantidades importantes de nutrientes essenciais como vitaminas lipossolúveis (dentre elas a vitamina E) e os ácidos graxos essenciais linoleico e linolênico (REGITANO D'ARCE, 2006)

Os ácidos graxos são os principais responsáveis pelas características físico-químicas do óleo ou gordura, pois ocupam grande espaço na molécula de triacilglicerol (glicerol esterificado a três ácidos graxos) Isso decorre principalmente em consequência do tamanho da cadeia do ácido graxo, o número e posição de insaturações e a posição do ácido graxo na molécula de glicerol (O'BRIEN, 2004). Sua composição varia de óleo para óleo, devido a muitos fatores como a matriz alimentar, condições de plantio e clima, entre outros.

A nomenclatura oficial dos ácidos graxos obedece as regras da *International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)* e foi determinada de igual forma pelo tamanho da cadeia carbônica, linearidade ou presença de duplas ligações e a posição das duplas ligações (LEMARCHAL, 1996). Estes compostos apresentam também nomes usuais sendo reunidos nas Tabelas 1 e 2 os principais ácidos graxos saturados e insaturados naturais encontrados em óleos e gorduras, respectivamente.

Tabela 1. Nomenclatura dos principais ácidos graxos saturados dos alimentos

Número de átomos de carbono na cadeia	Nomenclatura IUPAC	Nomenclatura usual
4:0	Butanóico	Butírico
6:0	Hexanóico	Capróico
8:0	Octanóico	Caprílico
10:0	Decanóico	Cáprico
12:0	Dodecanóico	Láurico
14:0	Tetradecanóico	Mirístico
16:0	Hexadecanóico	Palmítico
18:0	Octadecanóico	Estearico
17:0	Heptadecanóico	Margárico
20:0	Eicosanóico	Araquídico
22:0	Doicosanóico	Behênico
24:0	Tetraicosanóico	Lignocérico

Fonte: VIANNI, BRAZ-FILHO (1996); SOUZA, MATSUSHITA, VISENTAINER (1998)

Tabela 2. Nomenclatura dos principais ácidos graxos insaturados dos alimentos

Número de átomos de carbono na cadeia	Nomenclatura IUPAC	Nomenclatura usual
16:1 n-7 cis	9-hexadecenóico	Palmitoleico
16:1 n-7 trans	trans 9-hexadecenóico	Palmitoelaídico
18:1 n-9 cis	9-octadecenóico	Oleico
18:1 n-9 trans	trans 9-octadecenóico	Elaídico
18:2 n-6 cis	9,12 octadecadienóico	Linoleico
18:3 n-3 cis	9,12, 15 octadecatrienóico	Linolênico
20:4 n-6 cis	5,8,11,14 eicosatetraenóico	Araquidônico
22:1 n-9 cis	13-doicosenóico	Erúcico

Fonte: VIANNI, BRAZ-FILHO (1996); SOUZA, MATSUSHITA, VISENTAINER (1998)

Pelo tamanho da cadeia do ácido graxo eles podem ser denominados ácidos graxos de cadeia curta (C4, C8), ácidos graxos de cadeia média (C10, C14) e ácidos graxos de cadeia longa (C16, C20), sendo esses últimos os mais encontrados em óleos vegetais, como soja, palma, milho, canola, oliva e outros. Em relação à

linearidade da cadeia têm-se os ácidos graxos saturados, dos quais se destaca o láurico (C12:0) encontrado no óleo de coco, o esteárico (C18:0) na manteiga de cacau, o mirístico (C14:0) em gordura do coco e leite e o palmítico (C16:0) no óleo de palma. Com a presença de uma ou duas duplas ligações na cadeia os ácidos graxos insaturados, são classificados em ácidos graxos monoinsaturados (MUFAS) e poli-insaturados (PUFAS). Quanto mais insaturações o ácido graxo apresentar, mais reativo e instável ele será, apresentando maior susceptibilidade ao ataque de agentes oxidantes e reduzida estabilidade oxidativa (GUNSTONE, 2005).

Dos ácidos graxos monoinsaturados mais importantes destaca-se o oleico (C18:1) e o erúico (C22:1), e dos poli-insaturados os ácidos graxos essenciais linoleico (C18:2) e linolênico (C18:3). A posição da última dupla ligação dos ácidos graxos insaturados recebe a letra n ou a letra grega ω (ômega) seguida de um número que indica a distância da última dupla ligação até o grupo metil terminal do ácido graxo. Assim, o ácido linoleico representado por C18:2n6 ou C18:2 ω 6, indica que a última dupla ligação dista de 6 carbonos até o grupo metil terminal, sendo de igual forma para os conhecidos ácidos oleico (C18:1 ω 9) e linolênico (C18:3 ω 3), conforme mostra a Figura 2 (O'BRIEN,2004).

Figura 2. Estrutura química dos ácidos graxos linolênico e linoleico. (Fonte: PERINI et al, 2010).

Dentro do contexto nutricional, o ácido linolênico recebe maior notoriedade, sendo de maior destaque em relação ao ácido linoleico por diversos efeitos benéficos reportados na literatura.; como: aumento na fração HDL do colesterol e redução na fração LDL colesterol (fatores determinantes na prevenção de doenças

cardíacas como aterosclerose), além de ação anti-inflamatória (KHOSLA E SUNDAM, 1996; SIMOPOULOS, 2002; LANGLOIS et al; 2016).

Os óleos vegetais podem ser classificados de várias maneiras, sendo uma delas pela composição em ácidos graxos. Nos óleos vegetais, três ácidos graxos são dominantes: palmítico, oleico, linoleico; acompanhados em alguns casos de ácido esteárico e ácido linolênico. Os outros, que ocorrem em óleos especiais, incluem o mirístico, láurico e erúico (SOUZA, MATSUSHITA, VISENTAINER, 1998; GUNSTONE, 2005).

Dentro do grupo de óleos dos ácidos Oleico/Linoleico estão o óleo de amendoim (38% oleico e 41% de linoleico), cártamo (14% e 75%), gergelim (38% e 45%) e girassol (20% e 69%). A soma destes dois ácidos é geralmente de 80-90% nos óleos vegetais pertencentes a este grupo, indicando que outros ácidos graxos estão em menor concentração. O grupo do ácido linolênico engloba o óleo de linhaça com teores altíssimos desse ácido graxo (50 a 60%), além do óleo de canola e soja em menores quantidades. O ácido linolênico apresenta certa desvantagem do ponto de vista de estabilidade, sendo mais susceptível à oxidação e alterações em sua qualidade (GUNSTONE, 2005).

Para a caracterização e determinação da qualidade de óleos vegetais, são utilizados diversos ensaios analíticos além do índice de acidez, e índice de peróxidos, dos quais podemos citar: índice de iodo, composição em ácidos graxos, avaliação de compostos polares, estabilidade oxidativa entre outros (SANIBAL, MANCINI-FILHO, 2002).

A instrução normativa nº 49, de 22 de dezembro de 2006 em seu anexo I define as características de qualidade e identidade dos óleos vegetais refinados para o Brasil (Figura 3).

	Óleo de Algodão		Óleo de Canola		Óleo de Girassol		Óleo de Milho		Óleo de Palma	
	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 1	Tipo 2
Índice de acidez (mgKOH/g)	até 0,20	> 0,20 até 0,60	até 0,20	> 0,20 até 0,60	até 0,20	> 0,20 até 0,60	até 0,20	> 0,20 até 0,60	até 0,20	> 0,20 até 0,60
Ponto de Fumaça (°C)	*	*	*	*	*	*	*	*	210	190
Índice de Peróxidos (mEq/Kg)	até 2,5	> 2,5 até 5,0	até 2,5	> 2,5 até 5,0	até 2,5	> 2,5 até 5,0	até 2,5	> 2,5 até 5,0	até 2,5	> 2,5 até 5,0
Impurezas insolúveis em éter de petróleo (%)	0,05									
Umidade e material volátil	0,1									
Sabões (mg/kg)	10,0									
Aspecto a 25°C	Límpido e isento de impurezas.									
Odor e sabor	Odor e sabor característicos do produto.									
Cor	Cor característica do produto.									

Figura 3. Características de qualidade de óleos vegetais refinados.

Fonte: BRASIL, Instrução Normativa Federal nº 49, de 22 de Dezembro de 2006.

2.1.1 Óleo de canola

O óleo de canola é obtido de uma planta denominada colza. A nível mundial foi um dos principais óleos vegetais produzidos na safra de 2013 representando 15% do total de óleos produzidos no mundo, o qual embora possua certa instabilidade no mercado produtor, vem ganhando espaço no cenário do agronegócio brasileiro. Na América do Sul, a expansão do seu cultivo ocorreu impulsionado pelo aumento da demanda de lubrificantes ocorrida na Segunda Guerra Mundial. A colza foi introduzida no Chile, em 1953, e no Brasil os primeiros registros datam 1974 (MORI, TOM, FERREIRA, 2014). O Rio Grande do Sul é o estado brasileiro que possui maior produção da colza por hectare, sendo fundada em 2010 a ABRASCANOLA (Associação Brasileira dos Produtores de Canola), na cidade de Passo Fundo.

Em sua composição contém o ácido graxo erúico (C22:1) usado para a fabricação de agentes tensioativos, lubrificantes de alta temperatura, materiais plásticos, vernizes e detergentes. Pesquisas conduzidas na década de 70 relataram

esse ácido graxo como impróprio ao consumo, devido à lesões cardíacas encontradas em modelo animal após o seu uso (CARLSSON et al., 2007). Dessa forma, houve uma busca no desenvolvimento de cultivares com reduzido teor desse ácido graxo, denominados LEAR, do inglês (*low-erucic acid rapeseed*).

Assim, cultivares com baixos níveis de ácido erúico e de glicosinolatos foram desenvolvidas e destinadas ao consumo humano e animal, recebendo o nome de “canola”, sigla em inglês de *canadian oil low acid*, sendo que no Brasil se empregam unicamente híbridos de *Brassica napus* L. var. oleífera, que atendem ao padrão de baixo teor de ácido erúico para consumo humano (< 2%). (BRASIL, 2006). O óleo de canola possui em sua composição também, clorofila e compostos sulfurosos; que são removidos durante refino como critério de aceitabilidade do produto (O'BRIEN, 2004; SHAHIDI, 2005).

Do ponto de vista nutricional pode ser considerado um óleo superior aos demais (soja, palma e milho) por conter baixo teor de ácidos graxos saturados (cerca de 7 %) e alto teor de ácidos graxos monoinsaturados (61%), com destaque para o ácido graxo oleico (C18:1), e um nível intermediário de poli-insaturados, incluindo o linolênico (C18:3), possuindo características similares ao óleo de oliva. Quando aquecido o óleo de canola produz alto teor de compostos polares, sendo mais suscetível a oxidação, não se enquadrando como um dos melhores óleos para fritura (ESKIN et al; 1989; TAKEOKA, 1997; OSAWA, GONÇALVES, MENDES, 2010).

2.1.2 Óleo de milho

O milho (*Zea mays* L.,) é um dos três cereais de maior produção no mundo, sendo EUA, China, Brasil, Argentina e México os países que mais o produzem. O óleo de milho está concentrado majoritariamente no gérmen, sendo necessária sua separação para a extração do óleo. A quantidade de óleo obtido do gérmen de milho é estritamente dependente da quantidade de milho processada pelas indústrias. A produção de seu óleo é menor se comparada aos demais grãos, como a soja (AMARAL, 2017; FIB, 2014).

O óleo de milho é classificado dentro do grupo de óleos com altos níveis de ácido linoleico (C18:2) - cerca de 60%, além de oleico (C18:0), sendo considerado boa fonte de ácidos graxos essenciais. É grande o interesse da indústria em criar modificações genéticas que possam influenciar sobre a distribuição dos ácidos

graxos de seu óleo, com o objetivo de melhorar sua funcionalidade (aplicação em frituras) e propriedades nutricionais (O'BRIEN, 2004).

É considerado um óleo de alta estabilidade apesar de conter elevada quantidade de ácidos graxos poli-insaturados, sendo essa característica atribuída a distribuição não casual dos ácidos graxos nas moléculas dos triglicerídeos, no qual 98% dos ácidos graxos estereificados na posição 2 do triglicerídeo são insaturados, enquanto que as posições 1 e 3 são ocupadas por todos os saturados e insaturados remanescentes. Uma vez que as posições extremas do triglicerídeo são as mais reativas, os ácidos graxos poli insaturados presentes na composição 2 estão mais protegidos de reações adversas, como por exemplo, a oxidação. Essa teoria foi confirmada através da comparação entre óleo de milho natural e óleo de milho interesterificado, sendo que com uma composição aleatória de ácidos graxos, o interesterificado oxidou de 3 a 4 vezes mais rápido que o natural (O'BRIEN, 2004).

Outra característica que faz o óleo de milho ser considerado mais estável é seu alto nível de vitamina E (cerca de 70 mg/100 g) com as isoformas de tocoferóis (predominantemente o γ -tocoferol (20 a 25%) e também tocotrienóis, além do ácido ferrulico. Dessa forma, o óleo de milho parece ser melhor empregado nos processos de fritura se comparado ao canola e soja (PAES, 2006).

2.1.3 Óleo de girassol

Segundo relatos na literatura, o cultivo de girassol (*Helianthus annuus L.*) teve origem com índios norte americanos (O'BRIEN, 2004). Aqui no Brasil, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), os estados do Mato Grosso, Goiás e Rio Grande do Sul são os maiores produtores de girassol no país (CONAB, 2017).

O óleo de girassol surge no mercado brasileiro como mais uma opção de óleo alimentício, sendo a quarta cultura anual com maior produção de óleo do mundo, respondendo por cerca de 16 % da produção de óleos vegetais nos anos de 2015/2016, possuindo forte crescimento de mercado assim como o óleo de canola. Uma das grandes motivações em sua produção gira em torno também da produção de biodiesel (AMARAL, 2017).

Do ponto de vista nutricional é considerado um óleo de elevada qualidade nutricional devido sua relação de ácidos graxos poli-insaturados/saturados, em média 65/11 %, sendo o ácido linoleico (C18:2) majoritário no óleo de girassol. Para

a indústria de alimentos, o interesse maior vem sendo no óleo de girassol com alto teor de oleico (desenvolvido por cientistas russos), por possuir além dos benefícios à saúde melhor estabilidade oxidativa; sendo destinado a produtos como bolachas, cereais matinais e fritura (O'BRIEN, 2004).

2.1.4 Óleo de palma

O óleo de palma é obtido da *Elaeis guineensis*, uma palmeira originária da Costa Ocidental da África, sendo um dos óleos de maior impacto no mercado mundial, principalmente devido sua produtividade ser superior ao seu principal concorrente, a soja. Seus principais produtores são a Malásia e a Indonésia. (O'BRIEN, 2004). Do fruto da palma é possível obter dois óleos bem distintos: óleo de palma e óleo de palmiste, ambos com vasta aplicabilidade na indústria de alimentos e óleo-química (EDEN, 2002).

Diferentemente dos demais óleos abordados até o momento, do ponto de vista de perfil lipídico o óleo de palma possui altos teores de ácidos graxos saturados (sendo majoritário o ácido palmítico (C16:0) com cerca de 44%) e insaturados, com aproximadamente 39% de ácido graxo oleico (C18:1). Possui ainda fração rica de vitamina E, especialmente dos isômeros de tocotrienóis (majoritário o γ -tocotrienol), além de pigmentos carotenoides (EDEN, 2002; O'BRIEN, 2004). A proporção de ácido oleico e linoleico confere boa estabilidade térmica ao óleo (BORA et al.; 2003).

Apesar de ser rico em ácidos graxos saturados, o óleo de palma não é responsável por elevar os níveis plasmáticos de colesterol total, comparado a outras fontes de lipídeos com ácidos graxos saturados como láurico, esteárico, mirístico (ácidos graxos presentes em alimentos de origem animal) ou ainda ácidos graxos trans. Os tocotrienóis presentes no óleo de palma foram capazes de suprimir a síntese de colesterol no fígado de camundongos, inibindo a síntese da HMG – CoA Redutase, sendo uma das hipóteses para sua ação sobre redução do perfil colesterolêmico (EDEN, 2002; SILVA et al; 2005).

2.2. O processo de Fritura

A fritura consiste de um processo simultâneo de transferência de calor ao alimento, sendo que nesse processo parte do óleo utilizado para a transferência de calor é absorvido pelo alimento tornando-o parte da dieta. Esse processo leva tanto a perdas nutricionais como ganhos, pois algumas vitaminas e minerais ficam retidos em alimentos submetidos ao processo de fritura (FIILION, HENRY, 1998)

Devido à sua rapidez e características sensoriais atrativas, a fritura é um dos métodos de cocção mais utilizados no mundo, sendo que o processo por imersão pode ser do tipo contínuo ou descontínuo. A fritura contínua é normalmente empregada pelo mercado industrial (alimentos extrusados, massas fritas ou pré fritas) com reposição contínua de óleo a medida que vai sendo consumido durante o processo, e a descontínua é principalmente utilizada nas redes de *fast-food*, restaurantes e pastelarias (FREIRE, MANCINI-FILHO, FERREIRA; 2013)

O processo de fritura ocasiona uma variedade de reações químicas que podem ser categorizadas como hidrólise, oxidação e polimerização (Figura 4). A água proveniente do alimento a ser frito, conduz a alterações hidrolíticas na fritura, enquanto o oxigênio que entra em contato com o óleo a partir de sua superfície (exposição ao ar) desencadeia alterações oxidativas. A temperatura em que o processo ocorre, resulta em alterações térmicas que se enquadram também em alterações oxidativas no triacilglicerol (TAKEOKA, FULL, DAO, 1997; SANIBAL, MANCINI-FILHO, 2004; CHOE, MIN, 2007)

Figura 4. Alterações físico-químicas no processo de fritura. Fonte: Solution 3M, [s/d].

A formação desses compostos de degradação irá modificar também características sensoriais, funcionais e nutricionais, tanto dos óleos como dos alimentos a ele submetidos. De acordo com Ghidurus et al; (2010), os compostos aromáticos encontrados nos alimentos fritos são produtos voláteis à oxidação do ácido linoleico. Os produtos da oxidação do ácido oleico contribuem menos para o sabor no processo de fritura.

É importante destacar que a formação dos produtos de decomposição do óleo submetido à fritura irá variar de acordo com o alimento frito, o tipo de óleo utilizado, a escolha da fritadeira, o binômio tempo e temperatura, a reposição do nível do óleo, a presença de antioxidantes além da qualidade do óleo (CORSINI e JORGE, 2006; OSAWA, GONÇALVES e MENDES, 2010). Quanto maior a relação superfície/volume, maior a degradação do óleo de fritura (MALACRIDA, JORGE, 2006; DEL RÉ, 2003).

De acordo com as recomendações de boas práticas de fabricação quanto ao uso dos óleos em fritura, considera-se ótima a temperatura de fritura em torno de 180°C (BRASIL, 2004), embora geralmente as temperaturas empregadas em processos de fritura variem em torno de 162 a 196°C (SANIBAL, MANCINI-FILHO,

2004). Em nosso país o monitoramento de descarte dos óleos utilizados após frituras não existe, embora exista o Informe Técnico nº 11 de 5 de outubro de 2004, que consiste de recomendações e boas práticas de fabricação quanto ao uso dos óleos em fritura.

Do ponto de vista nutricional a fritura irá carrear os ácidos graxos trans, que são formados predominantemente por óleos vegetais poli-insaturados submetidos a fritura em temperaturas que variam de 150°C a 250°C, sendo significativamente maior sua formação em temperaturas acima dos 250°C, que é considerada uma faixa de temperatura abusiva para frituras (JORGE, LUNARDI, 2004; SANIBAL, MANCINI-FILHO, 2004; AUED-PIMENTAL, 2009).

Segundo Machado, Garcia, Abrantes; (2008), os óleos de palma e de soja após fritura descontínua, apresentam maiores perdas e graus de alteração nos ácidos graxos insaturados corroborando com a determinação quantitativa de dímeros e polímeros gerados na fritura desses óleos.

Os estudos salientam a importância na redução da ingestão dos ácidos graxos trans, sobretudo por aumentarem a concentração plasmática do LDL colesterol, de maneira similar aos ácidos graxos saturados, diminuindo a concentração do HDL colesterol, possuindo direta associação com as doenças cardiovasculares, inflamatórias e de estresse oxidativo (SILVA et al, 2005; AHMED et al; 2018).

Nutrientes antioxidantes, como vitaminas podem ser bastante sensíveis ao processo de fritura. Segundo Saguy e Dana (2003), podem ocorrer menores perdas de vitaminas sensíveis ao calor no processo de fritura, dependendo da temperatura interna atingida pelo alimento frito e da composição de ácidos graxos do óleo.

Em relação à vitamina E, alguns estudos mostraram resistência para os homólogos de tocoferol durante a simulação de fritura doméstica com óleo de oliva e óleo de girassol, durante oito operações sucessivas de fritura. Porém isso pode ser variável de processo para processo, uma vez que o controle das variáveis da fritura é muito difícil (GHIDURUS et al; 2010; OSAWA, GONÇALVES, MENDES, 2010).

No estudo de Juaréz et al.; (2011), para cada tipo de óleo utilizado na fritura descontínua (soja, girassol e gordura parcialmente hidrolisada), as perdas de tocoferóis foram significativas variando de 16,6% a 76,0%, sendo observado redução menor de α -tocoferol no óleo com menor teor de ácidos graxos poli-insaturados.

2.3 Vitamina E: Tocoferóis e Tocotrienóis

Em meados de 1990, Frederick Gowland Hopkins (1861-1947) concluíram em suas pesquisas que o corpo humano demandava de determinadas quantidades de substâncias específicas para sobrevivência. Mais tarde essas substâncias foram compreendidas como nutrientes essenciais (compostos que não são produzidos pelo organismo e necessitam ser ingeridos a partir da dieta) como as vitaminas (LEMARCHAL, 1996).

A importância da vitamina E foi observada pela primeira vez em 1922 por Herbert McLean Evans e Katharine J. Scott Bishop, e em 1925 reconhecida como vitamina E, devido sua descoberta ter sido subsequente a descoberta das vitaminas A, B, C e D (LEMARCHAL, 1996; BIANCHINI-PONTUSCHKA, PENTEADO, 2003).

Vitamina E é um termo utilizado para englobar oito compostos que se dividem em duas famílias: os tocoferóis e os tocotrienóis. Cada família possui quatro isômeros, a saber: α (alfa), β (beta), γ (gama) e δ (delta) tocoferol e α (alfa), β (beta), γ (gama) e δ (delta) tocotrienol (O'BRIEN, 2004). Quimicamente devem conter um núcleo cromanol, com um grupo hidroxil no carbono 6, e um grupo metil no carbono 2; bem como uma cadeia lateral com 16 carbonos. A diferença entre os tocoferóis e tocotrienóis quanto à estrutura química, é dada justamente nessa cadeia lateral, sendo a cadeia dos tocoferóis saturada e a dos tocotrienóis insaturada, estando as insaturações nas posições 3', 7' e 11' (Figura 5) (O'BRIEN, 2004).

Figura 5. Estrutura química e isômeros da vitamina E. (CARVALHO, 2011)

Dentre as oito isoformas ocorrentes de tocoferol, o α -tocopherol na conformação RRR- α -tocopherol (forma natural) é o que apresenta maior atividade biológica, o que não significa necessariamente maior atividade antioxidante (TRABER, 2007).

Na forma sintética a vitamina E (dl- α -tocopherol) consiste de uma mistura de oito estereoisômeros encontrados comumente na forma de acetato de α -tocopherol, devido ao formato éster ser mais estável. Porém em termos de atividade biológica o suplemento de vitamina E, é inferior ao natural, devido à metabolização que ocorre no fígado. A proteína transferidora de alfa-tocopherol (α -TPP) reconhece apenas a conformação (RRR d- α -tocopherol), ou seja, apenas a forma natural, sendo que tanto a forma sintética como os demais isômeros de vitamina E (β , γ e δ - tocopherol e α , β , γ e δ - tocotrienol) são excretados na forma de metabólitos (TRABER, 2007; BORTOLI, BANDEIRA, COZZOLINO, 2016). Segundo Clemente (2013) a atividade da isoforma de α -tocopherol sintética é 50% menor comparada à da vitamina E na forma natural no colostro de mulheres no pós-parto, após suplementação.

Herreo-Barbudo et al.; (2008), avaliaram através de digestão *in vitro* a bioacessibilidade de vitamina E em leite fortificado, e concluíram que não houve a hidrólise do acetato de α -tocopherol no processo da digestão, sugerindo sua ineficiência como suplementação nesse contexto. Outro estudo conduzido por Dimenstein et al; (2011) avaliaram que a suplementação de vitamina E (49,4 mg de dl- α -tocopherol) não aumentou a concentração de α -tocopherol no colostro de mães que amamentavam, sugerindo ser o estágio pré gestacional o momento a se adequar os teores vitamínicos de α -tocopherol, sendo que a suplementação não foi capaz de alterar os níveis plasmáticos da vitamina. Dessa forma, é possível verificar que embora todas as isoformas possuam o mesmo processo de absorção intestinal, ocorrerá diferenciação em sua metabolização tanto do aspecto de isômeros como do aspecto que relaciona a vitamina ser de origem natural ou sintética.

Do ponto de vista dos aspectos fisiológicos da vitamina E, sua absorção pode ser descrita semelhantemente ao metabolismo das gorduras e estão interligados. A porção encarregada para que esse processo ocorra é o intestino delgado juntamente com adequada função biliar e pancreática (condições básicas para a formação de micelas) (KAYDEN, TRABER, 1993; BORTOLI e COZZOLINO, 2009).

As micelas são muito importantes nesse processo, pois nelas ocorrerá a solubilização da vitamina E, e essa poderá ser transportada através da membrana

apical para os enterócitos por difusão passiva; finalmente alcançando o fígado através do quilomícrons remanescentes (ANWAR, KAYDEN, HUSSAIN, 2006; RIGOTTI, 2007).

No fígado, a α -TTP incorpora somente o α -tocoferol nas lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLs). Estudos que investigam a efetividade da suplementação ou avaliam adequação nutricional da vitamina E, monitoram as lipoproteínas (LDL, VLDL, HDL) como uma forma de verificar o teor de vitamina E. Mulheres costumam apresentar quantidade maior de α -tocoferol ligado na lipoproteína HDL (cerca de 56%), enquanto os homens na lipoproteína LDL (59%). Essa é a razão pela qual a forma " α " é predominante no sangue e nos tecidos, e torna-se base para análises biológicas de vitamina E (KAYDEN, TRABER, 1993)

Alguns estudos mostram uma via alternativa de transporte para a vitamina E, independente das lipoproteínas, o que pode ser especialmente relevante para aqueles indivíduos que possuem problemas genéticos na expressão de lipoproteínas ou ainda nos hepatopatas (ANWAR, KAYDEN, HUSSAIN, 2006)

Outras formas de vitamina E podem ser encontradas, na forma de seus metabólitos, que são excretados na bile e na urina como *carboxietilhidroxicromanas* (CEHCs). Menos de 1 % da vitamina ingerida ou seus metabólitos são encontrados na urina, sendo as fezes a principal via de excreção. As CEHCs são utilizadas como indicadores do excesso da ingestão de vitamina E, e as α -tocoferonolactonas (metabólitos da vitamina E) poderiam ser biomarcadores para determinação do estresse oxidativo (JOHNSON et al., 2012).

Do ponto de vista de função fisiológica, a literatura reporta como principal função da vitamina E, sua capacidade antioxidante, tanto em sistemas biológicos *in vivo* quanto *in vitro*, tornando-se especialmente importante para manter a integridade das membranas celulares (BURTON, TRABER, 1990; YAMAUCHI, 1997; BATISTA, COSTA e SANT'ANA, 2007), contra a ação de espécies reativas ou radicais livres.

Os radicais livres são moléculas que contêm número ímpar de elétrons tanto no átomo de oxigênio, como no de nitrogênio (denominadas espécies reativas de oxigênio ou espécies reativas de nitrogênio), sendo altamente reativas. São convencionalmente representados por " $\bullet$ " que indica um elétron desemparelhado (BARREIROS, DAVID, 2006).

Dentre os principais intermediários reativos formados por espécies reativas de oxigênio estão o radical superóxido ($O_2\bullet$), peroxila ($RO_2\bullet$) e hidroxila ($HO\bullet$). O

processo oxidativo promove reações oxidativas em cadeia compostas pela fase de iniciação, propagação e terminação. Em excesso esse processo gera prejuízos a saúde como envelhecimento, mutações genéticas, câncer, aterosclerose e outros. Já na indústria de alimentos, as reações oxidativas implicam em alterações físico-químicas e sensoriais indesejáveis que interferem na qualidade do produto (RAMALHO; JORGE, 2006).

Um dos ataques do radical hidroxila ($\text{HO}\cdot$) mais conhecidos é a peroxidação dos lipídeos da membrana celular, sendo os mais suscetíveis os ácidos graxo poli-insaturado devido à sua estrutura química. A Figura 6 mostra um exemplo da reação em cadeia de um lipídeo (L), sendo iniciada a partir do sequestro do íon hidrogênio pelo radical hidroxila ou alcóxila ($\text{LO}\cdot$), gerando um radical lipídico ($\text{L}\cdot$). Esse radical formado reage prontamente com o oxigênio formando o radical peróxila ($\text{LOO}\cdot$), sendo que o processo termina quando os radicais destroem-se entre si (FERREIRA, MATSUBARA, 1997).

Esse processo não é necessariamente prejudicial, uma vez que seus produtos são importantes na reação em cascata a partir do ácido araquidônico (formação de prostaglandinas) e, portanto, na resposta inflamatória. Porém, o excesso desses produtos irá acumular danos ao organismo, acarretando no chamado estresse oxidativo (BURTON, TRABER, 1990; FERREIRA, MATSUBARA, 1997).

Figura 6. Peroxidação lipídica representada pelas etapas de iniciação, propagação e terminação
Fonte: (FERREIRA, MATSUBARA, 1997)

Para isso existe o sistema antioxidante, que consiste em um grupo de moléculas capazes de catalizar a eliminação dos radicais livres, interrompendo o processo oxidativo em cadeia. A vitamina E atuará doando íons H^+ ao radical peróxila, interrompendo a etapa de propagação (BURTON, TRABER, 1990; FERREIRA, MATSUBARA, 1997; YAMAUCHI, 1997).

Cada molécula de tocoferol é capaz de reagir com duas moléculas de peroxila, formando o radical tocoferoxil ($\alpha\text{-TO}\cdot$) e α -tocoferilquinona, sendo então o tocoferol oxidado. É possível que o radical tocoferoxil seja regenerado em tocoferol pelo ácido ascórbico (vitamina C) ou pela glutatona reduzida (GSH), mostrando a inter-relação vitamínica de fase hídrica e lipídica. Isso é especialmente necessário tendo em vista que o radical tocoferoxil não é suficientemente estável sendo incapaz de continuar a reação em cadeia. Ele então é removido do ciclo pela reação com outro radical peroxil formando produtos inativos conforme Figura 7.

Figura 7. Vitamina E na inibição do processo de peroxidação lipídica. Fonte: BURTON, TRABER, (1990).

Observações do efeito cinético em α -tocoferol com a hidroxila fenólica marcada com deutério confirmam que a reatividade da molécula de vitamina E reside na porção fenólica de sua estrutura, sendo rapidamente competitivos na captura de radicais peroxila, protegendo eficientemente as membranas lipídicas (BARREIROS, DAVID, 2006).

A interação da bicamada lipídica da membrana celular com o anel cromanol da molécula de tocoferol ou tocotrienol, determina a ação contra a peroxidação lipídica, de forma que, a ação do α -tocotrienol é maior que a do α -tocoferol, bem como a atividade antioxidante das demais isoformas de tocotrienóis é maior que os respectivos isômeros de tocoferóis (BURTON, TRABER, 1990; SUARNA et al; 1993; KAMAT, DEVASAGAYAM, 1995;)

Devido à sua eficiência como antioxidante, vários estudos reportam a atuação tanto tocoferóis como tocotrienóis em mecanismos de processos inflamatórios inibindo a produção de citocinas pró inflamatórias e mecanismos de transcrição e tradução gênica (AGGARWAL et al; 2011; GUTIERRES et al., 2012), além de prevenção e tratamento de câncer, (HUSAIN et al; 2011) como em doenças neurodegenerativas (SEN; KHANNA; ROY, 2004; PARK et al., 2011). Especialmente os isômeros de tocotrienóis vem recebendo maior notoriedade em estudos mais recentes (AGGARWAL et al; 2011).

A recomendação atual para a ingestão de vitamina E é baseada apenas na forma de α tocoferol (seja alimento, alimento fortificado ou suplemento) que consiste na ingestão diária de 15 mg de α -tocoferol para homem ou mulher e para adolescentes acima de 14 anos e para nutrizes 19 mg/dia (IOM, 2000).

Em relação a sua solubilidade, por ser uma vitamina lipossolúvel, possui boa solubilidade em solventes orgânicos (etanol, hexano acetona, éter) e o emprego de técnicas que usam fluorescência para sua detecção é muito comum, devido o anel cromanol de sua estrutura química (DA PAIXÃO, STAMFORD, 2004).

Muitas técnicas vêm sendo empregadas para análise e quantificação de vitamina E em diversas matrizes orgânicas, e geralmente estas técnicas envolvem a extração dos tocoferóis e tocotrienóis com concomitante remoção de interferentes (processo de saponificação) para posterior determinação, isso para matérias primas mais complexas como cereais, grãos e ovos. Proteger a amostra do contato com o oxigênio utilizando-se de fluxo de nitrogênio e uso de antioxidantes, como BHT, pirogalol e outros, são alguns dos cuidados a serem tomados durante a análise de vitamina E (DA PAIXÃO, STAMFORD, 2004; KIENEN, 2007).

Na maioria dos estudos, a técnica cromatográfica tem sido a de maior uso para determinação de vitamina E em alimentos, estando essa técnica associada ou não com outras técnicas como a espectrofotometria ou colorimetria (reações de óxido- redução) (GONÇALVES-RIOS, PENTEADO, 2003; GUINAZI et al., 2009; PINHEIRO-SANT'ANA et al; 2011).

O método para determinação de tocoferóis e tocotrienóis em óleos e gorduras é descrito pela *American Oil Chemist's Society* (AOCS) 2006 baseando-se na técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A vantagem do emprego de técnicas como a cromatografia consiste no fato de ser um método altamente seletivo, rápido, que apresenta boa sensibilidade e que pode ser utilizado para uma variedade de compostos (versatilidade). Como desvantagem, possui alto custo e faz uso de solventes (necessariamente devido ao uso de fase móvel e estacionária). Cuidados com a utilização de solventes puros e livres de contaminação devem ser pontos importantes a serem considerados para as análises (DA PAIXÃO, STAMFORD, 2004; IAL, 2008).

Diferentemente de outras técnicas analíticas descritas na literatura como a colorimetria, potenciometria e espectrofotometria, a CLAE (através de diversas combinações entre fase móvel e estacionária) permite a identificação, separação e

purificação dos compostos em estudo, sendo indispensável para análise de vitaminas especialmente aquelas com diversas isoformas como a vitamina E e a A, por exemplo. Para os cálculos do teor de vitamina E e seus isômeros, são utilizadas as curvas padrão, mediante tempo de retenção e a área dos picos gerados no equipamento (SILVA, 2003; DA PAIXÃO, STAMFORD, 2004), sendo expressos normalmente em mg/100g. A vitamina E pode apresentar-se como uma molécula instável na presença de luz, oxigênio e altas temperaturas. Longos tempos de armazenamento em óleos podem interferir na quantidade de vitamina E e seus isômeros.

Óleos de girassol armazenados após 3 meses a temperatura ambiente apresentaram perda de 55 % nos teores de tocoferóis (BIANCHINI-PONTUSCHKA, PENTEADO, 2003; DA PAIXÃO, STAMFORD, 2004). Em pães sem glúten adicionados de cereais fontes de vitamina E, foram observadas perdas vitamínicas que variaram entre 7 a 30% após panificação (220 a 225 °C por 20 min), sendo o mesmo observado em gemas de ovo cozidas (ALVAREZ-JUBETE et al.,2009; GUINAZI et al.,2009).

Durante o processo de refino de óleos vegetais, especialmente na etapa de desodorização (temperaturas que chegam a 270°C) pode ocorrer perda de 40 a 50% no teor de tocoferóis. Perdas significativas do isômero α -tocoferol foi detectada em óleo de babaçu após refino. (LUZ, 2011). Bueno-Borges et al.; (2017) avaliaram os teores de tocoferóis em óleos de soja submetidos à diferentes processos (degomagem ou refinamento com álcali ou refinamento, branqueamento e desodorização (RBD)); e concluíram que o RDB apresentou menor teor de tocoferóis totais (647 mg/Kg) devido as etapas extras de branqueamento e desodorização. Já o óleo que foi submetido apenas ao processo de degomagem apresentou teores de 980 mg/Kg para tocoferóis totais.

Vale ressaltar que esses fatores citados são influenciadores na quantidade de vitamina disponível na matriz alimentícia, levando muitas vezes a determinação de teores errados de vitamina E.

2.4 Bioacessibilidade e Biodisponibilidade da vitamina E

O termo biodisponibilidade de nutriente tem relação com a quantidade ingerida de determinado nutriente e o que de fato será utilizado pelo organismo para

que este cumpra sua função fisiológica designada, ou seja, sua eficiência nutricional. Termos como biopotência, bioconversão, bioeficiência e bioacessibilidade estão interligados dentro desse contexto, tornando os estudos de biodisponibilidade bastante complexos (FERNÁNDEZ-GARCÍA, CARVAJAL-LÉRIDA e PÉREZ-GÁLVEZ, 2009).

A bioacessibilidade é definida como a fração de um nutriente que é liberada de sua matriz alimentar para a região gastrointestinal e está passível de ser absorvida, envolvendo o sistema de metabolismo pré-sistêmico (intestinal e hepático) (FERNÁNDEZ-GARCÍA, CARVAJAL-LÉRIDA e PÉREZ-GÁLVEZ, 2009).

Tanto a biodisponibilidade como a bioacessibilidade podem ser afetadas por diversos fatores inter-relacionados com outros nutrientes, com a matriz alimentar e processamento, além de condição fisiológica e estado nutricional prévio do indivíduo; bem como seu estilo de vida, de forma que é esperado que o conteúdo bioacessível de um nutriente seja menor do que aquele encontrado na matriz alimentar (MOURÃO et al. 2005; CARDOSO et al., 2015).

A partir desses conceitos, tornam-se de extrema contribuição os estudos que discorrem sobre os efeitos de biodisponibilidade e bioacessibilidade de nutrientes, pois entendemos que não necessariamente um alimento considerado fonte de nutriente irá garantir seus efeitos e funções pré-estabelecidos (CARBONELL-CAPELA et al., 2014).

As metodologias empregadas nesses estudos variam de acordo com o objetivo, e podem ser divididas em estudos *in vitro* e estudos *in vivo*. Os estudos *in vivo* procuram compreender os mecanismos fisiológicos e fenômenos biológicos de nutrientes considerando a individualidade dos seres vivos, sendo os mais conhecidos: estudos de balanço, relação dose-efeito e o uso de isótopos. Possuem como principais limitações o alto custo, tempo maior de execução de trabalho por envolver questões éticas, além da falta de padrões analíticos certificados (MOURÃO et al. 2005; CILLA et al; 2016).

Os estudos *in vitro*, geralmente são utilizados para investigar os efeitos e interação dos nutrientes com questões que envolvem a composição da matriz alimentar e processamento. Esses estudos possuem menor custo e podem ser automatizados, permitindo tempo menor de trabalho, e a compreensão nas diferentes etapas do processo digestivo, embora sejam modelos estáticos, ou seja, não refletem em sua totalidade as mudanças contínuas que ocorrem nas condições

fisiológicas naturais (FERNÁNDEZ GARCÍA; CARVAJAL-LÉRIDA; PÉREZ-GÁLVEZ, 2009; CARDOSO et al., 2015).

Dentro desse contexto os modelos *in vitro* que utilizam a cultura de célula Caco-2 (adenocarcinoma de cólon humano) se apresentam como uma metodologia bastante interessante, pois possibilitam a avaliação das diferentes vias de adsorção (paracelular e transcelular), por exibir características funcionais e morfológicas semelhantes aos enterócitos, reproduzindo as etapas de absorção e metabolismo parcial de nutrientes como a vitamina E, o que lhe confere maior vantagem sobre outras metodologias *in vitro* (O'CALLAGHAN e O'BRIEN, 2010; CILLA, 2016).

As células Caco-2 foram utilizadas inicialmente em estudos que avaliavam a absorção de fármacos, sendo posteriormente aplicado para avaliação de vários nutrientes em alimentos, apresentando correlação adequada em estudos que utilizaram digestão *in vitro* seguido de absorção pelas células (REBOUL et al; 2006; KRATZ, 2011).

O cultivo das células Caco-2 requer paciência e tempo (Figura 8). Em cerca de 21 dias as células exibem completa diferenciação em enterócitos, exibindo membrana demarcada por junções e microvilosidades similar ao tecido epitelial duodenal, permitindo então a execução da análise (LE FERREC, 2001).

Dentre vários desafios que envolvem o modelo de células Caco-2, podemos citar a complexidade da análise, pois envolve muitas etapas como manipulação de amostras e exposição ao ambiente, acarretando muitas vezes em erros que repercutem em resultados posteriores das análises. Os riscos de contaminação que permeiam o cultivo das células são muitos, e o controle disso exige tempo para padronização de técnicas operacionais que auxiliem na melhoria do ambiente de trabalho, porém não desmerece a aplicabilidade do método e sua importante contribuição no cenário da bioacessibilidade de nutrientes (BERNI, 2014).

Figura 8. Cultivo de células Caco-2. As etapas 1 a 3 exibem características de células recém semeadas. Já as etapas 4 a 5 mostram a evolução da confluência (50%) e a etapa 6 células diferenciadas em enterócitos. Fonte: Da autora.

Estudos utilizando células Caco 2, demonstraram que a absorção intestinal de vitamina E é considerável também no íleo (porção final do intestino), e não apenas no jejuno, como até então é reportada (GONÇALVES et al., 2015). Além disso, o modelo celular também já foi descrito na literatura para evidenciar a ação potencialmente anti-inflamatória de isômeros da vitamina E como γ e δ tocoferol em vias inflamatórias como NF-kB (fator nuclear kappa B) (ELISIA, KITTS, 2015).

A respeito da bioacessibilidade da vitamina E em alimentos, a maioria dos estudos reporta sobre a isoforma α -tocoferol, sendo que as quantidades encontradas nos estudos variam principalmente em função da matriz alimentar estudada.

Segundo Reboul et al.; (2006) a variabilidade nos teores de bioacessibilidade para alimentos como pão, derivados lácteos e maçã ocorre em função da presença de fibras, gorduras e fitoesteróis, além do próprio estado físico da isoforma avaliada. Foi possível observar 29% de bioacessibilidade de vitamina E para queijos e 22% em leites. Já em frutas como a maçã, esse teor caiu para 0,5%.

Produtos à base de carne (adicionados de α -tocoferol) responderam melhor como matriz alimentar para a micelarização e absorção de α -tocoferol comparado a alimentos como pão, maionese e suco de maçã, apresentando uma média de bioacessibilidade correspondente de a 86% para carne vermelha, 70% para carne suína e 23% para maionese (O'CALLAGHAN e O'BRIEN, 2010). Alimentos como

brócolis, leite e suco de fruta também foram avaliados quanto à bioacessibilidade do α -tocoferol usando métodos *in vitro* (GRANADO et al., 2006; HERRERO-BARBUDO et al., 2009; GRANADO-LORENCIO et al., 2009; CILLA et al., 2016).

GRANADO et al., (2006) tentaram correlacionar dados de bioacessibilidade *in vitro* com biodisponibilidade *in vivo*. Demonstraram não ocorrer diferença nos níveis séricos de vitamina E após intervenção alimentar de 7 dias com brócolis, encontrando teores inferiores a 20% de bioacessibilidade para esse alimento.

O conteúdo de α -tocoferol também não ocasionou interferência nas lipoproteínas (VLDLs) após o consumo de produto lácteo fortificado com α -tocoferol (HERRERO-BARBUDO et al., 2006). Segundo os autores, as esterases presentes na pancreatina de porco empregada no processo de digestão *in vitro* podem ser insuficientes para a completa hidrólise de acetato de α -tocoferol em α -tocoferol, e isso pode interferir nos resultados que envolvem a forma sintética (HERRERO-BARBUDO et al., 2009)

NOVOTNY et al.; (2012), avaliaram a cinética, biodisponibilidade e metabolismo de α -tocoferol em adultos saudáveis por metodologia *in vivo*. Os resultados obtidos demonstraram 81% de biodisponibilidade de vitamina E. Quanto à cinética do α -tocoferol, os resultados sugerem que o consumo de 6 mg de α -tocoferol/dia para adultos saudáveis já seria responsável pela reposição de perdas previamente estimadas de vitamina E; sugerindo que as exigências nutricionais de ingestão para α -tocoferol podem ser menores do que a preconizada atualmente pelas DRIs.

Kenny, O'Callaghan & O'Brien (2008), verificaram a digestão *in vitro* através de células Caco-2 e a bioacessibilidade de α -tocoferol em salsichas formuladas com adição de ingredientes (farelo de trigo, farelo de aveia, proteína de soja, proteína de soro de leite, azeite, óleo de linhaça, óleo de girassol e óleo de gérmen de trigo) em diferentes concentrações (3% e 10%) e submetidas a cocção em forno a 190°C por 12 minutos. Eles observaram que apenas o óleo de girassol e o óleo de gérmen de trigo aumentaram a micelarização do α -tocoferol, resultando no aumento da transferência deste componente do alimento para as micelas. O azeite de oliva a 3% melhorou a disponibilidade de α -tocoferol em comparação aos demais ingredientes com 34 % de bioacessibilidade.

A bioacessibilidade de vitamina E pode ser observada também em microalgas. No estudo foi possível concluir que *Chaetoceros calcitrans* apresentam

maior bioacessibilidade de α -tocoferol comparado a espécie *Nannochloropsis oculata*, tanto em extrato seco como em pó (GOH, 2009).

FAILLA et al., (2014) avaliaram diferentes fontes lipídicas (canola, oliva, soja e manteiga) na estabilidade e eficiência da micelarização de carotenóides e α -tocoferol durante a simulação gástrica e absorção (utilizando Caco-2) para salada contendo alface, cenoura, espinafre, aveia e tomate. A captação e a secreção basolateral de α -tocoferol foram maiores nas células com mistura majoritária de ácidos graxos insaturados, comparado aos ácidos graxos saturados, sugerindo que os ácidos graxos insaturados poderiam aumentar a micelarização dessa isoforma de vitamina E durante a digestão e transporte intestinal.

Um prato típico da Tunísia contendo óleo de oliva; foi avaliado quanto ao perfil de nutrientes lipossolúveis sendo observado o impacto do processamento térmico da refeição no comportamento desses nutrientes. A respeito da vitamina E, especialmente de α -tocoferol, pode-se verificar baixa bioacessibilidade na fase micelar; sendo a bioacessibilidade maior na fase oleosa após a digestão *in vitro*, a qual variou de 30 a 38%, sendo significativamente maior após 150 min de cocção da refeição (DHUIQUE-MAYER et al; 2016).

A bioacessibilidade de vitamina E foi analisada também em cápsulas na forma de suplemento (acetato de α -tocoferol). A respeito do tipo de lipídio carreador presente na emulsão da cápsula (triglicerídeos de cadeia média (TCM) x triglicerídeos de cadeia longa (TCL), pode-se observar que a conversão do acetato de α -tocoferol em α -tocoferol após a digestão *in vitro*, foi consideravelmente maior para as emulsões TCL (90%) do que TCM (75%), considerando a ação das esterases sobre a vitamina E.

A fração, extensão de digestão lipídica e bioacessibilidade foram maiores para os triglicerídeos de cadeia longa, devido à maior capacidade de solubilização de micelas mistas formadas a partir de ácidos graxos de cadeia longa, sendo esse estudo de grande relevância para compreender e desenvolver sistemas baseados em emulsão de forma eficaz para vitamina E (YANG, McCLEMENTS, 2013; YANG, XIAO, McCLEMENTS, 2017).

Estudos mais recentes sobre bioacessibilidade de α -tocoferol utilizando as células Caco-2 como modelo experimental foi realizado em batatas modificadas geneticamente. Os resultados sugeriram que uma porção de 150 g de batatas douradas cozidas (95 a 100°C/10minutos) tem o potencial de contribuir com 34 e

17% da necessidade diária de vitamina E para crianças e mulheres em idade reprodutiva, respectivamente, apresentando 53% de bioacessibilidade para α -tocoferol (CHITCHUMROONCHOKCHAI et al; 2017)

Quanto aos tocotrienóis, poucos estudos descrevem sobre a bioacessibilidade de suas isoformas. Em estudo utilizando suplementação oral com tocotrienóis foi possível detectá-los em lipoproteínas após 2 h da ingestão do suplemento, ocorrendo desaparecimento dentro de 24 h após ingestão, enfatizando que essa forma de vitamina E possui curta distribuição e duração no plasma. Existe muita controvérsia sobre os achados em relação aos tocotrienóis, e os resultados acabam sendo bastante tímidos. As principais fontes estudadas de tocotrienóis envolvem formulações a base de óleo de palma e farelo de arroz (FAIRUS et al., 2006; FU et al., 2014).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Foram utilizados para o estudo óleos vegetais refinados obtidos antes do envase, sem adição de antioxidantes gentilmente cedidos pela Cargill S/A e Agropalma. Os óleos de canola, milho, girassol e palma foram recebidos e após retirada das alíquotas, foram selados após injeção de nitrogênio e armazenados em vidros âmbar a -18°C.

Tratamento e Preparo das amostras (protocolo de fritura)

Para o processo de fritura foi utilizada uma fritadeira doméstica com termômetro regulável acoplado (COTHERM®), com capacidade para 2L, cuba de aço inox com dimensões de C 350 x L 195 x A 233 mm. Todos os óleos foram submetidos à fritura contínua por 60 minutos em temperatura controlada de $180 \pm 5^\circ\text{C}$. O método foi conduzido segundo Juárez et al. (2011) com adaptações. Cerca de 60 g de batata da variedade Asterix foram adquiridas em comércio local, higienizadas, descascadas e cortadas em tiras de $12 \times 12 \text{ mm}^2$ e comprimento de 30 mm, com auxílio de um cortador de batatas e submetidas à fritura em 1,5 L de óleo. Antes de iniciar a fritura, os óleos foram submetidos ao aquecimento por 10 minutos aproximadamente para que a temperatura de 180°C fosse alcançada uniformemente. O tempo de fritura entre cada porção submetida ao processo (amostras com 60 g de batata frita cada) foi de aproximadamente 5 minutos, tempo suficiente para o estabelecimento da temperatura. Após 60 minutos de fritura os óleos foram resfriados e recolhidos em frasco âmbar, selados após injeção de nitrogênio e armazenados a -18°C até o momento das análises.

3.2 Métodos analíticos

3.2.1 Umidade

As batatas *Asterix* foram submetidas à análise de umidade por método gravimétrico segundo AOAC (2012). Cápsulas de porcelana foram previamente

secas em estufa a 105°C por uma noite, resfriadas em dessecador e pesadas até peso constante. Cerca de 1 g de amostra foi pesada nas cápsulas de porcelana e estas colocadas em estufa de circulação de ar forçado a 105°C até atingir peso constante. As cápsulas com a amostra seca foram pesadas novamente e a diferença entre a cápsula pós estufa e a tara correspondeu a matéria seca (Equação 1). O resultado foi obtido e expresso em porcentagem.

$$\text{Matéria seca} = \frac{\text{Peso cápsula com Amostra pós-estufa (g)} - \text{Peso da cápsula seca (g)}}{\text{Peso amostra úmida (g)}} \times 100$$

$$\% \text{ Umidade} = 100 - \% \text{ Matéria Seca} \quad (1)$$

3.2..2 Ácidos graxos livres

Cerca de 28 g de amostra foram pesados e adicionados de 75 mL de álcool neutralizado aquecido juntamente com 2 mL de fenolftaleína. Foi realizada a titulação com solução padronizada de NaOH 0,1 M até coloração rósea, segundo a AOCS (2009). O teor de ácidos graxos livres (AGL) foi calculado de acordo com a equação 2 e expresso em % de ácido oleico para os óleos de milho, girassol e canola e em ácido palmítico para palma.

$$\% \text{ de ácidos graxos livres} = \frac{B \times M \times E}{A} \quad (2)$$

Em que:

A = massa da amostra em g

B = volume de NaOH 0,1 M gasto na titulação em mL

M = molaridade da solução de NaOH

E = equivalente do ácido graxo presente em maior quantidade na amostra. Para oleico 28,2 e para palmítico 25,6

3.2.3 Índice de peróxidos

Cerca de 5 g de amostra foi pesada e dissolvida em 50 mL da solução de ácido acético-isooctano (3:2 v/v) com posterior adição de 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio e colocado em descanso no escuro por 1 minuto. Em seguida foram adicionados 30 mL de água destilada, 0,5 mL de solução de amido 1% e 10

gotas de lauril com posterior titulação utilizando tiosulfato de sódio 0,1 M até perda da coloração escura AOCS (2009). O índice de peróxido foi calculado de acordo com a equação 3 e expresso em miliequivalente de peróxido/ kg de amostra.

$$\text{IP (meq/Kg)} = \frac{B \times N \times 1000}{A} \quad (3)$$

Em que:

A = peso da amostra em g

B = volume gasto de titulante em mL

N = normalidade da solução de tiosulfato de sódio

3.2.4 Estabilidade oxidativa

A resistência à oxidação dos óleos foi analisada conforme método Cd 12b-92 proposto pela AOCS (2009), utilizando equipamento Rancimat a 110°C, com fluxo de ar de 20 L/ h⁻¹. Para o óleo de palma foi utilizada temperatura a 130°C. Cerca de 5 g de amostra foi pesada nos tubos e 50 mL de água deionizada adicionada aos frascos contendo os eletrodos. Através da mudança na condutividade elétrica da água, pode-se obter o resultado expresso em uma curva na qual o período de indução pode ser calculado pela intersecção de duas linhas: a tangente de inclinação e outra tangente nivelada à curva, gerando um gráfico de condutividade.

3.2.5 Composição em ácidos graxos

A composição em ácidos graxos dos óleos foi determinada por cromatografia em fase gasosa. A conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos foi realizada segundo o método de Hartman e Lago (1973). Os ésteres metílicos foram separados de acordo com o método Ce 1f-96 (AOCS, 2009). *Condições cromatográficas:* Cromatógrafo Agilent series 6850 GC EUA system (Santa Clara, CA, EUA). Coluna capilar: DB-23 AGILENT (50% cianopropil–metilpolisiloxano, comprimento de 60m, diâmetro interno de 0.25mm e 0.25µm de espessura de filme). Condições de análise: fluxo de 1,0mL/min; velocidade linear de 24cm/s; temperatura do detector de 280°C; temperatura do injetor de 250°C; temperatura do forno: 110°C por 5min, 110–215°C (5°C/min), 215°C–24min; gás de arraste: hélio; volume

injetado: 1,0µL, split 1:50. Os resultados obtidos foram avaliados através da comparação do tempo de retenção e área dos picos em relação ao padrão.

3.2.6 Quantificação dos Tocóis

O método para a extração e quantificação das isoformas de vitamina E nos óleos vegetais antes e após fritura foi realizado através da extração em solvente orgânico, sem saponificação com detecção e quantificação por HPLC conforme método Ce 8-89 da AOCS (2006). Foram pesados 0,1000 g de óleo vegetal em 10 mL de hexano, agitados em vortex e filtrados em membrana de celulose regenerada com poro de 0,45µm. No caso das células Caco-2, o pellet celular foi suspenso em 5 mL de hexano, agitado no vortex e submetido ao aparelho de ultrassom por 15 minutos para ocorrer o rompimento das células e liberação das isoformas de vitamina E.

Foi utilizado cromatógrafo de fase líquida Perkin Elmer SERIES 2000, nas seguintes condições cromatográficas: Bomba isocrática Perkin Elmer 250; Detector de fluorescência LC 240 Perkin Elmer, comprimento de onda em excitação 290 nm e emissão 330 nm. Coluna analítica: Merck 250 x 4 mm Li Chrosorb Si 60, acoplada a coluna de guarda compatível. Como fase móvel foi utilizado hexano/isopropanol 99:1 (solventes grau HPLC, filtrados e degasados por 10 minutos, em banho de ultrassom), 1,0 mL/min. O volume do loop foi de 20,0 µL. A quantificação foi realizada por padronização externa (Carbiochem®). Os resultados foram avaliados pela comparação do tempo de retenção das isoformas das amostras em relação ao padrão.

3.2.7 Bioacessibilidade

A avaliação da bioacessibilidade de vitamina E foi realizada pela simulação da digestão *in vitro* dos óleos e absorção com o uso de culturas celulares do epitélio intestinal humano (Caco-2, ATCC® HTB37™) obtidas da *American Type Culture Collection* (Manassas, VA, US), segundo metodologias propostas por Garret, Failla e Sarama (1999), Kenny et al; (2008) e Yang, McClements (2013), com adaptações.

3.2.7.1 Cultivo das células

As células foram cultivadas em frascos de cultura T75 para replicagem, e em frascos T25 para os experimentos nas concentrações de $0,4-0,6 \times 10^6$ e $0,15-0,2 \times 10^6$ respectivamente (passagem 33). Foram utilizados como meio de cultura o DMEM – *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (D7777; Sigma[®]) com alto teor de glicose e tamponado com 15 mmol/L de tampão HEPES (Sigma[®]), suplementado com 4 mmol/L de L-glutamina 1% de solução de aminoácidos não essenciais, 1% de antibiótico penicilina-estreptomicina 0,2% de antimicótico fungizone e 15% de soro fetal bovino (FBS) inativado por calor (LifeTechnologies Corporation[®]). Após período de confluência a concentração do meio foi ajustada para 8% de FBS. Os frascos foram mantidos em incubadora com atmosfera úmida, ar/CO₂ (95:5 v/v) a 37 °C sendo realizada troca do meio DMEM a cada 48 hs. As células foram visualizadas e monitoradas por microscópio invertido.

3.2.7.2 Digestão *in vitro*

Cerca de 10 g de amostra foram homogeneizadas em 10 mL de solução de sais (120 mol/L de NaCl, 6 mmol/L de CaCl₂ e 5 mmol/L KCl) com um homogeneizador tipo Polytron em tubos de 50 mL. Então, 6 mL de saliva artificial contendo α -amilase foi adicionada, e o volume ajustado para 30 mL. Os tubos receberam gás nitrogênio, foram selados com parafilm[®] e incubados à 37 °C por 10 min com agitação em um equipamento tipo rocker (120 rpm). Em seguida o pH foi ajustado para 2,5 com HCl 1 N, então 2 mL de solução de pepsina foi adicionada e o volume do tudo ajustado para 40 mL. Os tubos receberam gás nitrogênio, foram selados com parafilm[®] e incubados à 37 °C por 1 h com agitação em um equipamento tipo rocker (120 rpm). Após isso, o pH foi ajustado para 6,0 com NaHCO₃ 1M, foi adicionada uma alíquota de 4 mL de solução de bile (40 mg/mL em 100 mM NaHCO₃) e 2,5 mL de solução de pancreatina, sendo o pH ajustado para 6,5 com volume final ajustado para 50 mL nos tubos. Os tubos receberam gás nitrogênio, foram selados com parafilm[®] e incubados à 37 °C por 2 h com agitação em um equipamento tipo rocker (120 rpm) para simulação da etapa intestinal (duodenal). Uma alíquota de 15 mL de material digerido foi retirada dos tubos, transferidas para novos tubos e levadas à centrifuga (3400 rpm 60 min em 4°C). O

sobrenadante foi coletado em seringas descartáveis de 10 mL e filtrado em membranas estéreis (Milipore®, 0,22 µm de poro). As alíquotas foram cobertas por gás nitrogênio, seladas e congeladas a -80°C até a extração da vitamina E e análise por HPLC.

3.2.7.3 Absorção da vitamina E pelas células Caco-2

Para essa etapa, foram utilizadas as frações aquosas obtidas da digestão *in vitro*. Foram retiradas alíquotas, filtradas e diluídas (1:4) em meio de cultura basal (DMEM) pH 6,5. As placas contendo as células diferenciadas em enterócitos foram adicionadas da diluição contendo as micelas e foram mantidas por 4 h em incubadora com atmosfera úmida, ar/CO₂ (95:5 v/v) a 37 °C. Após o período da incubação, o meio de cultura foi retirado e as placas foram lavadas duas vezes com solução tampão fosfato (PBS) gelado, contendo 2g/L de albumina sérica bovina, e posteriormente lavadas com 6 mL de solução tampão fosfato (PBS) sem albumina. Com o auxílio de um raspador de borracha as células foram coletadas e transferidas para um tubo e levadas à centrífuga a 2000 rpm por 10 minutos a 4°C, sendo o sobrenadante descartado. O pellet celular foi então coberto com nitrogênio, fechado e armazenado a -80°C até o momento da extração das isoformas de vitamina E, conforme mencionado anteriormente. A fração bioacessível de vitamina E foi calculada com base na concentração de vitamina E no óleo e micela, conforme equação 4.

$$\text{Bioacessibilidade} = \frac{C_{\text{micela}}}{C_{\text{alimento}}} \times 100$$

(4)

3.2.8 Delineamento e Análise Estatística

O tratamento estatístico foi realizado em esquema fatorial (4 x 2), para verificar o tratamento térmico sobre os óleos vegetais. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão e submetidos à análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey (p <0,05 para valores significativos) utilizando pacote de dados do software R 2018.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Umidade da batata

A umidade da batata utilizada para esse estudo foi de $80,3\% \pm 0,91$. Valores próximos foram encontrados no estudo de Quadros et al; (2009), com umidade de 81,47% para o cultivar Asterix. É importante considerar a umidade do alimento em que será submetido à fritura, pois tanto a qualidade do óleo como as características sensoriais do alimento após a fritura, poderão ser afetados. Como mencionado anteriormente, a quantidade de água presente na matriz alimentar pode afetar a estabilidade oxidativa dos lipídios, seja por eliminar a água do alimento e favorecer a migração de oxigênio atmosférico, ou pela capacidade de mobilização de metais de transição (pró-oxidantes) pela água (SILVA, BORGES, FERREIRA, 1999)

Segundo Fernandes et al.; (2010) batatas das cultivares Atlantic, Asterix e Markies apresentaram boa qualidade para fritura, devido os teores de matéria seca serem inferiores quando comparado aos demais cultivares do estudo, proporcionando conseqüentemente menor retenção de óleo durante a fritura.

4.2 Caracterização dos óleos

A principal deterioração em óleos é a oxidação, sendo que atualmente existe uma diversidade de métodos analíticos (químicos, físicos e/ou físico-químicos) propostos na literatura para a avaliação do grau de oxidação lipídica e conseqüentemente a aferição da qualidade dos óleos vegetais. Dentre as técnicas empregadas para verificação da qualidade dos óleos, os testes colorimétricos, bem como o índice de acidez, índice de peróxidos e índice de iodo são bem aceitos por apresentarem custo reduzido, rapidez e reprodutibilidade; além de serem os únicos parâmetros químicos escolhidos para regulamentar a adequação de óleo para consumo no Brasil (FREIRE, MANCINI-FILHO, FERREIRA, 2013).

Na Tabela 3 podem ser observados os valores obtidos para os parâmetros de qualidade dos óleos de canola, girassol, palma e milho sem o processo de fritura e após o processo de fritura. Os resultados obtidos antes do processo de fritura, estão dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira, que preconizam

acidez máxima de 0,6 mg KOH/g (BRASIL, 2005), demonstrando processamento (refino) de alta qualidade dos óleos (SAYYAD, 2017).

Após o processo de fritura, recomenda-se que a quantidade de ácidos graxos livres (AGL) não seja superior a 0,9% e os valores de ácido linolênico do óleo de fritura não ultrapassem o limite de 2% (BRASIL, 2004). Observa-se que em relação aos AGL apenas o óleo de palma apresentou alteração significativa sobre esse parâmetro após fritura de 1 hora, embora esteja dentro do que a legislação preconiza para óleos após fritura. Dessa forma, podemos considerar que todos os óleos atenderam aos critérios de qualidade preconizados pela legislação brasileira, considerando teor de AGL e índice de acidez, independente do tratamento térmico.

Tabela 3. Parâmetros de qualidade dos óleos vegetais refinados antes (T0) e após fritura (T1)

Análise e Tratamento		Girassol	Canola	Palma	Milho
AGL (%)	T0	0,02 ± 0,01 ^{1bA2}	0,05 ± 0,01 ^{aA}	0,05 ± 0,01 ^{abB}	0,06 ± 0,01 ^{aA}
	T1	0,03 ± 0,01 ^{cA}	0,05 ± 0,00 ^{bA}	0,08 ± 0,00 ^{aA}	0,07 ± 0,00 ^{abA}
Índice de acidez (mg KOH/g)	T0	0,04 ± 0,01 ^{bA}	0,10 ± 0,01 ^{aA}	0,08 ± 0,01 ^{abB}	0,12 ± 0,01 ^{aA}
	T1	0,06 ± 0,01 ^{cA}	0,11 ± 0,00 ^{bA}	0,17 ± 0,00 ^{aA}	0,15 ± 0,00 ^{abA}
Índice de peróxidos (mEq/kg)	T0	5,94 ± 0,13 ^{aB}	3,54 ± 0,36 ^{bA}	3,64 ± 0,36 ^{bB}	2,60 ± 0,49 ^{bA}
	T1	11,09 ± 0,47 ^{aA}	3,56 ± 0,12 ^{bA}	11,60 ± 0,12 ^{aA}	3,80 ± 0,26 ^{bA}
Período de indução (h)	T0	4,11 ± 0,04 ^{dA}	7,43 ± 0,05 ^{bB}	5,93 ± 0,05 ^{cA}	10,93 ± 0,30 ^{aA}
	T1	3,52 ± 0,01 ^{dB}	8,13 ± 0,08 ^{bA}	4,54 ± 0,08 ^{cB}	8,93 ± 0,52 ^{aB}

¹Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=2). ²Letras maiúsculas diferentes nas linhas (entre os tratamentos) ou letras minúsculas diferentes nas linhas (entre os tipos de óleo) diferem significativamente pelo teste de *Tukey* ao nível de 5 % de significância. T0 = sem fritura e T1 = após fritura contínua por 1 hora. AGL: ácidos graxos livres,

Os ácidos graxos livres são moderadamente voláteis e podem ser perdidos durante o aquecimento do óleo, além de sofrer oxidação e serem convertidos em outros produtos, não quantificáveis na titulação (TOMPKINS, PERKINS; 2000). Ao comparar os tipos de fritura, alguns estudos mostram que frituras descontínuas apresentam maior prejuízo à qualidade do óleo de fritura; isso porque na fritura contínua o vapor resultante do processo ao recobrir a superfície do óleo retarda a oxidação do mesmo, impedindo seu contato com o oxigênio atmosférico (JUÁREZ et al; 2011).

O tempo de fritura no presente estudo foi relativamente baixo comparado ao de outros estudos (JORGE, LUNARDI, 2006; OSAWA, GONÇALVES, MENDES; 2010; JUÁREZ et al; 2011), justificando os valores discretos observados para as alterações dos parâmetros de qualidade. Alterações importantes nos parâmetros de

qualidade em óleos vegetais após fritura são reportados, demonstrando que o tipo de fritura e o tempo são fatores de extrema importância e que refletem diretamente sobre a qualidade do óleo, na geração de compostos secundários e na composição em ácidos graxos (JORGE, LUNARDI, 2006; OSAWA, GONÇALVES, MENDES; 2010; JUÁREZ et al; 2011).

Em relação ao índice de peróxidos, todos os óleos analisados antes do processo de fritura estavam dentro do parâmetro preconizado pela ANVISA (máximo 10 mEq/kg) (BRASIL, 2004). O óleo de girassol refinado sem tratamento térmico, apresentou diferença significativa em relação ao total de peróxidos dos demais óleos com teor inicial de 5,94 mEq/kg, e após 1 hora de fritura foi observado (Tabela 3) que tanto o óleo de girassol como o óleo de palma apresentaram valores significativos e superiores a 10 mEq/kg.

Jorge e Lunardi (2004) observaram que os valores de peróxidos diferiram significativamente entre si a partir do tempo de fritura de 3 horas e que dentre os óleos estudados, o óleo de girassol foi o que obteve maiores valores de peróxidos, seguidos pelos óleos de soja e milho.

O índice de peróxidos gera discussões, não sendo considerado como o melhor método para monitoramento da oxidação do óleo de fritura, tendo em vista que mesmo se originando em grandes quantidades, sob a temperatura do processo de fritura sua velocidade de decomposição é superior à velocidade de formação (JORGE e LOPES, 2003), atingindo um valor máximo (pico) seguido de declínio. Segundo Malacrida, Jorge (2005), esse pico é alcançado após cerca de 20 horas de utilização do óleo em frituras.

A respeito da estabilidade oxidativa no presente estudo, o óleo de milho refinado antes da fritura apresentou um período de indução de 10,93 horas; seguido dos óleos de canola (7,43 horas), palma (5,93 horas) e girassol (4,11 horas). Merrill et al. (2008) reportaram valores de período de indução, determinados através do equipamento OSI, para óleo de milho de 9,8 horas; óleo de canola 8,47 horas; soja 7,6 horas e girassol 5,2 horas. Entende-se por “período de indução”, o tempo necessário para se atingir um ponto crítico de oxidação no qual ocorre comprometimento das características organolépticas do óleo além da aceleração brusca da velocidade do processo oxidativo (SILVA, BORGES, FERREIRA, 1999).

Os fenômenos de oxidação dos lipídios dependem de mecanismos reacionais diversos e extremamente complexos. Fatores como a variedade do cultivar,

condições de processamento, posição dos ácidos graxos individuais dentro da molécula de triacilglicerol e a presença de antioxidantes naturais como os tocoferóis influenciam na estabilidade oxidativa dos óleos vegetais (SAVAGE,1997; SILVA, BORGES, FERREIRA, 1999; ANTONIASSI, 2001; MERRILL et al; 2008). Del Ré e Jorge (2006) ao estudarem o comportamento de óleos com alto teor de ácidos poli-insaturados em frituras descontínuas de batatas pré-fritas congeladas, constataram que o óleo de girassol foi o que apresentou menor período de indução ao longo do processo de fritura, sendo de igual forma para o presente estudo.

Observa-se redução do período de indução dos óleos de girassol, palma e milho após a fritura, e aumento no óleo de canola. O óleo de canola possui quantidades significativas de ácido linolênico (C18:3) (Tabela 4), reforçando a ideia de que esse óleo quando comparado aos demais, não é indicado para processos de fritura. (OSAWA, GONÇALVES, MENDES; 2010).

Tabela 4. Composição em ácidos graxos dos óleos vegetais refinados antes (T0) e após fritura (T1)

Ácidos graxos (%)	Girassol		Canola		Palma		Milho	
	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1
C 8:0	-	-	-	-	-	0,04 [±] 0,00	-	-
C 10:0	-	-	-	-	-	0,04 [±] 0,00	-	-
C 12:0	-	-	-	0,07 [±] 0,06	0,31 [±] 0,00	0,34 [±] 0,00	-	-
C 14:0	0,12 [±] 0,01	0,13 [±] 0,02	0,09 [±] 0,00	0,17 [±] 0,11	1,06 [±] 0,00	1,05 [±] 0,00	0,08 [±] 0,00	0,05 [±] 0,00
C 15:0	-	-	-	-	0,05 [±] 0,00	0,04 [±] 0,00	-	-
C 16:0	7,22 [±] 0,03	7,38 [±] 0,05	5,16 [±] 0,00 ^B	5,45 [±] 0,22 ^A	40,55 [±] 0,00 ^A	38,36 [±] 0,10 ^B	12,28 [±] 0,00	12,31 [±] 0,00
C 16:1	0,13 [±] 0,00	0,13 [±] 0,00	0,23 [±] 0,00	0,24 [±] 0,00	0,17 [±] 0,00	0,18 [±] 0,00	0,14 [±] 0,00	0,14 [±] 0,00
C 17:0	0,05 [±] 0,00	0,05 [±] 0,01	0,09 [±] 0,00	0,09 [±] 0,00	0,11 [±] 0,00	0,10 [±] 0,00	0,08 [±] 0,00	0,09 [±] 0,00
C 17:1	0,02 [±] 0,00	0,03 [±] 0,01	0,11 [±] 0,00	0,11 [±] 0,00	0,04 [±] 0,00	0,04 [±] 0,00	0,04 [±] 0,00	0,04 [±] 0,00
C 18:0	3,53 [±] 0,03	3,61 [±] 0,04	2,50 [±] 0,00	2,73 [±] 0,24	4,67 [±] 0,00 ^A	4,46 [±] 0,00 ^B	2,12 [±] 0,00	2,09 [±] 0,00
C 18:1 (trans)	-	-	-	-	0,25 [±] 0,00	0,23 [±] 0,00	-	-
C 18:1 (cis)	30,03 [±] 0,03	30,24 [±] 0,03	59,24 [±] 0,02	58,95 [±] 0,43	41,29 [±] 0,00	42,99 [±] 0,08	32,12 [±] 2,82	34,15 [±] 0,00
C 18:2 (trans)	0,50 [±] 0,00	0,51 [±] 0,00	0,11 [±] 0,00	0,12 [±] 0,00	0,16 [±] 0,00	0,16 [±] 0,00	0,16 [±] 0,00	0,17 [±] 0,00
C 18:2 (cis)	56,62 [±] 0,06 ^A	56,15 [±] 0,20 ^B	20,80 [±] 0,00	20,64 [±] 0,12	10,44 [±] 0,00 ^B	11,01 [±] 0,00 ^A	48,81 [±] 0,06	48,68 [±] 0,00
C18:3 (trans)	-	-	0,69 [±] 0,00	0,67 [±] 0,00	-	-	-	-
C 18:3 (cis)	0,34 [±] 0,04	0,34 [±] 0,04	8,64 [±] 0,00 ^A	8,41 [±] 0,00 ^B	0,19 [±] 0,00	0,22 [±] 0,00	0,88 [±] 0,00	1,01 [±] 0,00
C 20:0	0,28 [±] 0,00	0,28 [±] 0,00	0,72 [±] 0,00	0,71 [±] 0,00	0,40 [±] 0,00	0,40 [±] 0,00	0,52 [±] 0,00	0,52 [±] 0,00
C 20:1	0,18 [±] 0,00	0,18 [±] 0,00	1,04 [±] 0,00	1,01 [±] 0,00	0,14 [±] 0,00	0,15 [±] 0,00	0,30 [±] 0,00	0,30 [±] 0,00
C 22:0	0,69 [±] 0,00	0,69 [±] 0,00	0,38 [±] 0,00	0,38 [±] 0,00	0,08 [±] 0,00	0,09 [±] 0,00	0,19 [±] 0,00	0,18 [±] 0,00
C 24:0	0,28 [±] 0,01	0,27 [±] 0,00	0,19 [±] 0,00	0,22 [±] 0,00	0,08 [±] 0,00	0,09 [±] 0,00	0,25 [±] 0,00	0,24 [±] 0,00
Saturados	12,17	12,41	9,13	9,82	47,31	45,01	15,52	15,48
Monoinsaturados	30,36	30,38	60,62	60,31	41,64	43,36	32,60	34,63
Poli-insaturados	56,96	56,49	29,44	29,05	10,63	11,23	49,69	49,69
Isômeros trans	0,50	0,51	0,80	0,79	0,41	0,39	0,16	0,17

Letras maiúsculas diferentes nas colunas (entre os tratamentos) diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância. T0 = sem fritura e T1 = após fritura contínua por 1 hora.

A composição do óleo de girassol sem tratamento térmico apresentou 7,22% de ácido palmítico (C16:0), 30% de ácido oleico (C18:1) e 56,62% de ácido linoleico (C18:2), possuindo quantidades totais significativas de ácidos graxos poli-insaturados, seguido do óleo de milho que apresentou 49,69%, principalmente composto por linoleico (C18:2) e oleico (C18:1). O óleo de canola conforme comentado anteriormente, se destaca dos demais óleos por ser o único a apresentar em sua composição ω 3 (C18:3), além de apresentar quantidades significativas de ácido graxo oleico (C18:1), cerca de 59,2 %.

Em relação ao óleo de palma foi observado uma relação entre ácidos graxos saturados e poli-insaturados interessante, sendo 40,5% composto pelo ácido graxo saturado palmítico (C16:0), e 41,3% pelo ácido graxo monoinsaturado oleico (C18:1). Sabe-se que a composição em ácidos graxos dos óleos pode ser influenciada por muitos fatores, embora os achados desse estudo mostrem valores semelhantes aos demais estudos de caracterização e composição em ácidos graxos nos óleos vegetais refinados (O'BRIEN, 2004; GUNSTONE, 2005). Nas condições do estudo, na fritura por 1 hora não ocorreu formação de isômeros trans. Segundo Aladedunye e Przybylski (2009), em temperaturas típicas de fritura, a formação de isômeros trans não é considerada significativa.

Óleos vegetais poli-insaturados não apresentam valores estabelecidos para ácidos graxos trans em seus regulamentos técnicos. No Brasil, a ANVISA regulamenta a declaração dos níveis destes ácidos no rótulo dos alimentos embalados. Para os óleos refinados comercializados, os níveis de ácidos graxos trans são considerados insignificantes (declarado como zero na porção) quando inferiores a 0,2 g (BRASIL, 2003).

Em relação a alterações sobre a composição dos ácidos graxos, o processo de fritura ocasionou redução significativa no teor de ácido palmítico do óleo de palma (de 40,55 para 38,36%) e no ácido esteárico (de 4,67 para 4,46%). No óleo de canola após fritura, observa-se redução nos teores do ácido linolênico (de 8,64 para 8,41%), e no óleo de girassol redução para o ácido linoleico (de 56,62 para 56,15%), o que era previsto de acordo com a literatura (CORSINI et al; 2008; MALACRIDA, JORGE, 2006).

4.3 Quantificação dos tocoferóis e tocotrienóis

A Figura 9 apresenta o perfil cromatográfico obtido para a mistura das soluções-padrão dos oito isômeros da vitamina E. A eluição dos compostos seguiu a ordem característica e estabelecida pela literatura para análises que utilizam sistema de fase normal. Dessa forma temos a seguinte ordem de picos no cromatograma: α -tocoferol, α -tocotrienol, β -tocoferol, γ -tocoferol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol, δ -tocoferol, δ -tocotrienol.

Figura 9. Cromatograma da mistura de padrões de tocoferóis e tocotrienóis.

Os cromatogramas referentes aos óleos e fração micelar antes e após fritura podem ser observados nos Apêndices A a D.

Tendo em vista que os óleos de girassol e canola apresentam apenas tocoferóis (T), e palma majoritariamente tocotrienóis (T3) optou-se pela apresentação de dados de forma separada conforme Tabelas 5 e 6. Na Tabela 5 pode-se verificar os teores de tocoferóis e na Tabela 6 os teores de tocotrienóis. Os teores dos isômeros foram calculados e expressos em mg/100g.

Tabela 5. Teores de tocoferóis (mg/100g) em óleos vegetais refinados antes e após fritura

Óleo	Isômero	T0	T1
Girassol	α T	65,58 $\pm$ 1,54 ^{1aA2}	59,95 $\pm$ 1,21 ^{aB}
	β T	3,47 $\pm$ 0,15 ^{aA}	2,98 $\pm$ 0,27 ^{aB}
	γ T	4,40 $\pm$ 0,30 ^{cA}	4,17 $\pm$ 0,37 ^{cA}
	δ T	0,00 ^b	0,00 ^b
	Total T	73,45 $\pm$ 1,95 ^{bA}	67,11 $\pm$ 1,65 ^{bB}
Canola	α T	23,45 $\pm$ 0,37 ^{cA}	23,57 $\pm$ 0,57 ^{cA}
	β T	0,00	0,00
	γ T	39,20 $\pm$ 0,57 ^{bA}	37,04 $\pm$ 0,36 ^{bB}
	δ T	1,92 $\pm$ 0,18 ^a	1,67 $\pm$ 0,03 ^a
	Total T	64,58 $\pm$ 0,18 ^{cA}	62,29 $\pm$ 0,90 ^{cB}
Palma	α T	17,51 $\pm$ 0,34 ^{dA}	15,70 $\pm$ 0,38 ^{dB}
	β T	0,00	0,00
	γ T	1,67 $\pm$ 0,29 ^{dA}	1,41 $\pm$ 0,17 ^{dA}
	δ T	0,00 ^b	0,00 ^b
	Total T	19,18 $\pm$ 0,62 ^{dA}	17,12 $\pm$ 0,51 ^{dB}
Milho	α T	37,75 $\pm$ 1,78 ^{bA}	35,91 $\pm$ 0,31 ^{bB}
	β T	1,07 $\pm$ 0,17 ^{bA}	0,93 $\pm$ 0,16 ^{bA}
	γ T	67,84 $\pm$ 1,20 ^{aA}	66,88 $\pm$ 0,45 ^{aB}
	δ T	1,87 $\pm$ 0,15 ^a	1,86 $\pm$ 0,10 ^a
	Total T	108,53 $\pm$ 0,67 ^{aA}	105,59 $\pm$ 0,82 ^{aB}

¹Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão (n=3). ²Letras minúsculas diferentes entre os óleos (linhas) ou letras maiúsculas diferentes entre os tratamentos para cada isômero (colunas). T0 = sem fritura e T1 = após fritura contínua por 1 hora. (α T = alfa tocoferol, β T = beta tocoferol, γ T = gama tocoferol e δ T = delta tocoferol)

Dos óleos vegetais refinados sem tratamento térmico observa-se que o óleo de girassol apresentou o alfa tocoferol como isoforma majoritária. O óleo de milho apresentou o gama tocoferol como isoforma majoritária, semelhante ao óleo de canola. Em relação ao teor total de tocoferóis nos óleos sem tratamento térmico foram detectados valores de 108,53 mg/100g $\pm$ 0,67 para óleo de milho, 73,45 mg/100g $\pm$ 1,95 para o óleo de girassol, 64,58 mg/100g $\pm$ 0,18 para o óleo de canola e 19,18 mg/100g $\pm$ 0,62 para o óleo de palma. Esses valores estão de acordo com outros estudos que apresentaram os isômeros de vitamina E em óleos vegetais refinados (O'BRIEN, 2004; GUINAZI et al, 2009; GRILO et al; 2014).

Embora não seja comum a deficiência de vitamina E na população, alguns estudos reúnem dados sobre a caracterização dos isômeros de vitamina E, para verificar a adequação nutricional em relação à recomendação do nutriente

preconizado. A maioria deles reporta o óleo de soja como fonte principal de alfa-tocoferol, encorajando o consumo com o objetivo de evitar deficiências nutricionais de vitamina E. A adequação pode ser calculada a partir da recomendação de 15 mg de alfa-tocoferol por dia (IOM, 2002) e a ingestão de uma porção de óleo (9 g) de acordo com a Pirâmide Alimentar.

Segundo Guinazi et al; (2009), o óleo de canola correspondeu a 11% da quantidade diária de vitamina E recomendada, e em outro estudo pode-se verificar que uma porção do óleo de girassol foi equivalente a 23,1% da exigência nutricional de vitamina E, seguido pelo óleo de milho com 9,2% e canola com 6,4% (GRILO, et al, 2014).

Diversos fatores podem afetar o teor de vitamina E nos alimentos, sendo o processamento térmico um deles. A maioria dos processos reporta o refino e fritura como os principais processos térmicos responsáveis pelas perdas de vitamina E nos óleos. Nesse sentido, alguns estudos avaliam o melhoramento genético de plantas como girassol, para melhorar a quantidade de tocoferol disponível nas sementes, implicando em menor perda nutricional nos processos (NOLASCO, 2004). Outros estudos procuram compreender o comportamento das isoformas de Vitamina E, considerando a cadeia química do ácido graxo predominante, sendo que alguns autores reportam a perda maior de tocoferóis em óleos ricos em ácidos graxos poli-insaturados. A presença das instaurações no óleo torna-se sítio de alteração dos agentes oxidantes gerados na fritura, ocorrendo uma competição entre ácidos graxos poli-insaturados e vitamina E. Entre os diferentes homólogos, o γ -tocotrienol da oleína de dendê mostrou-se menos estável durante a fritura, preservando os demais homólogos de vitamina E (ROSSI, RATTI, 2007). Juaréz et al; (2011) verificaram perdas de tocoferóis significativas após processo de fritura descontínua, que variaram entre 16 a 76% em óleos de soja, girassol e gordura parcialmente hidrolisada.

Como previsto, a fritura afetou os teores de tocoferóis no presente estudo, reduzindo significativamente os teores de alfa tocoferol do óleo de girassol, palma e milho e os valores de gama tocoferol nos óleos de canola e milho; concluindo que o processo contínuo de fritura por 1 hora foi capaz de afetar os teores totais de tocoferóis dos óleos de girassol, canola, palma e milho.

O mesmo pode ser observado para os isômeros de tocotrienóis. Os óleos de palma e milho foram os únicos óleos que apresentaram detecção para tocotrienóis,

sendo que ambos apresentaram o isômero gama tocotrienol como majoritário. O óleo de palma apresentou 46,94 mg/100g $\pm$ 0,74, sendo esse teor afetado pela fritura de forma significativa, ao contrário do óleo de milho.

Tabela 6. Teores de tocotrienóis (mg/100g) em óleos vegetais refinados antes e após fritura

Isômero	Palma		Milho	
	T0	T1	T0	T1
α T3	18,64 $\pm$ 0,26 ^{1aA2}	9,39 $\pm$ 8,15 ^{aB}	2,49 $\pm$ 2,16 ^{bA}	2,97 $\pm$ 0,98 ^{bA}
β T3	nd	nd	nd	nd
γ T3	22,86 $\pm$ 0,43 ^{aA}	16,89 $\pm$ 0,65 ^{aB}	3,35 $\pm$ 0,34 ^{bA}	3,25 $\pm$ 0,18 ^{bA}
δ T3	5,44 $\pm$ 0,10	4,84 $\pm$ 0,44	nd	nd
Total de T3	46,94 $\pm$ 0,74 ^{aA}	31,12 $\pm$ 8,11 ^{aB}	5,84 $\pm$ 2,34 ^{bA}	6,21 $\pm$ 0,80 ^{bA}

¹Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão (n=3). ²Letras minúsculas diferentes entre os óleos (linhas) ou letras maiúsculas diferentes entre os tratamentos do mesmo óleo (colunas). T0 = sem fritura e T1 = após fritura contínua por 1 hora.

4.4 Bioacessibilidade da vitamina E

A bioacessibilidade está relacionada com a quantidade de vitamina E liberada do óleo vegetal que foi incorporada à micela lipídica e poderá ser posteriormente absorvida pelos enterócitos. Tendo em vista que os óleos vegetais estudados apresentaram diferença no conteúdo das isoformas de vitamina E, optou-se em demonstrar a bioacessibilidade dos isômeros majoritários dos óleos. Pode-se observar a bioacessibilidade dos isômeros majoritários de tocoferóis para os quatro óleos estudados, antes e após a fritura, na Tabela 7 e para os isômeros de tocotrienóis no óleo de palma na Tabela 8.

Tabela 7. Bioacessibilidade do isômero alfa-tocoferol (α T) nos óleos vegetais antes (T0) e após fritura (T1)

mg/100g		Óleo		Micela		% Bioacessibilidade	
		T0	T1	T0	T1	T0	T1
α T	G	65,58 $\pm$ 1,54 ^{1aA} ₂	59,95 $\pm$ 1,21 ^{aB}	6,53 $\pm$ 0,11 ^{aA}	8,45 $\pm$ 1,50 ^{aA}	9,95 $\pm$ 0,07	14,09 $\pm$ 2,71
	C	23,45 $\pm$ 0,37 ^{cA}	23,57 $\pm$ 0,57 ^{cA}	5,37 $\pm$ 1,06 ^{aB}	11,37 $\pm$ 4,40 ^{aA}	22,89 $\pm$ 4,83	38,62 $\pm$ 9,14
	P	17,51 $\pm$ 0,34 ^{dA}	15,70 $\pm$ 0,38 ^{dB}	9,18 $\pm$ 1,03 ^{aA}	6,95 $\pm$ 2,43 ^{aA}	52,42 $\pm$ 5,53	44,2 $\pm$ 14,35
	M	37,75 $\pm$ 1,78 ^{bA}	35,91 $\pm$ 0,31 ^{bB}	9,29 $\pm$ 0,49 ^{aA}	11,40 $\pm$ 0,92 ^{aA}	24,60 $\pm$ 2,39	31,74 $\pm$ 2,84

¹Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão (n=3). ²Letras maiúsculas diferentes nas colunas (entre os tratamentos) para óleo, micela e bioacessibilidade ou letras minúsculas diferentes nas linhas (entre os tipos de óleo) diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância. T0 = sem fritura e T1 = após fritura contínua por 1 hora. (G=girassol, C=canola, P=palma, M=milho)

Tabela 8. Bioacessibilidade do isômero gama-tocoferol (γ T) nos óleos vegetais antes (T0) e após fritura (T1)

mg/100g		Óleo		Micela		% Bioacessibilidade	
		T0	T1	T0	T1	T0	T1
γ T	G	4,40 $\pm$ 0,30 ^{1cA2}	4,17 $\pm$ 0,37 ^{cA}	nd	1,41 $\pm$ 0,34 ^{aA}	nd	33,81 $\pm$ 7,67
	C	39,20 $\pm$ 0,57 ^{bA}	37,04 $\pm$ 0,36 ^{bB}	nd	1,36 $\pm$ 0,51 ^{aA}	nd	3,67 $\pm$ 1,37
	P	1,67 $\pm$ 0,29 ^{dA}	1,41 $\pm$ 0,17 ^{dA}	nd	nd	nd	nd
	M	67,84 $\pm$ 1,20 ^{aA}	66,88 $\pm$ 0,45 ^{aB}	nd	1,05 $\pm$ 0,26 ^{aA}	nd	1,57 $\pm$ 0,39

¹Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão (n=3). ²Letras maiúsculas diferentes nas colunas (entre os tratamentos) para óleo, micela e bioacessibilidade ou letras minúsculas diferentes nas linhas (entre os tipos de óleo) diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância. T0 = sem fritura e T1 = após fritura contínua por 1 hora. (G=girassol, C=canola, P=palma, M=milho)

Das isoformas majoritárias, alfa e gama tocoferol, observa-se que o alfa tocoferol apresentou melhor resposta na fração micelar para os quatro óleos estudados, comparado ao gama-tocoferol, tendo em vista que não foi possível detectá-lo na fração micelar antes da fritura. Após o processo de fritura os teores de alfa tocoferol aumentaram, sendo essa resposta significativa apenas para o óleo de canola. Além disso, teores de gama-tocoferol foram detectados após o tratamento térmico na fração micelar, exceto para o óleo de palma, sugerindo que o tratamento térmico teve resposta melhor sobre a liberação das isoformas de vitamina E para a micela. Observamos no presente estudo que os teores de alfa-tocoferol encontrados nas micelas não diferiram significativamente entre os óleos e que fatores relacionados ao processo de fritura parecem ter favorecido a incorporação dos isômeros na micela lipídica e a resposta de bioacessibilidade para os óleos de girassol, canola e milho.

Tabela 9. Bioacessibilidade dos isômeros majoritários de tocotrienóis (alfa e gama tocotrienol) no óleo de palma

(mg/100g)	Óleo		Micela		% Bioacessibilidade	
	T0	T1	T0	T1	T0	T1
α T3	18,64±0,26 ^{1A2}	9,39±8,15 ^B	nd	nd	nd	nd
γ T3	22,86±0,43 ^A	16,89±0,65 ^B	nd	0,55±0,49	nd	3,25

¹Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3). ²Letras maiúsculas diferentes nas colunas (entre os tratamentos) para óleo, micela e bioacessibilidade diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância.

Em relação às isoformas detectadas no óleo de palma, após a fritura, pode-se observar redução significativa tanto nos teores de alfa-tocoferol como gama-tocoferol. Após a digestão *in vitro*, apenas o isômero gama-tocotrienol foi detectado no óleo de palma, apresentando bioacessibilidade de 3,25% após tratamento térmico, sugerindo que o tratamento térmico influenciou positivamente essa resposta, tendo em vista que esse isômero não foi detectado na micela anteriormente ao processo de fritura. Até o momento não foram localizados estudos que tenham demonstrado acessibilidade de tocotrienóis em óleos vegetais comestíveis, o que torna esse achado interessante, tendo em vista que os tocotrienóis são os isômeros majoritários no óleo de palma.

Na Tabela 10, podemos verificar a bioacessibilidade total de vitamina E para os diferentes óleos vegetais, tanto antes como após a fritura. Até o momento os estudos disponíveis verificaram apenas os teores de bioacessibilidade de vitamina E ou do isômero tocoferol em diversas matrizes alimentares, na forma de isômero natural ou sintético, não sendo verificados efeitos do processamento de fritura sobre esses valores; o que torna o presente estudo pioneiro nesse sentido.

Tabela 10. Bioacessibilidade de vitamina E nos óleos vegetais antes (T0) e após fritura (T1)

	Teor total de vitamina E (mg/100g)					
	Óleo		Micela		% Bioacessibilidade	
	T0	T1	T0	T1	T0	T1
Girassol	73,45 ± 1,95 _{1bA2}	67,11 ± 1,65 _{bB}	6,53±0,11 _{bB}	10,62±2,49 ^{aA}	8,90±0,10 ^{abB}	15,86±3,86 _{abA}
Canola	64,57 ± 0,18 ^{cA}	62,29 ± 0,90 ^{bA}	7,03±1,13 _{bB}	13,44±4,79 ^{aA}	10,89±1,77 ^{abB}	21,51±7,38 _{abA}
Palma	66,12 ± 1,32 _{bcA}	48,24 ± 8,25 ^{cb}	10,09±1,09 ^{abA}	9,06±1,22 ^{aA}	15,25±1,32 ^{ab}	18,89±1,43 _{aA}
Milho	114,36±2,13 _{aA}	111,79±1,10 _{aA}	13,07±0,59 ^{aA}	13,02±0,62 ^{aA}	11,43±0,38 ^{bB}	11,65±0,67 _{bA}

¹Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3). ²Letras maiúsculas diferentes nas colunas (entre os tratamentos) para óleo, micela e bioacessibilidade ou letras minúsculas diferentes nas linhas (entre os tipos de óleo) diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância. (G=girassol, C=canola, P=palma, M=milho)

Após a digestão, verifica-se que houve redução importante na concentração total de vitamina E incorporada pela micela, sendo o óleo de palma e milho os que apresentaram melhores respostas antes do processo de fritura. A bioacessibilidade dos óleos vegetais antes da fritura foi maior para o óleo de palma (10,89%) e milho (11,43%), seguido do óleo de canola (10,89%) e óleo de girassol (8,90%).

Os tocoferóis são localizados na superfície de gotículas lipídicas, o que os tornam mais facilmente transferidos para as micelas, assim como as xantofilas, diferentemente de outras moléculas lipossolúveis como carotenoides (GLEIZE et al; 2012). Alguns estudos que envolvem o modelo celular Caco-2 para simulação da digestão e absorção *in vitro*, mostram que os ácidos graxos insaturados estimulam a secreção de agentes lipofílicos em maior extensão do que ácidos graxos saturados, devido esse efeito estar correlacionado à quantidades de triglicerídeos (TG) e ApoB secretadas no compartimento basolateral celular, reportaram ainda que as quantidades de carotenoides e alfa-tocoferol secretadas no compartimento basolateral foram proporcionais às concentrações dos ácidos graxos presentes no compartimento apical, devido a uma secreção de maior número de quilomícrons, o que pode favorecer a bioacessibilidade desses compostos (GOLTZ et al; 2012; FAILLA et al; 2014)

Após a fritura observa-se que para os quatro óleos estudados, ocorreu uma resposta favorável sobre a incorporação de vitamina E na micela, de forma que o processo de fritura pareceu favorecer significativamente este processo. Isso pode ter ocorrido devido a mudanças nas propriedades de interface dos óleos após a fritura. Diversas alterações físico-químicas ocorrem no óleo após a fritura, afetando propriedades como densidade, viscosidade, formação e liberação de polímeros que poderão influenciar os sistemas de carregamento de compostos minoritários como a vitamina E, otimizando sua hidrofiliabilidade devido à maior agregado de triacilglicerol interferindo, portanto na resposta de bioacessibilidade (GOLTZ et al; 2012).

Além disso, a temperatura pode ter influenciado na solubilidade dos tocoferóis e tocotrienóis, o que pode ter favorecido a incorporação de vitamina E na micela (FONSECA et al; 2014), afetando consequentemente a resposta da bioacessibilidade para a fritura. Eventualmente a fritura pode ter influenciado em mudanças na permeabilidade dos tocols em relação à membrana apical e atividade de transportadores de membrana específicos, embora a hipótese em relação a

solubilidade e hidrofiliçidade da vitamina E frente à temperatura seja mais aceita (CARBONELL-CAPELLA et al., 2014).

5. CONCLUSÃO

Considerando que o presente estudo objetivou quantificar as isoformas de vitamina E em óleos vegetais refinados, pode-se observar que o teor total de vitamina E nos óleos vegetais refinados antes do tratamento térmico, foi maior no óleo de milho, seguido pelo óleo de girassol, palma e canola. Foram detectados como isoformas majoritárias de vitamina E, o alfa-tocoferol no óleo de girassol e gama-tocoferol no óleo de canola e milho. Os tocotrienóis foram detectados apenas no óleo de palma e milho, sendo gama-tocotrienol a isoforma majoritária em ambos os óleos. A fritura contínua por período de 1 hora ocasionou discreta alteração sobre os parâmetros de qualidade dos óleos e foi capaz de reduzir significativamente os teores totais de vitamina E no óleo de palma e girassol, afetando significativamente as isoformas estudadas.

Em relação à bioacessibilidade da vitamina E nos óleos, o óleo de palma apresentou teor superior, seguido do óleo de milho, canola e girassol. O óleo de palma apresentou o menor teor total de vitamina E inicial comparado ao óleo de milho e girassol, reforçando o conceito de que teores elevados de um nutriente ou composto bioativo na matriz alimentar fonte, não necessariamente estarão proporcionalmente disponíveis para serem absorvidos pelo organismo.

A relação entre o processo de fritura e a bioacessibilidade de vitamina E, foi maior após a fritura, sendo necessário maior aprofundamento e compreensão das inúmeras alterações físico-químicas geradas durante esse processo que podem afetar a resposta de solubilização e incorporação da vitamina E na micela lipídica.

REFERÊNCIAS

- ABRÃO, E. et al. Avaliação da qualidade sensorial de batata frita , óleo de soja e gordura parcialmente hidrogenada de soja em tempos de fritura variáveis. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, 63(1): n. 1, p. 80-86, 2004.
- AGGARWAL, B. B. et al. Tocotrienols, the vitamin E of the 21st century: Its potential against cancer and other chronic diseases. **Biochemical Pharmacology**, v. 80, n. 11, p. 1613-1631, 2010.
- AHMED, S. H. et al. Correlation of trans fatty acids with the severity of coronary artery disease lesions. **Lipids in Health and Disease**, v. 17, n. 1, p. 1–13, 2018.
- ALADEDUNYE, F.; PRZYBYLSKI, R.; MATTHAUS, B. Performance of antioxidative compounds under frying conditions: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 8, p. 1539–1561, 2017.
- ALMEIDA, J. K. P. DE et al. Caracterizações Físico- Químicas De Óleos Vegetais Utilizados Para Produção De Biodiesel Com Metodologias Alternativas Simples. **Enegep**, p. 14, 2011.
- ALMONDES, K.G.S; ROCHA, A.V; COZZOLINO, S M F. Vitamina E. In: COZZOLINO S M F; COMINETTI, C. (Orgs). **Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença**. Barueri: Manole, 2013.
- ALVAREZ-JUBETE, L, et al. Impact of Baking on Vitamin E Content of Pseudocereals Amaranth, Quinoa, and Buckwheat. **Cereal Chemistry**, v. 86, n.5, 2009. Disponível em: <<http://aaccipublications.aaccnet.org/doi/abs/10.1094/CCEM-86-5-0511?journalCode=cchem>>. Acesso em 15 nov.2016.
- AMARAL, Daniel Furlan. **Mercado de óleos vegetais: histórico e conjuntura**. 2017. São Paulo: ABIOVE, 2017. Disponível em: <http://www.abiove.org.br/site/_FILES/Portugues/30102017-092334-mercado_de_oleos_vegetais_-_historico_e_conjuntura_-_dfa-aea.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2017.
- ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. **Boletim Ceppa**, v. 19, p. 353–380, 2001.
- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society**. 5.th ed. Urbana, Illinois: AOCS, 2009.
- ANDRIKOPOULOS, N. K. et al. Quality assessment of frying oils and fats from 63 restaurants in Athens, Greece. **Food Service Technology**, 3, 49e59, 2003.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 19th. LATIMER JR., George W. (Editor). Gaithersburg: AOAC International, 2012.

ANWAR, K.; KAYDEN, H. J.; HUSSAIN, M. M. Transport of vitamin E by differentiated Caco-2 cells. **Journal of Lipid Research**, v. 47, n. 6, p. 1261–1273, 2006.

AUED-PIMENTEL, S. et al. Ácidos graxos trans em óleos vegetais refinados poli-insaturados comercializados no estado de São Paulo, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 646–651, 2009.

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

BATISTA, E. S; COSTA, A.G.V; SANT'ANA, H.M. Adição de vitamina E aos alimentos: implicações para os alimentos e para a saúde humana. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 20, n. 5, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rn/v20n5/a08v20n5.pdf>>. Acesso em: 12 jul.2016.

BERNI, P.R.A. **Biodisponibilidade de β caroteno em mandiocas e batatas-doces biofortificadas**: estudo dos efeitos de genótipos e processamentos. 2014. 110 f. Dissertação (Mestrado em Química na Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, CENA/USP, Piracicaba-SP.

BIANCHINI-PONTUSCHKA, R; PENTEADO, M. V. C. Vitamina E. In: PENTEADO, M de V C. **Aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. Barueri: Manole, 2003.

BOCKISCH, Michael. **Fats and oils handbool**. Champaign, Illinois: AOC Press, 1998. Update and revised translation of the original German work: Nahrungsfette ud öle, Hamburg, 1993.

BONNAIRE, L. et al. Influence of Lipid Physical State on the in Vitro Digestibility of Emulsified Lipids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 10, p. 3791–3797, maio 2008.

BORA, P. S. et al. Characterization of principal nutritional components of Brazilian oil palm (*Eliaes guineensis*) fruits. **Bioresource Technology**, v. 87, n. 1, p. 1–5, 2003.

BORTOLI, M.C; COZZOLINO S.M.F. Vitamina E (Tocoferol). In: COZZOLINO S M F (Org). **Biodisponibilidade de nutrientes**. 3. ed. Barueri: Manole, 2009.

BURTON, G. W. VITAMIN E : ANTIOXIDANT. 1990.

BUENO-BORGES, L.B.et al. A Highly Stable Soybean Oil-Rich Miscella Obtained by Ethanolic Extraction as a Promising Biodiesel Feedstock. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 94, p.1101-1109, 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11746-017-3012-0>>. Acesso: 24 maio 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n. 49, de 22 de dezembro de 2006**. Regulamento técnico de identidade e qualidade de óleos vegetais refinados.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Óleos e gorduras utilizados em frituras. **Informe Técnico n. 11, 5 out. 2004**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2747026&_101_type=content&_101_groupId=33916&_101_urlTitle=informe-tecnico-n-11-de-5-de-outubro-de-2004&inheritRedirect=true>. Acesso em: 25 fev. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n. 360, de 23 de Dezembro de 2003**. Regulamento Técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. CHOE, E.; MIN, D. B. Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science*, v. 72, n. 5, 2007.

BURTON, Graham W.; TRABER, Maret G. Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. **Annual Review of Nutrition**. Palo Alto, CA, USA, v. 10, p. 357-382, 1990.

CILLA, A. et al. Effect of processing on the bioaccessibility of bioactive compounds - A review focusing on carotenoids, minerals, ascorbic acid, tocopherols and polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2016.

CARBONELL-CAPELLA, J. M. et al. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 2, p. 155–171, 2014.

CARDOSO, Carlos et al. Bioaccessibility assessment methodologies and their consequences for the risk-benefit evaluation of food. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 41, p. 5-23, 2015.

CARLSSON, A. S.; CLAYTON, D.; SALENTIJN, E.; TOONEN, M. **Oil crop platforms for industrial uses**. York, UK: CPL Press, 2007.

CARVALHO, Maria Lúcia Braga de. **Avaliação da estabilidade termo-oxidativa do óleo das sementes de quiabo**. 2011. 87 f. Dissertação (Mestrado em Química) Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba - UFPB, João Pessoa-PB.

CARVALHO, Sabrina Matos de et al. Efeito da adição de tocoferóis naturais sobre a qualidade de óleo de soja refinado e embalado em PET durante a estocagem. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 11, n. 2, 2008. Disponível em: <<http://www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/bjft/2008/v11n28207.pdf>>. Acesso em: 15 nov. 2016.

CHITCHUMROONCHOKCHAI C.; SCHWARTZ, S.J.; FAILLA, M.L. Assessment of lutein bioavailability from meals and a supplement using simulated digestion and Caco-2 human intestinal cells. **Journal of Nutrition**, v. 134, n. 9, p. 2280-2286, 2004.

CHITCHUMROONCHOKCHA, Chureepom et. al. Potential of golden potatoes to improve vitamin A and vitamin E status in developing countries. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 12, n.11: e0187102, nov. 2017. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0187102>>. Acesso em: 2 abr. 2018.

CHOE, E.; MIN, D. B. Chemistry of deep-fat frying oils. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 5, 2007.

CLEMENTE, H. A. **Avaliação da suplementação com vitamina E na forma natural ou sintética em mulheres no pós parto imediato e sua concentração no colostro**. 2013. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Centro de Biociências. Departamento de bioquímica. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013. Disponível em: <<http://repositorio.ufrn.br:8080/jspui/bitstream/123456789/12617/1/HeleniAC DISSERT.pdf>>. Acesso em: 14 jul.2016.

CORSINI, M. D. S. et al. Perfil de ácidos graxos e avaliação da alteração em óleos de fritura. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 956–961, 2008.

CORSINI, M. DA S.; JORGE, N. Estabilidade oxidativa de óleos vegetais utilizados em frituras de mandioca palito congelada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 27–32, 2006.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Comportamento de óleos vegetais em frituras descontínuas de produtos pré-fritos congelados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 56–63, 2006.

DEL RÉ, P. V. et al. Influência da relação superfície/volume em frituras de batata palito. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 62, n. 3, p. 213 - 219, 2003.

DHUIQUE-MAYER, C. et al. Culinary practices mimicking a polysaccharide-rich recipe enhance the bioaccessibility of fat-soluble micronutrients. **Food Chemistry**, v. 210, p. 182–188, 2016.

DIMENSTEIN R, LIRA L, MEDEIROS ACP, CUNHA LRF, S. T. Efeito da suplementação com vitamina E sobre a concentração de alfa-tocoferol no colostro human. **Revista Panamericana de Saúde Pública**, v. 29, n. 6, p. 399–403, 2011.

EDEM, D. O. Palm oil: Biochemical, physiological, nutritional, hematological, and toxicological aspects: A review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 57, n. 3–4, p. 319–341, 2002.

ELISIA, I; KITTS D D. Tocopherol isoforms (α -, γ -, and δ -) show distinct capacities to control Nrf-2 and NfjB signaling pathways that modulate inflammatory response in Caco-2 intestinal cells. **Mol Cell Biochem**, v. 404, 2015. Disponível em: <<http://search.proquest.com/openview/d563dfc0879bfced936bcca0bfc41ebc/1.pdf?pq-origsite=gscholar>>. Acesso em: 19 nov 2016.

ESKIN, N. A. M. et al. Stability of low linolenic acid canola oil to frying temperatures. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 66, n. 8, p. 1081–1084, 1989.

FAILLA, M.L, et al. Unsaturated fatty acids promote bioaccessibility and basolateral secretion of carotenoids and α -tocopherol by Caco-2 cells. **Food Funct**, v.5, 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/261444047_Unsaturated_fatty_acids_promote_bioaccessibility_and_basolateral_secretion_of_carotenoids_and_alpha-tocopherol_by_Caco-2_cells>. Acesso em 8 abr 2016.

FAIRUS, S. et al. Postprandial metabolic fate of tocotrienol-rich vitamin E differs significantly from that of α -tocopherol. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Malaysia, v. 84, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17023711>>. Acesso em: 26 jul. 2016.

FERNANDES, A. M. et al. Qualidade físico-química e de fritura de tubérculos de cultivares de batata na safra de inverno. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 299–304, 2010.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E ; CARVAJAL-LÉRIDA, I ; PÉREZ-GÁLVEZ, A. In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. **Nutrition Research**, v.29, 2009. Disponível em: <[http://www.nrjournal.com/article/S0271-5317\(09\)00173-0/abstract](http://www.nrjournal.com/article/S0271-5317(09)00173-0/abstract)>. Acesso em: 25 maio 2016.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Medicina**, v. 43, n. 1, p. 61–68, 1997.

FIB. Dossiê Óleos. ÓLEOS. **Food Ingredients Brasil**, n.31, p. 38-55, 2014. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/416.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2016.

FILLION, L.; HENRY, C. J. K. Nutrient losses and gains during frying: A review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 49, n. 2, p. 157–168, 1998.

FONSECA, L. G.; et al. ANÁLISE DA VARIAÇÃO DA SOLUBILIDADE DE ALFA-TOCOFEROL COM A TEMPERATURA EM MISTURA ETANOL+ÁGUA, p. 15949-15956 . In: **Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ 2014 [= Blucher Chemical Engineering Proceedings, v.1, n.2]**. São Paulo: Blucher, 2015.

FREIRE, P. C. M.; MANCINI-FILHO, J.; FERREIRA, T. A. P. DE C. Principais alterações físico-químicas em óleos e gorduras submetidos ao processo de fritura por imersão: Regulamentação e efeitos na saúde. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 26, n. 3, p. 353–358, 2013.

FU, J.Y. et al. Bioavailability of tocotrienols: evidence in human studies. **Rev. Nutrition & Metabolism**, Malaysia, v. 11, n. 5, 2014. Disponível em: <<http://www.nutritionandmetabolism.com/content/11/1/5>>. Acesso em: 20 jul. 2016.
FUNARO, Vânia Martins Bueno de Oliveira (Coord.). **Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP**. Parte I (ABNT). 3. ed. rev. amp. Mod. São Paulo: USP/SIB, 2016.

GARCIA, Eliana Maria. **Dissertação/tese da Esalq**. 2018. Disponível em: <<http://www4.esalq.usp.br/modelo/apoio-a-producao-academica>>. Acesso em: 3 abr. 2018.

GARCIA, Eliana Maria; CARMO, Ligiana Clemente do; FERRAZ, Kátia Maria de Andrade. **Normas para elaboração de dissertações e teses**. 3. ed. Piracicaba: ESALQ/USP, 2005.

GARRETT, D. A., FAILLA, M. L., SARAMA, R. J. Development of an in vitro digestion method to assess carotenoid bioavailability from meals. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 47, p. 4301-4309, 1999.

GAZZOLA, A. et al. **A cultura do girassol**. Piracicaba: FEALQ, 2012.

GLEIZE, B. et al. Effect of type of TAG fatty acids on lutein and zeaxanthin bioavailability. **British Journal of Nutrition**, v. 110, n. 1, p. 1-10, 2012.

GOH, L. P. et al. Bioaccessibility of carotenoids and tocopherols in marine microalgae, *Nannochloropsis* sp. and *Chaetoceros* sp. **Malaysian Journal of Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 77–86, 2009.

GOLTZ, S. R. et al. Meal triacylglycerol profile modulates postprandial absorption of carotenoids in humans. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 56, n. 6, p. 866–877, 2012.

GHIDURUS, M. et al. Nutritional and health aspects related to frying (I). **Romanian Biotechnological Letters**. Berlin, v. 15, n. 6, p. 5675–5682, 2010.

GONÇALVES, A. et al. Fat-soluble vitamin intestinal absorption: Absorption sites in the intestine and interactions for absorption. **Food Chemistry**, v. 172, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614013880>>. Acesso em: 12 out 2016.

GONÇALVES RIOS, M. D.; CAMARGO PENTEADO, M. D. V. Determinação de α -tocoferol em alho irradiado utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). **Revista Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 10–12, 2003.

GRANADO-LORENCIO, F. et al. Bioavailability of carotenoids and α -tocopherol from fruit juices in the presence of absorption modifiers: In vitro and in vivo assessment. **British Journal of Nutrition**. Cambridge, v. 101, n. 4, p. 576–582, 2006.

GRANADO-LORENCIO, F. et al. In vitro bioaccessibility of carotenoids and tocopherols from fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 641–648, 2007.

GUINAZI, Michele et al. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Revista Química Nova** [online]. São Paulo, v. 32, n. 8, p. 2098-2103, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422009000800021&script=sci_arttext>. Acesso em: 8 abr.2016.

GUTIERRES, J. M. et al. α -Tocopherol regulates ectonucleotidase activities in synaptosomes from rats fed a high-fat diet. **Cell Biochemistry and Function**, v. 30, n. 4, p. 286–292, 2012.

GRILO, E. C. et al. Alpha-tocopherol and gamma-tocopherol concentration in vegetable oils. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 34, n. 2, p. 379-385, 2014.

GUNSTONE, Frank D. Vegetable Oils. In: SHAHIDI, Fereidoon. **Bailey's industrial oil & fat products: edible oil & fat products chemistry, properties & health effects**. 6. ed. New Jersey: Wiley Interscience, 2005. v.1.

HERRERO-BARBUDO, M. C. et al. Applicability of an in vitro model to assess the bioaccessibility of vitamins A and E from fortified commercial milk. **International Dairy Journal**, v. 19, n. 1, p. 64–67, 2009.

HUSAIN, K. et al. Vitamin E -Tocotrienol Augments the Antitumor Activity of Gemcitabine and Suppresses Constitutive NF- B Activation in Pancreatic Cancer. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 10, n. 12, p. 2363–2372, 2011.

INSTITUTE OF MEDICE (IOM). Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. Washington (D.C): **National Academy Press**, 2000. Disponível em : <<http://www.ufjf.br/nutricao/files/2008/08/DRI-vitaminas.pdf>>. Acesso em: 15 abr. 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo, 2008. p. 677. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=20>. Acesso em: 8 abr. 2016.

JOHNSON, C.H. et al. Novel metabolites and roles for α -tocopherol in humans and mice discovered by mass spectrometry-based metabolomics. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bern, v. 96, n.4, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3441109/>>. Acesso em: 10 jul. 2016.

JORGE, N. et al. Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho e soja em frituras. **Revista Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 947–951, 2005.

JORGE, N.; LUNARDI, V. M. **Comportamento de óleos poliinsaturados em frituras descontínuas de batatas**. Alimentos e Nutrição, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 119-124, 2004.

JUÁREZ, María Daniela et al. Degradation in soybean oil, sunflower oil and partially hydrogenated fats after food frying, monitored by conventional and unconventional methods. **Food Control**, 22(12):1920-7, 2011.

KAMAT, J. P.; DEVASAGAYAM, T. P. A. Tocotrienols from palm oil as potent inhibitors of lipid peroxidation and protein oxidation in rat brain mitochondria. **Neuroscience Letters**, v. 195, n. 3, p. 179–182, 1995.

KAYDEN, H. J.; TRABER, M. G. Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans. **Journal of Lipid Research**, v. 34, p. 343–358, 1993.

KENNY, O.; O'CALLAGHAN, Y.; O'BRIEN, N. M. Effects of ingredient incorporation into sausage meat on the micellarisation and uptake of α -tocopherol by Caco-2 human intestinal cells. **Food Science and Technology International**, v. 14, n. 1, p. 79–86, 2008.

KIENEN, Vanessa. **Desenvolvimento de método cromatográfico limpo para a determinação de vitaminas lipossolúveis em alimentos explorando a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e ambientes micelares**. 2007. 92 f. Dissertação (Mestrado em Química). Centro de ciências exatas. Departamento de química. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2007. Disponível em <<http://nou-rau.uem.br/nou-rau/document/?code=vtls000183935>>. Acesso em: 20 abr. 2016.

KRATZ, Jadel Müller. **Implementação e aplicação do modelo in vivo em células Caco 2 para estudo da permeabilidade intestinal de fármacos**. 2011. 186 f. Tese (Doutorado) – Departamento de Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/95611/294811.pdf?sequence=1>>. Acesso em 23 ago. 2016.

LANGLOIS, P. L. et al. ω -3 polyunsaturated fatty acids in cardiac surgery patients: a hearty win for the fish. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. XX, n. X, p. 1-3, 2006.

LE FERRECE, E. et al. **In vitro models of the intestinal Barrier**. The report and recommendations of ECVAM Workshop 46. ATLA 29, 2001.

LEMARCHAL, P. et al. Biochemical and nutritional characteristics of oils and fats. 2. Fatty acid, vitamin and sterol requirements. In: KARLESKIND, A. (Editor). **Oils & fats manual. A comprehensive treatise: properties, production, applications**. Andover, UK: Lavoisier Publishing/Intercept, 1996. V. 1. p. 577-593.

LUZ, Djavanira Azevedo da. **Estudo da degradação da vitamina E (α -tocoferol) durante as etapas de refino do óleo de babaçu (*orbignya phalerata*, Mart.): validação de um método**. 2011. 94 f. Tese (Doutorado em Química) - Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba - UFPB, João Pessoa-PB.

MACHADO, E. R.; DOBARGANES GARCÍA, M. D. C.; ABRANTES, S. D. M. P. Alterações dos óleos de palma e de soja em fritura descontínua de batatas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 786–792, 2008.

MAESTRE, R, et al. Alterations in the Intestinal Assimilation of Oxidized PUFAs Are Ameliorated by a Polyphenol-Rich Grape Seed Extract in an In Vitro Model and Caco-2 Cells. **The Journal of Nutrition**, USA, v.16, 2013. Disponível em: <<http://jn.nutrition.org/content/143/3/295.long>>. Acesso em: 9 nov.2016.

MAH, E. et al. α -Tocopherol bioavailability is lower in adults with metabolic syndrome regardless of dairy fat co-ingestion: A randomized, double-blind, crossover trial. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 102, n. 5, p. 1070-1080, 2015.

MALACRIDA, C.R.; JORGE, N. Alterações do óleo de soja em frituras: efeitos da relação superfície/volume e do tempo de fritura. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 129, p. 25-31, 2005.

MANDALARI, G. et al. Bioaccessibility of pistachio polyphenols, xanthophylls, and tocopherols during simulated human digestion. **Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 338–344, 2013.

MARTIN, C. A. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: Importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761–770, 2006.

MAYER, S.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Behavior of vitamin E acetate delivery systems under simulated gastrointestinal conditions: Lipid digestion and bioaccessibility of low-energy nanoemulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 404, p. 215–222, 2013.

MERRILL, Lilon I. et al. Oxidative Stability of Conventional and High-Oleic Vegetable Oils with Added Antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Provo, n. 85, p.771-776, 03 jun. 2008.

MORI, C. DE; KURTZ, P.; TOMM, G. O. Aspectos econômicos e conjunturais da cultura da canola no mundo e no Brasil. **Embrapa Trigo**, p. 36, 2014.

MOURÃO, D. M. et al. Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 4, p. 529–539, 2005.

MOURÃO, D.M. et al. Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.18, n.4, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rn/v18n4/25850>>. Acesso em: 8 jul. 2016.

NOLASCO, S.M.; AGUIRREZABAL, L.A.N.; CRAPISTE, G.H. Tocopherol oil concentration in field-grown sunflower is accounted for by oil weight per seed. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 81, n. 11, p. 1045-1051, 2004.

NOVOTNY, J.A. et al. This kinetic, bioavailability, and metabolism study of RRR- α -tocopherol in healthy adults suggests lower intake requirements than previous estimates. **The Journal of Nutrition**, USA, v.142, n.12, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3497961/>>. Acesso em: 12 jul. 2016.

O'BRIEN, Richard D. **Fats and Oils: Formulating and processing for applications**. 2nd ed. Boca Raton/Florida: CRC Press, 2004.

O'CALLAGHAN, Y; O'BRIEN, N. Bioaccessibility, cellular uptake and transepithelial transport of α -tocopherol and retinol from a range of supplemented foodstuffs assessed using the caco-2 cell model. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p.1436-1442, 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.2010.02285.x/abstract>>. Acesso em 8 abr. 2016.

OSAWA, C.C.; GONÇALVES, L.A.G.; MENDES, F. M. Avaliação dos óleos e gorduras de fritura de estabelecimentos comerciais da cidade de Campinas/SP. As boas práticas de fritura estão sendo atendidas? Evaluation. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. ISSN 0103-4235, p. 47–55, 2010.

PACKER, L; WEBER, S U; RIMBACH, G. Molecular Aspects of α -Tocotrienol Antioxidant Action and Cell Signalling. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 2, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11160563>> Acesso em 8 abr. 2016.

PAES, M. C. D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. EMBRAPA. **Circular Técnica 75**, v. 75, p. 6, 2006.

PAIXÃO, J. A. da; STAMFORD, T. L. M. Vitaminas lipossolúveis em alimentos – uma abordagem analítica. **Revista Química Nova**, Recife, v. 27, n.1, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000100020>. Acesso em: 20 abr. 2016.

PERINI, J.A.L. Ácidos graxos poli-insaturado n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Revista de Nutrição**, Campinas, 23(6), p. 1075-1086, 2010.

PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. et al. Method for simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in various foods by high performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 47, p. 8496–8502, 2011.

PLAYER, M. E. et al. Stability of α -, γ -, or δ -Tocopherol during Soybean Oil Oxidation. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 8, p. 456–460, 2006.

QUADROS, D. A. de et al. Composição química de tubérculos de batata para processamento, cultivados sob diferentes doses e fontes de potássio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 316–323, 2009.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A Química dos óleos e gorduras e seus processos de extração e refino. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 1, p. 2–15, 2013.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Revista Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755–760, 2006.

REBOUL, E. et al. Bioaccessibility of carotenoids and vitamin E from their main dietary sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 23, p. 8749–8755, 2006.

REDA, S. Y.; CARNEIRO, P. I. B. Óleos e Gorduras: Aplicações e Implicações. **Revista Analytica**, v. 27, p. 60–67, 2007.

REGITANO D'ARCE, M. A. B. Química básica dos Lipídeos. In: OETTERER M; REGITANO D'ARCE, M. A. B; SPOTO M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006. p.196-242.

RIGOTTI, A. Absorption, transport, and tissue delivery of vitamin E. **Molecular Aspects of Medicine**, v.28, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098299707000118>>. Acesso em: 9 nov. 2016.

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**, 102(3), 812 e 817, 2007.

SANIBAL, E.A.A; MANCINI FILHO, J. Alterações físicas, químicas e nutricionais de óleos submetidos ao processo de fritura. **Food Ingredients Brasil, Caderno de Tecnologia de Alimentos e Bebidas**, p. 48-54, 2002. Disponível em: <<http://hygeia.fsp.usp.br/~eatorres/gradu/frituras.pdf>>. Acesso em: 25 abr. 2017.

SAVAGE, G. P.; MCNEIL, D. L.; DUTTA, P. C. Lipid composition and oxidative stability of oils in hazelnuts (*Corylus avellana* L.) grown in New Zealand. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 74, n. 6, p. 755–759, 1997.

SHAHIDI, Fereidoon. **Bailey's industrial oil & fat products: edible oil & fat products chemistry, properties & health effects**. 6th. New Jersey: Wiley Interscience, 2005. v.1.

SAYYAD, R. Effects of deep-fat frying process on the oil quality during French fries preparation. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 8, p. 2224-2229, 2017.

SEN, C. K.; KHANNA, S.; ROY, S. Tocotrienol: The natural vitamin E to defend the nervous system? **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1031, p. 127–142, 2004.

SILVA, A. P. et al. Ácidos graxos plasmáticos, metabolismo lipídico e lipoproteínas de ratos alimentados com óleo de palma e óleo de soja parcialmente hidrogenado. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 2, p. 229–237, 2005.

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

SILVA, Marta Gomes da. **Macadâmia nacional: Tocoferóis e caracterização físico-química**. 2003. 75 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, 2003. Disponível em: <http://www.repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/254298/1/Silva_MartaGomesda_M.pdf>. Acesso em: 8 jun. 2016.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 21, n. 6, p. 495–505, 2002.

SOLUTIONS 3M. A ciência por trás de soluções de limpeza: O processo de fritura. **Food Service**, 2018. Disponível em: <http://solutions.3m.com.br/wps/portal/3M/pt_BR/FoodService/Home/InfAdicionais/SaibaMais/?PC_Z7_RJH9U523009AE0IGTLJJ631SG2000000_assetId=1180613861187>. Acesso em: 25 abr. 2018.

SOUZA, A. M. Alimentos mais consumidos no Brasil: Inquérito Nacional de alimentação 2008-2009. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 47, supl. 1. fev. p. 190s-199s, 2013.

SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos: estrutura, classificação, nutrição e saúde. **Arq. Apadec**, 2(2): p. 102-107, jul.dez., 1998. Disponível em: <<http://eduem.uem.br/ojs/index.php/ArqMudi/article/viewFile/16516/8934>>. Acesso em: 07 abr. 2018.

SUARNA, C. et al. Comparative antioxidant activity of tocotrienols and other natural lipid-soluble antioxidants in a homogeneous system, and in rat and human lipoproteins. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Lipids and Lipid Metabolism**, v. 1166, n. 2–3, p. 163–170, 1993.

TAKEOKA, G. R.; FULL, G. H.; DAO, L. T. Effect of Heating on the Characteristics and Chemical Composition of Selected Frying Oils and Fats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 8, p. 3244–3249, 1997.

TOMPKINS, Carol; PERKINS, Edward G. Frying Performance of Low-Linolenic Acid Soybean Oil. **Journal of the American oil Chemists' Society**. Urbana, Illinois, v. 77, n. 3, p. 223-229, mar. 2000.

TRABER, M. G. Vitamin E Regulatory Mechanisms. **Annual Review of Nutrition**, v. 27, n. 1, p. 347–362, 2007.

VIANNI, R.; BRAZ-FILHO, R. **Ácidos graxos naturais**: importância e ocorrência em alimentos. São Paulo: Química Nova, 1996.

YAMAUCHI, R. Vitamin E: Mechanism of Its Antioxidant Activity. **Food Science and Technology International**, Tokyo, v. 3, n. 4, p. 301–309, 1997.

YANG, Y.; MCCLEMENTS, D. J. Vitamin E and Vitamin E acetate solubilization in mixed micelles: Physicochemical basis of bioaccessibility. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 405, p. 312–321, 2013.

YANG, Y.; XIAO, H.; MCCLEMENTS, D. J. Impact of Lipid Phase on the Bioavailability of Vitamin E in Emulsion-Based Delivery Systems: Relative Importance of Bioaccessibility, Absorption, and Transformation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 19, p. 3946–3955, 2017.

YING, Y; MCCLEMENTS, D J. Vitamin E bioaccessibility: Influence of carrier oil type on digestion and release of emulsified α -tocopherol acetate. **Food Chemistry**, v.141, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613003361>>. Acesso em: 8 abr, 2016.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Cromatogramas – Óleo de Girassol

Figura 1 – Óleo de Girassol refinado *in natura*.

Figura 2 – Óleo de Girassol refinado fritura.

Figura 3 – Fração micelar óleo de Girassol.

Figura 4 – Fração micelar óleo de Girassol fritura.

APÊNDICE B

Cromatogramas – Óleo de Canola

Component	Retention	Area	External
Alfa Tocoferol	4,566	1178,3515	2,9677
Alfa Tocotrienol	0,000	0,0000	0,0000
Beta Tocoferol	0,000	0,0000	0,0000
Gama Tocoferol	6,750	2347,1095	4,8005
Gama Tocotrienol	0,000	0,0000	0,0000
Delta tocoferol	9,383	152,7770	0,2461
Delta Tocotrienol	0,000	0,0000	0,0000
		3678,2380	8,0143

Figura 1– Óleo de canola refinado *in natura*.

Component	Retention	Area	External
Alfa Tocoferol	4,566	1144,6080	2,8791
Alfa Tocotrienol	0,000	0,0000	0,0000
Beta Tocoferol	0,000	0,0000	0,0000
Gama Tocoferol	6,750	2232,3540	4,5627
Gama Tocotrienol	0,000	0,0000	0,0000
Delta tocoferol	9,433	130,2240	0,2097
Delta Tocotrienol	0,000	0,0000	0,0000
		3507,1860	7,6514

Figura 2 – Óleo de Canola refinado fritura.

Figura 3 – Fração micelar óleo de Canola.

Figura 4 – Fração micelar óleo de Canola fritura.

APÊNDICE C

Cromatogramas – Óleo de Palma

Figura 1 – Óleo de Palma refinado *in natura*.

Figura 2 – Óleo de Palma refinado fritura.

Figura 3 – Fração micelar óleo de Palma.

Figura 4 – Fração micelar óleo de Palma fritura.

APÊNDICE D

Cromatogramas – Óleo de Milho

Figura 1 – Óleo de Milho refinado *in natura*.

Figura 2 – Óleo de Milho refinado fritura.

Figura 3 – Fração micelar óleo de Milho.

Figura 4 – Fração micelar óleo de Milho fritura.