

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial
Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

**Estudo da vida útil do azeite extravirgem e da extração por ultrassom de extrato
lipídico de bagaço de oliva**

Candice Soares Dias

Pelotas, 2022

Candice Soares Dias

Estudo da vida útil do azeite extravirgem e da extração por ultrassom de extrato lipídico de bagaço de oliva

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de orientação:

Prof^a. Rosane da Silva Rodrigues - UFPel

Prof^a Valéria Terra Crexi - Unipampa

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

D541e Dias, Candice Soares

Estudo da vida útil do azeite extravirgem e da extração por ultrassom de extrato lipídico de bagaço de oliva / Candice Soares Dias ; Rosane da Silva Rodrigues, orientadora ; Valéria Terra Crexi, coorientadora. — Pelotas, 2022.

86 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. *Olea europaea* L.. 2. Azeitona. 3. Resíduo. 4. Armazenamento. 5. Extração de óleo. I. Rodrigues, Rosane da Silva, orient. II. Crexi, Valéria Terra, coorient. III. Título.

CDD : 665.3

Candice Soares Dias

Título: Estudo da vida útil do azeite extravirgem e da extração por ultrassom de extrato lipídico de bagaço de oliva

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 26/10/2022

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Josiane Freitas Chim
Doutora em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dr^a. Miriane Lucas Azevedo
Doutora em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas

Dr^a. Patrícia Prati
Doutora em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Paulo Fernando Marques Duarte Filho
Doutor em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dr^a. Rosane da Silva Rodrigues (Orientadora)
Doutora em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas

Prof^a. Dr^a. Valéria Terra Crexi (Co-orientadora)
Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande

Dedico este trabalho as minhas filhas, Laura e Antônia, a minha mãe pelo apoio e ao meu amado incentivador Luciano.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer imensamente a minha orientadora Professora Doutora Rosane da Silva Rodrigues e a co-orientadora Professora Doutora Valéria Terra Crexi, por toda a paciência, empenho e ajuda que tiveram na orientação deste trabalho e muito obrigada pelo incentivo e pelos puxões de orelha quando necessário para motivar.

Desejo igualmente agradecer a todos os meus colegas do Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, especialmente a Vivian a Camila e a Gabriela pela companhia da fronteira e a Marcia pelos seminários e trabalhos em grupo.

Como não agradecer a Profa Miriane A. e pela Profa. Catarina M. pela oportunidade profissional de ajudar a concretizar o Projeto de Desenvolvimento Tecnológico e Inovação Aplicados aos Olivais da Região da Campanha, e assim concretizar este trabalho.

Claro que para concretizar este trabalho contei com a ajuda de várias pessoas, mas sem esquecer nunca dos queridos alunos Wellington, Tiago, Diegho, Marcelo e Rogério, graduados que durante o percurso da graduação e mesmo após, contribuíram com seus conhecimentos. Todos ajudaram a ultrapassar grandes obstáculos.

Por último, quero agradecer à minha família pelo apoio incondicional que me deram, por estarem presentes em todos os momentos.

Resumo

DIAS, Candice Soares. **Estudo da vida útil do azeite extravirgem e da extração por ultrassom de extrato lipídico de bagaço de oliva** 2022. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

A produção de azeite de oliva tem se desenvolvido no Brasil e em especial no Rio Grande do Sul. A qualidade dos azeites de oliva, bem como sua vida útil, são importantes aspectos a serem considerados. O estudo da vida útil é necessário para compreender as reações e fatores de degradação do azeite e desta forma determinar o tempo para sua validade. O processamento do azeite gera como resíduos o bagaço de oliva e as águas residuais. O bagaço de oliva tem sido utilizado como composto orgânico, porém é fonte de uma fração lipídica. Objetivou-se investigar os parâmetros de qualidade do azeite extravirgem comercial produzido na Região da Campanha no Rio Grande do Sul durante o armazenamento, e o método de extração por ultrassom assistida para recuperar o extrato lipídico do bagaço de oliva do resíduo da agroindústria de azeite. O azeite de oliva comercial foi caracterizado no tempo zero, comparativamente aos critérios e limites preconizados em órgãos nacionais e internacionais. O azeite foi mantido ao longo de 18 meses com incidência de luz natural e artificial durante o dia e no escuro à noite, sob temperatura ambiente (16,1 a 26,5°C), período em que foi avaliado quanto aos parâmetros de qualidade estabelecidos pela legislação brasileira, e aos compostos fenólicos totais. O azeite manteve-se estável até o 8º mês quando apresentou valor de 0,23 para coeficiente de extinção a 270nm, no 14º mês com 2,52 para coeficiente de extinção a 232nm e no 17º mês com acidez livre de 0,90% em ácido oleico. As alterações químicas constatadas até o 18º mês evidenciaram deterioração e comprometimento à qualidade do azeite, embora não o classifique como impróprio para o consumo. O bagaço de oliva *in natura* resultante da extração do azeite pelo processo de duas fases e o bagaço liofilizado foram caracterizados, apresentando, respectivamente, 70,77 e 7,25% de umidade, 1,52 e 2,48% de cinzas, 7,71 e 22,57% de lipídios, 1,48 e 11,93 % de proteínas, 7,84 e 24,87% de fibra bruta e 10,68 e 30,95% de outros carboidratos; também foi avaliada a atividade antioxidante que foi de 93,27 e 91,22% de inibição (radical DPPH[•]) e o conteúdo total de compostos fenólicos que foi de 65,17 e 111,22 mg EAG 100 g⁻¹ de óleo. Para obtenção do extrato lipídico do bagaço por ultrassom, o bagaço liofilizado foi acrescido do solvente (etanol) e submetido à sonicação em diferentes proporções bagaço:solvente (1:2 a 1:18), tempos (30 a 60 minutos) e temperaturas de extração (30 a 60°C), segundo planejamento experimental fatorial completo (2³). As variáveis resposta foram rendimento de extrato lipídico, fenóis totais e atividade antioxidante. Na extração do extrato lipídico de bagaço de oliva o maior rendimento foi de 44,41% no tratamento onde a proporção foi de 1:10, tempo de 45 min e temperatura de 45°C. Já a recuperação de compostos fenólicos do extrato lipídico de bagaço de oliva obteve melhor resultado no tratamento com 130,62mg de EAG 100 g⁻¹ de óleo na proporção de 1:2, tempo de 60 min e temperatura de 30°C. A atividade antioxidante do extrato lipídico foi preservada em todas as condições de trabalho estudadas, demonstrando eficácia do método que não degradou compostos de interesse para este parâmetro.

Palavras-chaves: *Olea europaea* L. Azeitona. Resíduo. Armazenamento. Extração de óleo.

Abstract

DIAS, Candice Soares. **Study of the shelf life of extra virgin olive oil and Ultrasonic extraction of olive pomace oil** 2022. 86f. Dissertation (Master's in Food Science and Technology) – Professional Master's Course in Food Science and Technology, Faculty of Agronomy "Eliseu Maciel", Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

The production of olive oil has developed in Brazil and especially in Rio Grande do Sul. The quality of olive oils, as well as their shelf life, are important aspects to be considered. The study of shelf life is necessary to understand the reactions and degradation factors of olive oil and thus determine the time for its shelf life. The processing of olive oil generates olive pomace and wastewater as waste. Olive pomace has been used as an organic compound, but it is a source of a lipid fraction. The objective was to investigate the quality parameters of commercial extra virgin olive oil produced in the Campanha Region in Rio Grande do Sul during storage, and the ultrasound-assisted extraction method to recover the lipid extract of olive pomace from the residue of the olive oil agroindustry. Commercial olive oil was characterized at zero time, compared to the criteria and limits recommended by national and international bodies. The oil was kept for 18 months with the incidence of natural and artificial light during the day and in the dark at night, at room temperature (16.1 to 26.5°C), during which time it was evaluated for quality parameters established by Brazilian legislation, and the total phenolic compounds. The oil remained stable until the 8th month when it presented a value of 0.23 for an extinction coefficient at 270nm, in the 14th month with 2.52 for an extinction coefficient at 232nm and in the 17th month with a free acidity of 0.90% in ac, oleic. The chemical changes observed up to the 18th month showed deterioration and compromised the quality of the oil, although it does not classify it as unfit for consumption. The in natura olive pomace resulting from the extraction of olive oil by the two-phase process and the lyophilized pomace were characterized, presenting, respectively, 70.77 and 7.25% of moisture, 1.52 and 2.48% of ash, 7.71 and 22.57% of lipids, 1.48 and 11.93% of proteins, 7.84 and 24.87% of crude fiber and 10.68 and 30.95% of other carbohydrates; the antioxidant activity was also evaluated, which was 93.27 and 91.22% of inhibition (radical DPPH[•]) and the total content of phenolic compounds, which was 65.17 and 111.22 mg EAG 100g⁻¹ of oil. To obtain the bagasse lipid extract by ultrasound, the lyophilized bagasse was added with solvent (ethanol) and subjected to sonication at different bagasse:solvent ratios (1:2 to 1:18), times (30 to 60 minutes) and temperatures of extraction (30 to 60°C), according to a complete factorial experimental design (23). Response variables were lipid extract yield, total phenols and antioxidant activity. In the extraction of lipid extract from olive pomace, the highest yield was 44.41% in the treatment where the proportion was 1:10, time of 45 min and temperature of 45°C. The recovery of phenolic compounds from the lipid extract of olive pomace obtained better results in the treatment with 130.62mg of EAG 100g⁻¹ of oil in the proportion of 1:2, time of 60 min and temperature of 30°C. The antioxidant activity of the lipid extract was preserved in all working conditions studied, demonstrating the effectiveness of the method that did not degrade compounds of interest for this parameter.

Keywords: *Olea europaea* L. Olive. Residue. Storage. Oil extraction.

Lista de Figuras

Figura 1	Ilustração com a localização dos produtores e lagares do Rio Grande do Sul.	21
Figura 2	Fluxograma adaptado do conjunto extrator 500Kg/hora/azeitona dimensionado pela Fast Industria e Comércio LTDA.	25
Figura 3	Composição do azeite de oliva: frações saponificável e insaponificável. .	27
Figura 4	Estruturas de alguns compostos fenólicos encontrados em azeite de oliva virgem: 1) Ácido Gálico; 2) Ácido <i>p</i> hidroxibenzoico; 3) Ácido 3,4-dihidroxibenzoico; 4) Ácido Vanílico; 5) Ácido Cinâmico; 6) Ácido Cafeico; 7) Ácido <i>p</i> -cumárico; 8) Ácido Ferrúlico; 9) Tiroso; 10) Hidroxitiroso; 11) Luteolina; 12) Apigenina; 13) Oleuropeína.	31
Figura 5	Esquema básico do funcionamento de um liofilizador.....	37
Figura 6	Ilustração do processo de cavitação.	39
Figura 7	Coleta do bagaço de oliva após a centrifugação para separação azeite/bagaço.	42
Figura 8	Liofilizador utilizado na redução do teor de umidade do bagaço de oliva. (A) Bomba de vácuo, utilizada para redução da pressão (até ponto de sublimação da água); (B) Câmara (campânula/ plataforma) em acrílico; (C) Tampa superior em aço inox acoplada de válvulas para controle do vácuo; (D) Estante e bandejas do liofilizador; (E) Painel eletrônico do equipamento.	45
Figura 9	Banho ultrassônico empregado nas extrações do extrato lipídico de bagaço de oliva.	46
Figura 10	Variação do índice de peróxido em azeite de oliva comercial tipo extravirgem, produzido na Região da Campanha, RS, em 2017, durante 18 meses de armazenamento em temperatura ambiente.	52
Figura 11	Variação da acidez em azeite de oliva comercial tipo extravirgem, produzido na Região da Campanha, RS, em 2017, durante 18 meses de armazenamento em temperatura ambiente.	53
Figura 12	Variação do coeficiente de extinção em azeite de oliva comercial tipo extravirgem, produzido na Região da Campanha, RS, em 2017, durante 18 meses de armazenamento em temperatura ambiente.	54

Figura 13	Variação na concentração de compostos fenólicos totais em azeite de oliva comercial tipo extravirgem, produzido na Região da Campanha, RS, em 2017, durante 18 meses de armazenamento em temperatura ambiente.	55
Figura 14	Diagrama de Pareto com representação dos efeitos estimados das variáveis estudadas sobre o rendimento do extrato lipídico do bagaço de oliva liofilizado extraído por ultrassom.	63
Figura 15	Diagrama de Pareto com representação dos efeitos estimados das variáveis estudadas sobre a concentração de fenóis totais do extrato lipídico do bagaço de oliva liofilizado extraído por ultrassom.	64
Figura 16	Diagrama de Pareto com representação dos efeitos estimados das variáveis estudadas sobre atividade antioxidante do extrato lipídico do bagaço de oliva liofilizado extraído por ultrassom.	65

Lista de Quadros

Quadro 1	Limites de tolerância de parâmetros de qualidade do azeite de oliva e do extrato lipídico de bagaço de oliva conforme Instrução Normativa MAPA nº 1, de 30 de janeiro de 2012 (BRASIL, 2012).	23
Quadro 2	Limites de tolerância de parâmetros análises complementares do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva conforme Instrução Normativa MAPA nº 1, de 30 de janeiro de 2012 (BRASIL, 2012).	28
Quadro 3	Composição química do bagaço de oliva proveniente de centrifugação de duas fases.	35

Lista de Tabelas

Tabela 1	Matriz do planejamento experimental fatorial completo (2^3), com as variáveis reais e codificadas, para extração do extrato lipídico do bagaço liofilizado por ultrassom.	47
Tabela 2	Caracterização do azeite de oliva comercial tipo extravirgem, produzido na Região da Campanha, RS, em 2017, e parâmetros de identidade e qualidade segundo a legislação.	49
Tabela 3	Avaliações químicas do azeite de oliva comercial tipo extravirgem, produzido na Região da Campanha, RS, em 2017, armazenado durante 18 meses em temperatura ambiente (16,1 a 26,5°C).	51
Tabela 4	Composição centesimal, em base úmida (BU) e base seca (BS), compostos fenólicos e atividade antioxidante do bagaço de oliva <i>in natura</i> e do bagaço de oliva liofilizado, obtidos na Região da Campanha, RS, em 2019.	58
Tabela 5	Respostas da matriz do planejamento experimental fatorial completo (2^3), para extração do extrato lipídico de bagaço liofilizado por ultrassom.	61
Tabela 6	Efeito estimado, erro puro e grau de significância estatística (p) para o rendimento do processo, teor de fenóis totais e atividade antioxidante na extração do extrato lipídico de bagaço de oliva liofilizado por ultrassom.	62

Sumário

1.	Introdução	14
2.	Objetivo	18
	2.1. Objetivo geral	18
	2.2. Objetivos específicos	18
3.	Hipóteses	19
4.	Revisão de literatura	20
	4.1 A cultura da oliveira	20
	4.2 Classificação e requisitos de qualidade do azeite de oliva	21
	4.3 Processamento do azeite de oliva virgem	24
	4.4 Composição físico-química do azeite de oliva	27
	4.5 Bagaço de oliva	34
	4.6 Extração sólido-líquido assistida por ultrassom	38
5.	Material e métodos	41
	5.1 Material	41
	5.2 Metodologia	42
6.	Resultados e discussão	49
	6.1 Vida útil do azeite de oliva comercial	49
	6.2 Composição centesimal, teor de fenóis totais e atividade antioxidante do bagaço de oliva	57
	6.3 Extração do extrato lipídico do bagaço liofilizado por UAE	60
7.	Considerações finais	68
	Referências	70

1 Introdução

O azeite de oliva é cada vez mais popular em todo o mundo, não só devido as suas características sensoriais, mas também pelos potenciais efeitos benéficos à saúde associados ao seu consumo. Tais efeitos fisiológicos são atribuídos ao seu perfil de ácidos graxos, bem como à presença de outros componentes químicos, como tocoferóis, fosfolipídios e compostos fenólicos (COVAS, 2007; MELLO & PINHEIRO, 2012).

A qualidade dos azeites de oliva, bem como sua vida útil, está diretamente associada à sua composição química, a qual depende de fatores agrônômicos, das condições edafoclimáticas, da variedade e estágio de maturação da oliva, de fatores tecnológicos relacionados com a extração (como o método e tipo de equipamentos utilizados), bem como das condições de colheita, armazenamento, embalagem e transporte do produto (RODEGHIERO, 2016).

No Brasil, a Instrução Normativa nº 1, de 30 de janeiro de 2012 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, que estabelece o “Regulamento Técnico do Azeite de Oliva e do Óleo de Bagaço de Oliva”, define o padrão oficial de classificação do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva, considerando seus requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto (BRASIL, 2012). A vida útil, contudo, é definida pelas empresas/produtores caso a caso, levando em conta fatores da colheita e produção, variedade das azeitonas utilizadas e as embalagens.

O azeite quando armazenado para comercialização sofre processos químicos que afetam negativamente suas propriedades durante seu prazo de validade, particularmente mudanças nas concentrações dos compostos com potenciais efeitos à saúde, os quais predominam no azeite fresco. A embalagem, a temperatura e a luminosidade são fatores que podem influenciar no tempo de degradação dos compostos, envelhecendo o azeite; por isso é necessário estudar o comportamento dos parâmetros estabelecidos na normativa brasileira durante a vida útil e a degradação

dos compostos químicos desejáveis no azeite e assim obter os benefícios do consumo do produto durante sua vida útil.

Como o azeite brasileiro é um produto relativamente novo, ficou estabelecido a validade baseado na cultura de outros países, estando em torno de 6 a 24 meses (FUENTES, 2011; JORGE, 2015). O estudo da vida útil do azeite comercial brasileiro irá proporcionar uma avaliação deste prazo de acordo com o comportamento e degradação do azeite e assim determinar sua diferenciação. Também poderá apontar se o prazo de validade estipulado pelo produtor condiz com a estabilidade química dos compostos químicos desejáveis do produto e que a qualidade do azeite permite aumentar sua vida útil.

A expansão do mercado de azeite de oliva tem impulsionado a olivicultura no Brasil, onde é crescente o interesse pela cultura, especialmente nos estados do Rio Grande do Sul, Minas Gerais, São Paulo e Santa Catarina. A área cultivada com oliveiras no Brasil encontra-se em uma extensão de cerca de 7 mil hectares (IBRAOLIVA, 2021). Por questões climáticas, a atividade expandiu-se nas regiões Sudeste e Sul. O Rio Grande do Sul contém a maioria dos olivais localizados na região da Campanha gaúcha e na Serra do Sudeste, onde os frutos são destinados à extração de azeite. Áreas da metade sul do Estado têm se destacado na produção de olivas, como Caçapava do Sul, Pinheiro Machado, Cachoeira do Sul, Santana do Livramento, Canguçu, Dom Pedrito, Candiota, Jaguarão, Bagé, Encruzilhada do Sul, Formigueiro, Piratini, São Sepé e Barra do Ribeiro (CARDOSO & DIAS, 2018).

Na safra 2005/2006 foram identificados pouco mais de 100 hectares com olivais no Rio Grande do Sul, enquanto em 2016/2017, a área somou 3.464,6 hectares (JOÃO & CONTE, 2007; JOÃO, ALMEIDA & AMBROSINI, 2017). A safra gaúcha de oliveiras 2016/2017 ficou em 550 toneladas de frutos e cerca de 55 mil litros de azeite de oliva (SEAPI, 2017), em 2019 a safra atingiu o volume recorde de 1,4 milhão de toneladas, enquanto a produção de azeite foi de 240 toneladas e o Rio Grande do Sul produziu 189 toneladas de olivas, conforme dados do Instituto Brasileiro da Olivicultura (Ibraoliva) (SEAPDR, 2019). Em 2020, a safra da oliveira sofreu com as intempéries do clima e a produção de oliva ficou quase 60% menor em relação à safra passada. Na safra de 2021 houve um aumento de 71,4% em relação à safra 2020 no Rio Grande do Sul. Para safra de 2022 foi anunciada uma produção de 448,5 mil litros de azeite de oliva extravirgem para o Estado do Rio Grande do Sul. A Secretaria de Agricultura,

Pecuária e Desenvolvimento Rural do Rio Grande do Sul anunciou um aumento de 122% na produção de 2022 (SEAPDR, 2022).

A extração do azeite é um processo que gera como resíduos o bagaço de oliva e águas residuais. O bagaço de oliva é um resíduo semissólido, moderadamente ácido, formado por caroço, polpa da azeitona (ROIG, CAYUELA & SÁNCHEZ-MONEDERO, 2006) e água de vegetação (NIAOUNAKIS & HALVADAKIS, 2006). O bagaço (polpa e caroço) constitui aproximadamente 40% do volume total da matéria-prima original (FREITAS, 2007). Medeiros *et al.* (2016) relata que todo resíduo gerado no Brasil tem sido utilizado como composto orgânico, sendo aplicado diretamente no olival como fonte de nutrientes para as oliveiras, prática que tem sido observada no Rio Grande do Sul.

No bagaço de oliva, particularmente a fração lipídica, apresenta perfil similar de ácidos graxos aos encontrados no azeite (JÚLIO, 2015), com maior concentração de ácido graxo oleico (68,3% a 73,3%), seguida do ácido graxo palmítico (12,3% a 13,6%) e do ácido graxo linoleico (9,6% a 11,9%) (BORJA, RAPOSO, & RINCÓN, 2006). Neste resíduo destacasse os compostos fenólicos, dos quais alguns são moléculas com potencial antioxidante e que podem ser usadas nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia (PAINI *et al.* 2015). Cioffi *et al.* (2010) descrevem atividade antioxidante similar no azeite de primeira extração, no óleo obtido do bagaço de oliva e nas folhas de oliveiras.

A extração do óleo do bagaço de oliva é normalmente realizada através de tratamentos com solvente e processos físicos (JORGE, 2015), usando solventes como o hexano (RUIZ-MENDEZ, 2013) em processo de extração idêntico ao utilizado para obtenção de óleo a partir de sementes e oleaginosas. Após extração, o óleo é refinado através de processos de descoloração, desodorização e neutralização, sob altas temperaturas, operações que reduzem ou eliminam os compostos fenólicos. Os óleos pertencentes a esta categoria são lípidos, sem sedimentos, sem odores ou sabores específicos e possuem uma coloração amarela ou amarela acastanhada (CODEX, 2017). O refino do óleo de bagaço de oliva reduz muitos constituintes benéficos, mas é um processo indispensável para torná-lo comestível.

O ultrassom é uma tecnologia que tem sido aplicada em diversas operações na ciência de alimentos (KADAM *et al.*, 2015; SAMARAM *et al.*, 2015). A técnica de ultrassom para extração do extrato lipídico do bagaço de oliva é uma alternativa que pode acelerar o processo de extração e melhorar a extração de compostos com

potencial bioativo (LIANFU & ZELONG, 2008). É possível utilizar solventes alternativos e não poluentes e tecnologias menos agressivas. Estudos envolvendo métodos alternativos e solventes inofensivos ao meio-ambiente e à saúde humana têm sido empregados (TIAN *et al.*, 2013), sendo amplamente utilizados para extração de lipídios em material biológico, na extração de compostos fenólicos em morangos e extração de óleo de soja.

Estudos de Dias & Pereira (2017) apresentaram 21 a 27% de extrato lipídico extraído do bagaço de oliva liofilizado pelo método de Goldfish (CECCHI, 2003), utilizando hexano e etanol como solventes, sugerindo viabilidade no aproveitamento deste resíduo.

Na Região da Campanha do Rio Grande do Sul, com o crescimento do setor, há conseqüentemente um aumento da geração de resíduos decorrentes do processamento da azeitona que poderão vir a representar um problema ambiental. Diante disto, surge o interesse em seu aproveitamento com benefícios econômicos agregação de valor ao resíduo além da redução no impacto ambiental. Neste sentido, o método de extração por ultrassom assistida com a finalidade de recuperar o extrato lipídico do bagaço de oliva da agroindústria de azeite mostra-se uma importante alternativa.

O bagaço de oliva seco apresenta alto teor de lipídios, este resíduo também possui os mesmos compostos do azeite extraído, o método que utiliza a técnica de extração por ultrassom assistida tem demonstrado, através de estudos, não degradar o extrato lipídico assim como seus compostos, possibilitando o aumento da quantidade destes.

Aperfeiçoar o processo de produção do extrato lipídico de bagaço de oliva, identificar e aumentar a concentração de compostos que possam enriquecer o azeite pode torná-lo mais saudável e estável, e aumentar a vida útil. Vislumbra-se que o reaproveitamento deste resíduo para extração do extrato lipídico de bagaço de oliva trará benefícios diretos e indiretos como: gerar maior produção de azeite com teor expressivo de compostos químicos de interesse, tornar o extrato lipídico de bagaço de oliva um subproduto valorizado, e minimizar problemas ambientais ocasionados por descarte inadequado do bagaço original. Além disso, o bagaço de oliva desengordurado e seco pode ser utilizado como fonte de fibras e carboidratos.

Considerando o contexto explanado, e visando contribuir com a indústria olivícola da Região da Campanha em especial na microregião denominada Serra do

Sudeste (RAMBO, 1954), este trabalho consistiu em dois estudos distintos. O primeiro refere-se ao estudo da vida útil do azeite produzido naquela região e o segundo à avaliação do método de extração por ultrassom assistida para recuperar a extrato lipídico do bagaço de oliva remanescente no resíduo da produção de azeite.

2 Objetivo

2.3. Objetivo geral

Investigar os parâmetros de qualidade do azeite comercial do tipo extravirgem produzido na Região da Campanha no Rio Grande do Sul durante o armazenamento, e o método de extração por ultrassom assistida para recuperar o extrato lipídico do bagaço de oliva do resíduo da agroindústria de azeite.

2.4. Objetivos específicos

Caracterizar os parâmetros de identidade e qualidade do azeite comercial do tipo extravirgem produzido na Região da Campanha.

Monitorar por 18 meses o efeito do armazenamento na presença de luz e em temperatura ambiente de um azeite comercial quanto aos parâmetros de qualidade: índice de peróxido, índice de acidez e coeficiente de extinção.

Quantificar o teor total de compostos fenólicos no azeite de oliva comercial ao longo de 18 meses de armazenamento.

Caracterizar o bagaço de oliva *in natura* e liofilizado.

Estudar a extração da fração lipídica do bagaço de oliva por ultrassom através de planejamento experimental.

Determinar o rendimento do extrato lipídico bruto obtido através do método de extração por ultrassom.

Determinar a concentração de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante do extrato lipídico do bagaço de oliva liofilizado obtido pelo processo de extração assistida por ultrassom.

3 Hipóteses

- I. O azeite de oliva extravirgem produzido na região da campanha, RS, tem a vida útil comprometida em condições usuais de armazenamento e comercialização.
- II. O método de extração por ultrassom assistida, utilizando etanol como solvente, para recuperar o extrato lipídico do bagaço de oliva do resíduo da agroindústria de azeite, resulta em elevados rendimentos em extrato lipídico bruto e concentração de compostos fenólicos totais.

4 Revisão de literatura

4.1 A cultura da oliveira

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma planta angiosperma dicotiledônea pertencente à família botânica Oleaceae, que compreende espécies de plantas distribuídas pelas regiões tropicais e temperadas do mundo. Existem cerca de 35 espécies do gênero *Olea*. Na espécie *O. europaea* estão incluídas todas as oliveiras cultivadas e também as oliveiras silvestres pois é a única espécie que origina frutos comestíveis. Graças à sua estrutura xerofítica, desenvolve-se bem mesmo em ambientes com verões longos, quentes e secos, e com baixos índices pluviométricos (WREGGE, 2015).

No Brasil, a oliveira foi introduzida há vários séculos e em quase todos os estados da Federação, porém com maior frequência nas regiões Sul e Sudeste (COUTINHO, 2009). No Rio Grande do Sul o cultivo da oliveira foi introduzido oficialmente em 1948; contudo, a expansão data das últimas duas décadas. Na safra 2005/2006 foram cultivados pouco mais de 100 hectares com olivais no Rio Grande do Sul (JOÃO & CONTE, 2007), em 2008, a área cultivada em território gaúcho foi estimada em 139 hectares (SAUERESSIG, 2018), tendo em 2016 uma área de cerca de 1.700 hectares plantados, (SEAPDR, 2022). Enquanto em 2017, ultrapassou os 3 mil hectares (SAUERESSIG, 2018).

Silva *et. al.* (2020) registraram na Figura 1 a localização de 60 produtores de oliva para a extração de azeite e 8 lagares (plantas de processamento) implantados no Rio Grande do Sul.

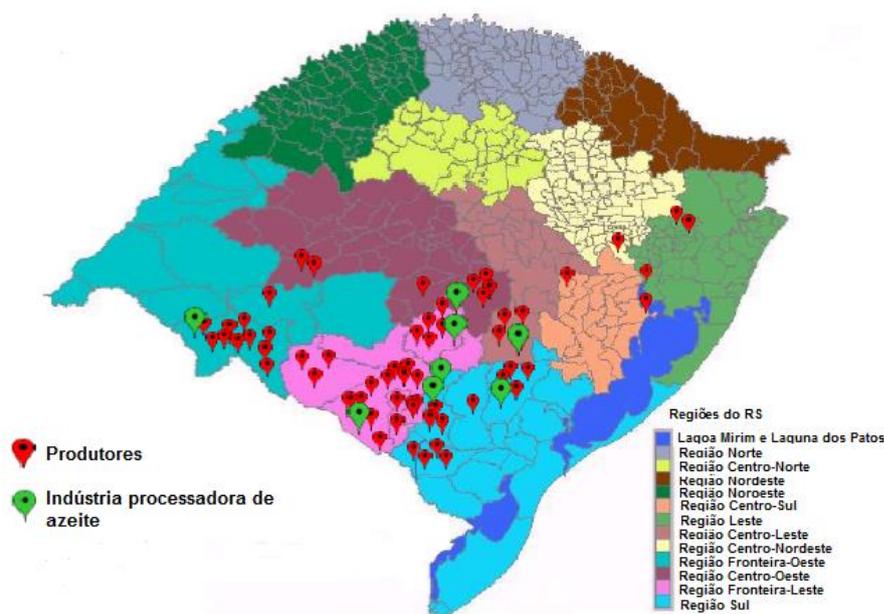


Figura 1 - Ilustração com a localização dos produtores de oliveira e lagares do Rio Grande do Sul. Fonte: Silva *et al.*, 2020.

Atualmente o Rio Grande do Sul é o maior produtor de azeites do Brasil. Conforme dados do Ibraoliva (Instituto Brasileiro de Olivicultura), o Estado possuía aproximadamente 10 mil hectares cultivados em 2021, 73 produtores do fruto e de 77 rótulos diferentes de azeite. Sendo o Rio Grande do Sul responsável por 70% da produção nacional de azeite. A safra 20/21 foi estimada em 202 mil litros de azeite extravirgem (SEAPDR, 2021). Na safra 21/22 a quantidade de azeite produzido no Rio Grande do Sul foi de 448,5 mil litros. O Ibraoliva considera que até 2025 o Brasil alcança 20 mil hectares de oliveiras plantadas (SEAPDR, 2022).

4.2 Classificação e requisitos de qualidade do azeite de oliva

A Instrução Normativa MAPA nº 1, de 30 de janeiro de 2012 (BRASIL, 2012) define padrões oficiais de classificação do azeite de oliva e do óleo do bagaço de oliva. Conforme a instrução o azeite de oliva e o óleo de bagaço de oliva são produtos obtidos somente do fruto da oliveira (*Olea europaea* L.). O azeite de oliva é alcançado por processos mecânicos, sob condições que não provoquem alterações, e que não tenham sido submetidos a outros tratamentos como uso de solvente, por processo de re-esterificação ou pela mistura com outros óleos, independentemente de suas proporções. Estes azeites apresentam-se lípidos, com tonalidades de amarelo à

verde, com odor e sabor particularizados pelas variedades autorizadas. São adequados ao consumo no seu estado natural (CODEX, 2017). Também define o óleo de bagaço de oliva obtido através de tratamento físico e ou com solvente, excluído todo e qualquer óleo obtido por processo de re-esterificação ou pela mistura com outros óleos, independentemente de suas proporções.

O azeite e o óleo de bagaço de oliva podem ser classificados em grupos e tipos com base em parâmetros como matéria-prima, processos de obtenção, percentual de acidez e tecnologia aplicada para extração, podendo ser enquadrados em grupos, conforme classificação a seguir (BRASIL, 2012):

Azeite de oliva virgem: extraído do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos, sob controle de temperatura adequada, mantendo-se a natureza original do produto; o azeite assim obtido pode ainda, ser submetido aos tratamentos de lavagem, decantação, centrifugação e filtração. O azeite de oliva virgem é classificado em três subtipos, extravirgem, virgem e lampante.

Azeite de oliva: o produto constituído pela mistura de azeite de oliva refinado com azeite de oliva virgem ou com azeite de oliva extravirgem.

Azeite de oliva refinado: o produto proveniente de azeite de oliva do grupo azeite de oliva virgem mediante técnicas de refino que não provoquem alteração na estrutura glicerídica inicial.

Óleo de bagaço de oliva: o produto constituído pela mistura de óleo de bagaço de oliva refinado com azeite de oliva virgem ou com azeite de oliva extravirgem;

Óleo de bagaço de oliva refinado: o produto proveniente do bagaço do fruto da oliveira mediante técnica de refino que não provoque alteração na estrutura glicerídica inicial.

Ruiz *et al.* (2017) relatam que o azeite não é um produto que melhora com o tempo. Assim, um determinado azeite passa por processos químicos que afetam negativamente suas propriedades durante o armazenamento. Diante disso, torna-se necessário conhecer a vida útil do azeite de oliva produzido no Brasil. Responder perguntas sobre o comportamento do azeite comercial durante sua vida útil pode ajudar na determinação do prazo de validade e também no estudo da forma adequada de armazenamento deste produto. A legislação permite ao produtor determinar o período propício para o consumo e sua preservação em função da garantia da técnica utilizada e da preservação de suas propriedades até serem adquiridos.

Os requisitos de qualidade e autenticidade que tipificam os azeites e o óleo de bagaço de oliva são definidos em função do percentual de acidez livre, do índice de peróxidos e da extinção específica no ultravioleta, bem como da composição de ácidos graxos, esteróis, estigmastadienos e ceras, previstos no Anexo I da Instrução Normativa MAPA nº 1, de 30 de janeiro de 2012 (BRASIL, 2012) cujos limites estão apresentados no Quadro 1.

Os parâmetros de qualidade e autenticidade podem ser influenciados por fatores como maturação, armazenamento, ação enzimática, qualidade da azeitona, produção de azeite sistema, grau de refino e pureza (BRASIL, 2005; SILVA *et al.*, 2012).

Quadro 1 - Limites de tolerância de parâmetros de qualidade do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva conforme Instrução Normativa MAPA nº 1, de 30 de janeiro de 2012

Grupo	Azeite de oliva virgem			Azeite de oliva	Azeite de oliva refinado	Óleo de bagaço de oliva	Óleo de bagaço de oliva refinado	
	Extravirgem	Virgem	Lampante	Único	Único	Único	Único	
Tipo								
Acidez Livre (%)	≤0,80	≤2,00	>2,00	≤1,00	≤0,30	≤1,00	≤0,30	
Índice de Peróxidos (mEq/kg)	≤20,0	≤20,0	*	≤15,00	≤5,00	≤15,00	≤5,00	
Extinção específica no ultravioleta	270nm	≤0,22	≤0,25	*	≤0,90	≤1,1	≤1,70	≤2,00
	Delta K	≤0,01	≤0,01	*	≤0,15	≤0,16	≤0,18	≤0,20
	232 nm	≤2,50	≤2,60	*	*	*	*	*

(*) Não se aplica.

Fonte: Brasil, 2012.

A acidez livre presente no azeite de oliva e no óleo de bagaço de oliva é um importante critério de qualidade, que expressa o conteúdo de ácidos graxos livres (BOSKOU, 1998; AUED-PIMENTEL *et al.*, 2002; PINÉ *et al.*, 2009). Quanto menor o grau de acidez mais alta é sua qualidade (HERRERA & DUEÑAS, 2008). Contudo, qualquer injúria no fruto pode provocar danos aos tecidos que propiciam a ação das lipases, as quais hidrolisam os triacilgliceróis, liberando ácidos graxos livres o que induz ao aumento da acidez (UCEDA, HERMOSO & AGUILERA, 2008; TOUS *et al.*, 1997; PEIXOTO, SANTANA & ABRANTES 1998). Fatores como ocorrência de pragas nos olivais, clima, manejo na colheita, processo de produção e armazenamento do azeite, entre outros, também influenciam no percentual de acidez livre (BOSKOU, 1998; TENA *et al.*, 1997; TOUS, ROMERO & PLANA, 1998).

O índice de peróxido é um importante parâmetro de avaliação do grau de oxidação de um azeite, reação que origina compostos que alteram o sabor do produto

e são facilmente percebidos pelas papilas gustativas (ANGEROSA, LANZA & MARSILIO, 1996; JORGE, 2010). Os peróxidos reagem com o iodeto de potássio proporcionando a medida do conteúdo de oxigênio reativo, que é expresso em miliequivalentes de oxigênio ativo por quilograma de azeite. O limite do índice de peróxido para que o azeite de oliva seja considerado próprio para o consumo humano é de 20 meq de O₂ ativo kg⁻¹ (GRANADOS, 2000; MORETTO & FETT, 1998; UCEDA, HERMOSO & AGUILERA, 2008), valores superiores indicam a deterioração do produto. Os antioxidantes presentes no azeite reagem com os radicais livres resultantes do processo oxidativo. O índice de peróxidos aumenta apenas quando os antioxidantes existentes são insuficientes para compensar a formação desses radicais, ou seja, no estado inicial existe um equilíbrio entre a taxa de formação de peróxidos e a sua taxa de degradação (BEŠTER *et al.*, 2008; MARTÍNEZ-PINEDA *et al.*, 2011).

Coefficientes de extinção indicam se o produto se origina de matérias-primas de boa qualidade e se as condições de processamento foram adequadas. A extinção específica por absorção na região ultravioleta também indica a presença de compostos oxidados, sendo um parâmetro utilizado para auxiliar na avaliação do estado de conservação do azeite. Baseia-se nos métodos espectrofotométricos na região do ultravioleta, onde elevados coeficientes de extinção se devem à oxidação ou ao desdobramento de produtos formados durante o armazenamento do azeite ou alterações ocorridas durante o processo de refino.

Tal parâmetro também indica o limite para os diferentes tipos de azeite ou de óleo refinado de acordo com o Quadro 1 (BOSKOU, 1998; AGUILERA *et al.*, 2005). Os compostos oxidados identificados por absorção na região ultravioleta em 232nm são os hidroperóxidos conjugados, entre 262 e 274nm os produtos da oxidação secundária (aldeídos e cetonas), e a 270nm os dienos e trienos conjugados formados durante o processo de refinação. Valores abaixo destes coeficientes de extinção específica correspondem à azeite de boa qualidade (KIRITSAKIS & CHRISTIE, 2003).

4.3 Processamento do azeite de oliva virgem

O azeite de oliva virgem é um óleo vegetal extraído das azeitonas que pode ser produzido por um processo descontínuo, sistema tradicional de prensas, ou contínuo, sistema de centrifugação de três ou de duas fases (MARTINS, 2016).

A produção de azeite de oliva virgem (Figura 2) é iniciada com a etapa de limpeza das azeitonas, na qual a matéria-prima ao chegar ao lagar é descarregada sobre uma peneira (grelha), onde os ramos e elementos indesejáveis são removidos no peneiramento, sendo depois enviada através de uma esteira sujeita a uma corrente de ar que elimina as folhas por diferença de densidade e assim chegando ao lavador (DI GIOVACCHINO, 2013).

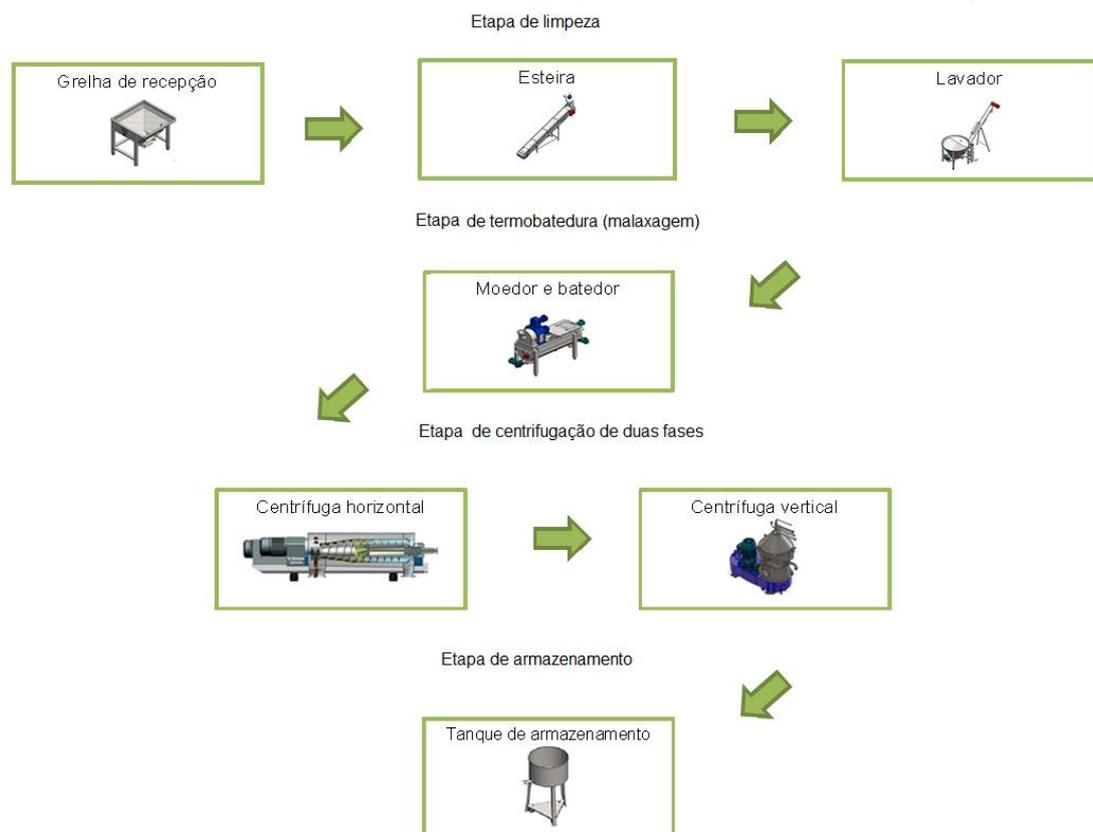


Figura 2 - Fluxograma de processamento do azeite.
Fonte: autora

Após a limpeza por corrente de ar, a lavagem dos frutos é a etapa que se segue, sendo realizada com água fria para eliminar terra e outras pequenas sujidades. Posteriormente ocorre a moagem em moinhos metálicos, de forma a promover o seu rompimento e permitir a libertação das gotas de azeite que se encontram na polpa do fruto, resultando numa pasta a qual segue para o processo de termobatedura da massa (malaxagem). Nesta etapa ocorre um batimento contínuo e lento da pasta, acompanhado por um aquecimento (em torno de 30°C) simultâneo, com o objetivo de aumentar a quantidade de azeite disponível, uma vez que a coalescência de pequenas

gotas de óleo em gotas de maior dimensão é favorecida, facilitando a separação da fase oleosa da aquosa (água presente na composição das azeitonas) (APARÍCIO & HARWOOD, 2013; KAPELLAKIS, TSAGARAKIS & CROWTHER, 2008).

A pasta submetida ao processo de malaxagem está pronta para sofrer a separação das fases oleosa e aquosa. Os processos de extração de azeite se diferenciam a partir deste momento. O sistema utilizado atualmente no Brasil é o sistema de duas fases que surgiu nos anos 90 do século XX. O sistema de extração contínuo de duas fases, também designado de sistema ecológico, consiste em um sistema de dupla centrifugação, tem substituído os processos de extração tradicional de prensas e o contínuo de três fases, devido às reduzidas quantidades de águas residuais que produz ($0,2\text{m}^3$ de efluente líquido por tonelada de azeitona) (MEDEIROS *et al.*, 2016).

No sistema de duas fases, a pasta de oliva é enviada para a centrífuga horizontal (Figura 2), onde ocorre a centrifugação. A fase líquida (azeite e água) é então separada da fase sólida (bagaço de oliva úmido), sem que seja necessário fornecer água ao processo. A fração que é composta por azeite é sujeita à centrifugação vertical para separar o restante de água, obtendo-se assim no final do processo o azeite virgem, e o bagaço de oliva é retirado na centrífuga horizontal (ROIG, CAYUELA & SÁNCHEZ-MONEDERO, 2006; APARÍCIO & HARWOOD, 2013).

O sistema de duas fases tem como principal vantagem a reduzida quantidade de água no azeite para a última centrifugação, tendo também benefícios como a produção de azeite com maior teor de antioxidantes, necessidade de pouca mão-de-obra e grande capacidade de azeitona processada em kg/hora. Porém este sistema de duas fases é caracterizado por apresentar resíduo com um elevado teor de umidade, resultando em um bagaço de oliva úmido, trazendo problemas aos lagares de azeite que operam com este sistema (DI GIOVACCHINO, 2013; MEDEIROS *et al.*, 2016).

Existem partículas pequenas suspensas no azeite virgem, mesmo após a centrifugação final, que contêm água e enzimas que podem prejudicar a qualidade do azeite. As partículas suspensas não removidas podem aglomerar e flocular, formando um depósito no fundo dos recipientes de armazenamento. Ocorre então a filtração deste azeite e depois a transferência para os tanques de armazenamento (MARQUES, 2015).

O armazenamento é fundamental para a manutenção da qualidade do azeite de oliva virgem. Durante esta etapa podem ser iniciados processos oxidativos,

nomeadamente a auto-oxidação, causada por agentes físicos ou químicos, e a foto-oxidação, resultante da exposição à luz (LOLIS, BADEKA & KONTOMINAS, 2020). Após o azeite é engarrafado e acondicionado para comercialização. Estando dentro dos padrões exigidos pela legislação e não ocorrendo nenhum processo de deterioração durante estas etapas, tem-se o azeite de oliva extravirgem.

4.4 Composição físico-química do azeite de oliva

Os componentes do azeite dividem-se em duas frações, uma saponificável e outra insaponificável. Dias *et al* (2017) descrevem que a fração saponificável representa em torno de 98% da sua composição e a fração insaponificável 2%, sendo que cada fração inclui diferentes compostos (Figura 3).

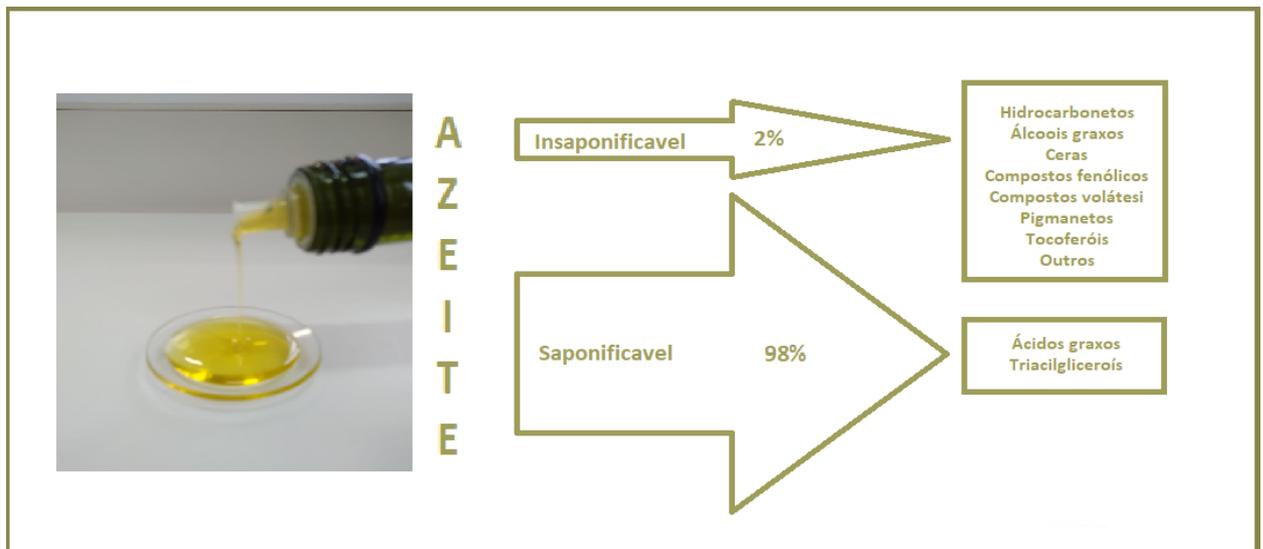


Figura 3 - Composição do azeite de oliva: frações saponificável e insaponificável.

Fonte: adaptado de Borges, 2017.

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos constituídos por cadeias hidrocarbonadas contendo entre 4 a 36 carbonos, com um grupo carboxila em uma das extremidades. O ácido oleico ($C_{18}H_{34}O_2$) ou ácido (Z)-octadec-9-enóico ou 18:1 cis-9, é o ácido graxo monoinsaturado mais abundante do azeite. O número de carbonos na cadeia, o tipo de ligação e o grau de insaturação conferem diferentes tipos de ácidos graxos com distintas propriedades físicas e químicas (ALVES, 2010; SCHIESSEL, 2011).

Ácidos graxos contendo uma ou mais ligações duplas na cadeia são denominados de ácidos graxos insaturados. Quando o ácido graxo contém uma dupla

ligação é denominado de ácido graxo monoinsaturado e quando apresenta duas ou mais ligações duplas é denominado de ácido graxo polinsaturado. O maior número de ligações duplas os torna quimicamente mais instáveis. São denominados ácidos graxos saturados aqueles que contêm apenas ligações simples entre os carbonos na molécula (SCHIESSEL, 2011; MOREIRA, CURI & MANCINI FILHO, 2002).

A fração saponificável do azeite de oliva é composta majoritariamente por triacilgliceróis, uma pequena fração de di e mono gliceróis, e de ácidos graxos livres (CUNHA, 2007; JORGE, 2010).

Os limites de tolerância para ácidos graxos no azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva no Brasil estão estabelecidos na Instrução Normativa MAPA nº 24 de 18 de junho de 2018 (BRASIL, 2012), conforme Quadro 2.

Quadro 2 - Limites de tolerância de parâmetros de análises complementares do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva conforme Instrução Normativa MAPA nº 1, de 30 de janeiro de 2012

Grupo	Azeite de Oliva Virgem			Azeite de Oliva	Azeite de Oliva refinado	Óleo de Bagaço de Oliva	Óleo de Bagaço de Oliva Refinado
	Extravirgem	Virgem	Lampante	Único	Único	Único	Único
Tipo 18:1t (%) ¹	≤0,05	≤0,05	≤0,10	≤0,20	≤0,40	≤0,40	≤0,40
18:2t+ 18:3t (%) ¹	≤0,05	≤0,05	≤0,10	≤0,30	≤0,35	≤0,35	≤0,35
C14:0 (%) ¹	≤0,05	≤0,05	*	*	*	*	*
C16:0 (%) ¹	7,50 a 20,0	7,50 a 20,0	*	*	*	*	*
C16:1 (%) ¹	3,0 a 3,5	3,0 a 3,5	*	*	*	*	*
C17:0 (%) ¹	≤0,03	≤0,03	*	*	*	*	*
C17:1 (%) ¹	≤0,03	≤0,03	*	*	*	*	*
C18:0 (%) ¹	0,5 a 5,0	0,5 a 5,0	*	*	*	*	*
C18:1 (%) ¹	55,0 a 83,0	55,0 a 83,0	*	*	*	*	*
C18:2 (%) ¹	3,5 a 21,0	3,5 a 21,0	*	*	*	*	*
C18:3 (%) ¹	≤1,0	≤1,0	*	*	*	*	*
C20:0 (%) ¹	≤0,6	≤0,6	*	*	*	*	*
C20:1 (%) ¹	≤0,4	≤0,4	*	*	*	*	*
C22:0 (%) ¹	≤0,2	≤0,2	*	*	≤0,3	≤0,3	≤0,3
C24:0 (%) ¹	≤0,2	≤0,2	≤0,2	*	*	*	*

(¹) Percentagem no total de ácidos graxos. (*) Não se aplica. Relativamente aos óleos de bagaço de oliva, os limites podem não ser simultaneamente respeitados.

Fonte: Brasil, 2012.

Triacilgliceróis (TAGs) também conhecidos por gorduras neutras são ácidos graxos ligados ao glicerol através de ligações do tipo éster. A reação acontece entre uma hidroxila do glicerol e o grupo COOH (carboxila) do ácido graxo. Os ácidos graxos presentes nos TAGs podem ser iguais (triacilgliceróis simples) ou diferentes (triacilgliceróis mistos), sendo que a maioria dos TAGs de ocorrência natural são mistos contendo, portanto, dois ou mais ácidos graxos diferentes (LEHNINGER, NELSON & COX, 2002; VOET, VOET & PRATT, 2000).

A fração insaponificável do azeite de oliva, embora minoritária, é constituída por um conjunto variado de substâncias consideradas de elevada importância, que garantem diversas funções, tanto do ponto de vista nutricional como da estabilidade e qualidade sensorial do produto. Entre estas substâncias estão clorofila, carotenoides, componentes voláteis, compostos fenólicos, tocoferóis, hidrocarbonetos, fitosteróis, álcoois alifáticos e ceras (ALVES, 2013; CUNHA, 2007).

As cores do azeite de oliva devem-se à presença de pigmentos e dependem da variedade e do estágio de maturação do fruto (SÁNCHEZ, CARRETERO & GUTIÉRREZ, 2009). A cor varia do verde ao amarelo (dourado), a qual resulta da presença de pigmentos como a clorofila e carotenoides. A presença de maior ou menor quantidade desses pigmentos depende de fatores como o grau de amadurecimento do fruto, a cultivar, o solo, e as condições climáticas, bem como os procedimentos de processamento e condições de estocagem (SILVA, 2011).

As clorofilas *a* e *b* e os seus produtos de oxidação, feofitinas *a* e *b*, são responsáveis pela cor esverdeada. No azeite de oliva o conteúdo de clorofila pode variar entre 1 a 20ppm. Os carotenoides (luteína, β -caroteno, violaxantina e neoxantina), quimicamente chamados de terpenos, são derivados do ácido mevalônico e são responsáveis pela cor amarelada dos azeites e sua concentração varia entre 1 e 20mg kg⁻¹. Os principais carotenoides presentes no azeite são luteína e β -caroteno (MORELLÓ *et al.*, 2004; SÁNCHEZ, CARRETERO & GUTIÉRREZ, 2009). Carotenoides e, em particular, β -caroteno são eficientes antioxidantes devido à sua capacidade para extinguir oxigênios radicais, e eles também podem agir evitando a foto-oxidação induzida pela luz (MORELLÓ *et al.*, 2004).

Os compostos voláteis do azeite de oliva conferem um aroma peculiar em comparação a outros óleos, devido à quantidade de compostos aromáticos e voláteis presentes. Os compostos voláteis e alguns compostos fenólicos como hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, fenóis, entre outros, são responsáveis pelo aroma do azeite

(MARQUES, 2015). São produzidos pela ação de enzimas como a lipoxigenase e a álcool-desidrogenase, atuantes durante a trituração da azeitona e na malaxagem (termobatedura), incorporando aldeído e álcoois à fase oleosa (SÁNCHEZ, CARRETERO & GUTIÉRREZ, 2009), além de compostos presentes como cetonas, ácidos carboxílicos e ésteres (KALUA *et al.*, 2007).

Os fenóis presentes no azeite determinam as características de amargo e picante (MELLO & PINHEIRO, 2012; SOUZA *et al.*, 2014). Azeites com elevado teor de compostos fenólicos são amargos e picantes e azeites que procedem de azeitonas verdes proporcionam sabores mais adstringentes e amargos. As agliconas do ligstrosídeo são responsáveis pelo sabor picante, por isso azeites com elevado teor deste composto são mais pungentes (GARCÍA-GONZÁLEZ, APARICIO-RUIZ & APARICIO, 2008).

Os compostos fenólicos são elementos do metabolismo especial dos vegetais produzidos durante o desenvolvimento normal para manutenção da homeostase, atração de polinizadores e em resposta a condições de estresse da planta. Por isso a concentração média de compostos fenólicos nos frutos de oliveira é variável, bem como no azeite cujo teor pode variar, por exemplo entre 200 e 1500mg kg⁻¹ (ALLOUCHE *et al.*, 2007) ou entre 326 e 1110mg kg⁻¹ (GARCÍA-GONZÁLEZ, APARICIO-RUIZ & APARICIO 2008).

Os compostos fenólicos contêm anel aromático ligado com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais, o que resulta em inúmeras substâncias de estrutura variável. Alguns são solúveis somente em solventes orgânicos, outros são solúveis em água e há ainda aqueles que são polímeros insolúveis (DAMODARAN, PARKIN & FENNEMA, 2010; TAIZ & ZEIGER, 2006).

Pelo menos trinta e seis compostos fenólicos estruturalmente distintos foram identificados no azeite. Na Figura 4 estão alguns dos compostos fenólicos já encontrados em azeite de oliva virgem. Fenóis hidrofílicos, como álcoois fenólicos, ácidos fenólicos, lignanos, flavonoides e secoiridoides, são importantes classes de antioxidantes encontrados nos azeites. A concentração desses compostos não é constante em azeites, mas varia de acordo com muitos fatores, incluindo cultivar de azeitona, estágio de maturação do fruto, gerenciamento de irrigação, e condições pedoclimáticas na área de cultivo (BAJOUB *et al.*, 2015; FRANKEL *et al.*, 2013; DABBOU *et al.*, 2010).

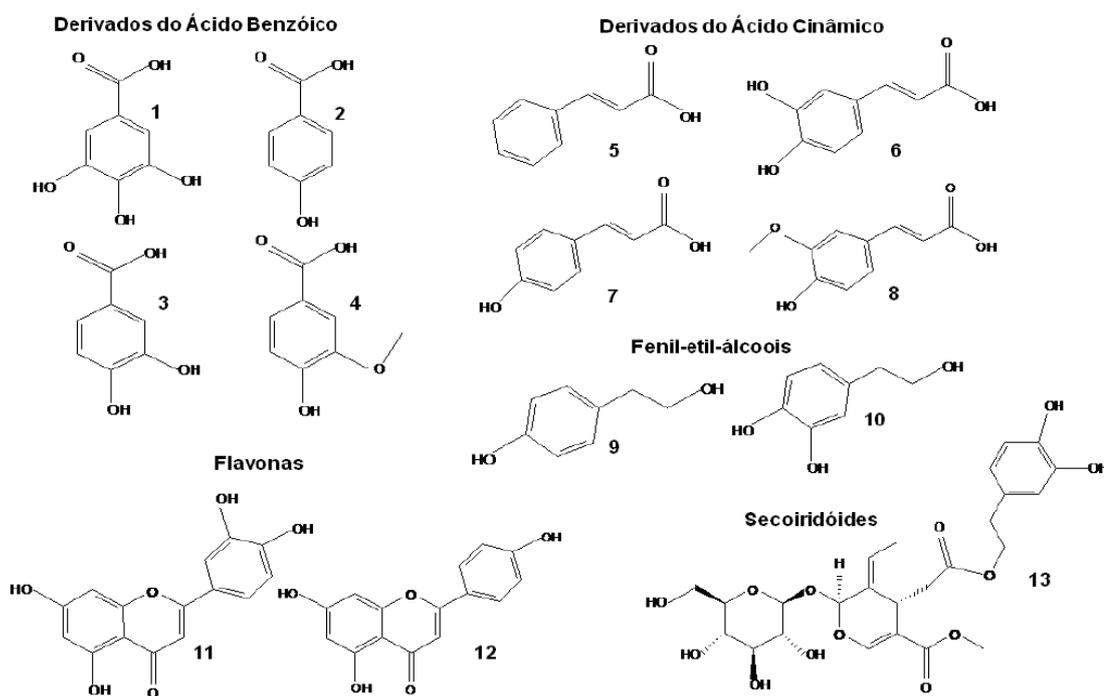


Figura 4 - Estruturas de alguns compostos fenólicos encontrados em azeite de oliva virgem: 1) Ácido gálico; 2) Ácido *p*-hidroxibenzoico; 3) Ácido 3,4-dihidroxibenzoico; 4) Ácido vanílico; 5) Ácido cinâmico; 6) Ácido cafeico; 7) Ácido *p*-cumárico; 8) Ácido ferrúlico; 9) Tirosol; 10) Hidroxitirosol; 11) Luteolina; 12) Apigenina; 13) Oleuropeína.

Fonte: Ballus, 2010.

O complexo fenólico no fruto da oliveira é formado principalmente de oleuropeína, verbascosídeo e ligstrosídeo que durante a maturação dão origem ao hidroxitirosol e outros fenólicos simples, como tirosol, álcool homovanílico, ácido 3,4-dihidroxifenilacético, ácido cafeico, ácido *p*-cumárico, ácido filorético e ácido vanílico (KOUNTOURI *et al.*, 2007).

Os processos de produção do azeite exercem grande influência na composição dos compostos fenólicos do azeite e do bagaço de oliva, devido à atividade de enzimas relacionadas à biogeração de fenóis, como α -glicosídeo e esterase e de enzimas oxidativas, tal como polifenol oxidase, peroxidase e lipoxigenase (INAREJOS-GARCÍA & FREGAPANE, 2011). Como consequência, haverá formação de secoiridoides agliconas, sendo os mais abundantes no bagaço de oliva (LAFKA *et al.*, 2011).

A atividade antioxidante pode variar dependendo das características estruturais dos compostos fenólicos presentes no azeite. Cioffi *et al.* (2010) não encontraram diferença significativa na atividade entre o azeite virgem, o óleo obtido do bagaço de azeitona e o das folhas de oliveiras.

A aglicona oleuropeína e seus derivados (odifenois) estão presentes em grande quantidade no azeite de oliva virgem e possuem uma comprovada atividade contra radicais livres. Durante a prensagem e a malaxagem, os secoiridoides glicosídeos presentes no fruto da oliveira são hidrolisados pelas β -glicosidases endógenas, liberando as agliconas. Estas possuem características anfifílicas e sofrem partição entre a camada oleosa e a água do fruto. Durante a estocagem, reações hidrolíticas podem promover a liberação de hidroxitirosol e tirosol a partir dos secoiridoides mais complexos. Através do sequestro de radicais livres, o qual resulta na interrupção das reações em cadeia da fase de propagação da oxidação, estas moléculas exibem um importante papel no aumento da vida útil do azeite de oliva (BALLUS, 2010).

Os tocoferóis são mais conhecidos pelo termo genérico “vitamina E” é uma descrição utilizada para designar oito diferentes compostos, nomeados α -, β -, γ - e δ - (alfa, beta, gama e delta) tocoferóis e tocotrienóis. São vitaminas lipossolúveis que possuem alta capacidade antioxidante, especificamente contra a peroxidação lipídica em membranas biológicas (GUINAZI, 2009; FOGAÇA, 2005). Os tocoferóis apresentam uma cadeia lateral saturada contendo 16 átomos de carbono. A diferença entre estas moléculas reside na quantidade de grupos metil que substituem o anel aromático cromanol. Os tocotrienóis se diferenciam dos tocoferóis por possuírem uma cadeia lateral insaturada contendo 16 átomos de carbono (COIMBRA, 2010).

Os hidrocarbonetos são compostos que apresentam em sua estrutura apenas carbono e hidrogênio, constituem de 32 a 50% da fração insaponificável do azeite. O principal hidrocarboneto presente no azeite de oliva é o esqualeno, formado por 30 carbonos, o qual constitui-se no produto intermediário da biossíntese do colesterol, sendo precursor dos triterpenos e dos fitosteróis (FERREIRA, 2014; SÁNCHEZ, CARRETERO & GUTIÉRREZ, 2009; BOSKOU, 1998; BOSKOU, 1996). Exerce uma atividade antioxidante por reação com os radicais de oxigênio, protegendo a pele contra os raios UV (MARQUES, 2015). O azeite extravirgem contém 200 a 700mg de esqualeno por 100g de óleo, enquanto o azeite refinado contém cerca de 25% menos (ALLOUCHE *et al.*, 2007). Estão presentes no azeite extravirgem outros hidrocarbonetos úteis, como por exemplo o β - caroteno, que conferem aos alimentos de origem vegetal cores que vão do amarelo ao vermelho (SÁNCHEZ, CARRETERO & GUTIÉRREZ, 2009).

Os álcoois graxos ou álcoois alifáticos são compostos lineares saturados com mais de 16 átomos de carbono. Os principais álcoois presentes no azeite são o

docosanol, tetracosanol, hexacosanol e o octacosanol, sendo que o conteúdo destes no azeite normalmente não excede $35\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ de azeite (COSTA, 2012; CARAPINHA, 2012).

Os fitosteróis são álcoois insaturados de carácter lipofílico. Estes compostos representam a menor parte dos lípideos nos óleos vegetais, a sua quantificação pode ser útil para entender a qualidade e autenticidade do azeite, visto que cada óleo tem um perfil de esteróis característico. São importantes para a estabilidade do azeite uma vez que temperaturas elevadas atuam como inibidores de reações de polimerização (MATOS *et al.*, 2007; DIAS, 2009).

Os fitoesteróis presentes no azeite de oliva podem variar de 1800 a 2650mg kg^{-1} do óleo. Os principais esteróis presentes são o β -sitosterol, o Δ -5-avenasterol, o campesterol e o estigmasterol. O esterol que se encontra em maior quantidade no azeite é o β – sitosterol, representando 70 a 95% da fração total de esteróis (DIAS, 2009; MODOLO, 2007). Os valores de esteróis totais exibem uma tendência decrescente à medida que ocorre a maturação das azeitonas (MATOS *et al.*, 2007).

Os álcoois alifáticos podem ser lineares (alifático) ou triterpênicos, sendo constituintes importantes, pois, podem ser utilizados para distinguir diferentes tipos óleos (SÁNCHEZ, CARRETERO & GUTIÉRREZ, 2009). Os álcoois alifáticos são precursores da formação de ceras, logo, alto conteúdo em álcoois poderia trazer, como consequência, um aumento no conteúdo em ceras com o tempo. Os dois principais álcoois triterpênicos identificados são os diálcoois triterpênicos eritrodiol e uvaol. Suas concentrações variam de 500 a 3000mg.kg^{-1} de azeite e sua quantificação é importante, pois, os teores de eritrodiol e uvaol são usados como parâmetros de qualidade. Um elevado teor destes diálcoois triterpênicos é um indicativo de azeites obtidos por solventes (RAMÍREZ-TORTOSA, GRANADOS & QUILES, 2006). Conforme Instrução Normativa MAPA nº 1/2012 (BRASIL, 2012), o teor de eritrodiol e uvaol para azeite extravirgem deve ser $\leq 4,5\%$.

As ceras são ésteres de álcoois de longa cadeia alifática com ácidos graxos de alto peso molecular, contêm até 58 átomos de carbono, e por isso afetam as propriedades físicas do azeite, como a viscosidade, a densidade e o ponto de fusão superior a 70°C (DAMODARAN, PARKIN & FENNEMA, 2010; COSTA, 2012). O teor de ceras no azeite é normalmente muito baixo, tendo um limite máximo estabelecido de 350mg kg^{-1} de azeite (DIAS, 2009). A quantidade máxima permitida em azeites

extravirgem é de 150mg kg^{-1} de azeite e esse valor pode chegar a 350mg kg^{-1} em azeites refinado e azeite (BRASIL, 2012).

4.5 Bagaço de oliva

O bagaço de oliva é um resíduo semissólido, moderadamente ácido, formado por caroço, polpa da azeitona, e água de vegetação (NIAOUNAKIS & HALVADAKIS, 2006; ROIG, CAYUELA & SÁNCHEZ-MONEDERO, 2006, 2006). Em média, 100 kg de azeitona correspondem a cerca de 40 kg de bagaço e 1 kg de bagaço é composto por 400 g de polpa e 600 g de caroço (FREITAS, 2007). Galanakis, Tomberg & Gekas (2010) afirmam que o resíduo (bagaço) obtido do beneficiamento do azeite, oriundo de extração de duas fases, é uma mistura composta de 83-94 g de água, 4-16 g de compostos orgânicos e 0,4-2,5 g de compostos inorgânicos por 100 g de matéria fresca.

Dadas as suas características químicas, o descarte do bagaço de oliva pode ter efeitos nocivos ao meio ambiente. Nos países europeus, onde se concentra 95% da produção mundial de azeite (INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL, 2019), os resíduos inerentes à produção são considerados um problema ambiental. Tal fato está relacionado principalmente ao seu elevado teor de matéria orgânica e sua toxicidade decorrente da alta concentração de compostos fenólicos, que são caracterizados pela dificuldade de degradação biológica, e pelo efeito antimicrobiano, afetando os processos de digestão anaeróbica (BHATNAGAR *et al.*, 2014). O bagaço de oliva produzido no sistema de duas fases é considerado um poluente relevante devido à presença de uma grande quantidade de substâncias orgânicas, óleo, compostos fenólicos, proteínas e polissacarídeos (ALÚDATT *et al.*, 2010).

A composição química do bagaço varia de acordo com a cultivar de azeitonas, estágio de maturação dos frutos, condições climáticas e práticas de cultivo. Em geral é constituído por elevadas quantidades de água (60-70%), azeite residual retido na polpa (2,5 a 3%), compostos inorgânicos e quantidades apreciáveis de lignina, celulose e hemicelulose, bem como proteínas, poliálcoois, ácidos graxos, ácidos voláteis, pectinas, açúcares, polifenóis e pigmentos (HERNÁNDEZA *et al.*, 2014; LAFKA *et al.*, 2011; CABRERA *et al.*, 2010; 2008; ROIG, CAYUELA & SÁNCHEZ-MONEDERO, 2006).

Roig, Cayuela & Sánchez-Monedero (2006) compilaram da literatura as principais características químicas (valores mínimos e máximos) do bagaço de oliva proveniente de centrifugação de duas fases (Quadro 3).

Quadro 3 - Composição química do bagaço de oliva proveniente de centrifugação de duas fases

Parâmetro	Valor encontrado	
	Mínimo	Máximo
Umidade	49,6	71,4
pH	4,9	6,8
Condutividade (dS m ⁻¹)	1,2	5,24
Matéria Orgânica (%)	60,3	98,5
C _{ot} /N _t	29,3	59,7
N _t (g/kg)	9,7	18,5
P (g/kg)	0,3	1,5
K (g/kg)	6,3	29,0
Ca (g/kg)	2,3	12,0
Mg (g/kg)	0,5	1,7
Na (g/kg)	0,2	1,0
Fe (mg/kg)	526	2600
Cu (mg/kg)	13	138
Mn (mg/kg)	13	67
Zn (mg/kg)	10	27
Lignina (%)	19,8	47,5
Hemicelulose (%)	15,3	38,7
Celulose (%)	17,3	33,7
Lipídios (%)	3,76	18,0
Proteínas (%)	6,7	7,2
Carboidratos (%)	9,6	19,3
Compostos fenólicos (%)	0,5	2,4
Pb, Cd, Cr, Hg (mg/kg)	< 1	< 5

Fonte: Roig, Cayuela & Sánchez-Monedero (2006).

A partir do bagaço de oliva é possível obter o óleo de bagaço, por extração com solventes orgânicos. Méndes, Moral e Méndes (2006) relatam que o óleo de bagaço é o principal subproduto do processamento de azeite, contribuindo com o problema ambiental gerado pelo resíduo e desempenhando papel importante na atividade

econômica do setor da extração, refino e engarrafamento do óleo de bagaço. Contudo, implica em alto gasto energético na secagem, e, além disso, estudos indicam que como consequência das elevadas temperaturas aplicadas formam-se hidrocarbonetos aromáticos policíclicos no óleo obtido deste bagaço (ERGÖNÜL & SÁNCHEZ., 2013).

Nunes *et al.* (2018) apontam o bagaço de oliva como boa fonte de compostos químicos lipídicos. Em geral a fração lipídica do bagaço de oliva apresenta antioxidantes como a vitamina E na sua forma ativa que é o α -tocoferol; além do alto teor de ácidos graxos monoinsaturados, favorável a aplicações em formulações de alimentos e cosméticos, devido a sua maior estabilidade oxidativa quando comparado a outros óleos ricos em ácidos poli-insaturados.

Nunes *et al.* (2018) usaram a liofilização para preservar amostras de bagaço de oliva e assim estudar seus componentes lipossolúveis e hidrossolúveis. Dias *et al.* (2017) usou a liofilização como processo de secagem do bagaço de oliva e avaliou o tempo e a quantidade de solvente para extração do óleo do bagaço.

A liofilização, ou secagem pelo emprego do frio e vácuo, foi usada pela primeira vez em escala industrial na década de 1940, representando um método de remoção de água que não expõe o produto a altas temperaturas, preservando assim alguns aspectos relevantes de sua qualidade. O processo de liofilização consiste essencialmente em duas etapas, primeiramente há o congelamento da água contida na estrutura biológica de interesse, logo após, o produto é seco por sublimação direta do gelo sob uma pressão reduzida (TELIS & MAURO, 2016). Na Figura 5 está um esquema básico do funcionamento de um liofilizador.

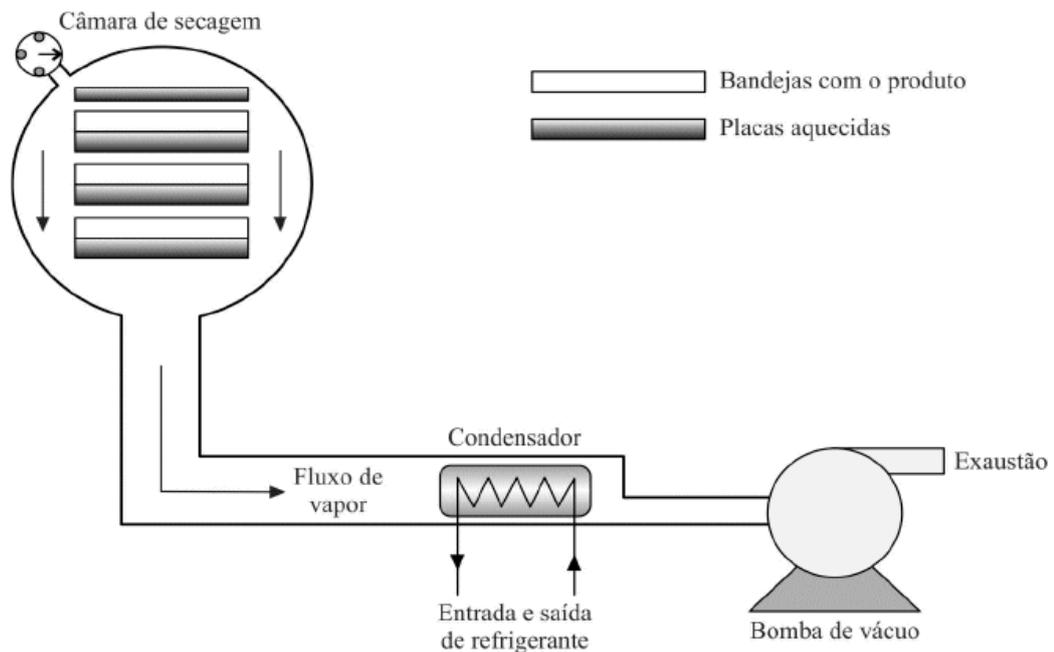


Figura 5 - Esquema básico do funcionamento de um liofilizador.
Fonte: Telis & Mauro, 2016.

O crescente interesse no extrato lipídico de bagaço de oliva é devido aos seus constituintes menores com potencial bioativo, geralmente incluídos na matéria insaponificável como esteróis, álcoois graxos, tocoferóis, álcoois triterpenos e esqualeno (CHANIOTI & TZIA, 2017). Este extrato lipídico pode ter aplicações em indústrias de alimentos ou cosméticos. Neste último, na fabricação de sabão, excipiente em formulações cosméticas ou como ingrediente ativo (RODRIGUES, 2017; RODRIGUEZ *et al.*, 2008; ROSELLÓ-SOTO *et al.*, 2015).

A produção de óleo de bagaço de oliva é realizada por extração com solvente usando hexano (CHANIOTI & TZIA, 2017). O hexano tem sido selecionado como um excelente solvente de extração por muitos anos devido às suas propriedades apolares, recuperação e reutilização eficientes, alta seletividade a óleos, extração eficiente e baixo custo energético (LI, PORDESIMO & WEIS, 2004). Uma alternativa tecnológica que visa melhorar a extração de compostos lipofílicos de fontes vegetais é o ultrassom (CHANIOTI & TZIA, 2017).

O óleo de bagaço de oliva apresenta muitas semelhanças com o azeite; ambos os óleos são derivados de azeitonas; o azeite obtido por processo mecânico (centrifugação, sem uso de solvente) e o óleo de bagaço por extração por solvente. Embora esses óleos não se diferenciem expressivamente no perfil de ácidos graxos, o óleo de bagaço de oliva tem maior teor de matéria insaponificável do que o azeite. O

óleo bruto do bagaço de oliva e o azeite extravirgem apresentam perfil semelhante de compostos fenólicos (MORAL & MÉNDEZ, 2006). Deste modo, a recuperação sustentável da fração insaponificável é considerada importante para aplicações industriais (MOGHADDAM *et al.*, 2012).

A recuperação de esteróis e esqualenos, bem como sua adição para enriquecimento de produtos destinados aos setores industriais de alimentos e farmacêuticos são importantes como fontes naturais, valorizando o bagaço de oliva (CHANIOTI & TZIA, 2017).

Martins (2016) relata que tem sido estudada a recuperação dos compostos fenólicos da fração sólida do bagaço de azeitona após a retirada da fração lipídica e o n-hexano ou o éter de petróleo são os solventes mais usados para extrair os lipídios presentes nestes resíduos da extração de azeite.

Brenes *et al.* (2004) verificaram que o óleo do bagaço de oliva extraído com solvente tradicional (hexano) apresentou baixa concentração de compostos fenólicos.

Lafka *et al.* (2011) verificaram que o etanol se revela um melhor solvente para a recuperação de compostos fenólicos que o acetato de etila em processos de extração sólido-líquido realizados no bagaço de oliva.

Tais estudos indicam que devem ser modificados os métodos tradicionais de refino para obter um óleo de bagaço com qualidade semelhante ao azeite extravirgem.

Os extratos obtidos por estes processos são normalmente avaliados pelo seu conteúdo fenólico pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. A identificação e a quantificação de compostos antioxidantes presentes têm sido realizada por técnicas de cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC-DAD), fazendo uso de padrões que permitem a identificação destes compostos. Zbakh, El-Abbassi (2012), Kalogerakis *et al.* (2013) e Lafka *et al.* (2011) verificaram por HPLC que o hidroxitirosol é o composto que se encontrava em maior quantidade nestes extratos.

4.6 Extração sólido-líquido assistida por ultrassom

O ultrassom é um processo que utiliza a energia de ondas sonoras que geram uma única vibração as quais causam a cavitação em frequência superior à capacidade auditiva do ouvido humano. A Figura 6 ilustra um esquema do fenômeno de cavitação. O termo cavitação é utilizado para descrever a formação de bolhas ou cavidades no meio líquido, contendo quantidades variáveis de gás ou vapor. Quando a cavitação

ocorre nas células e macromoléculas em suspensão aquosa, sua estrutura e funcionalidade podem ser alteradas (OKUNO, CHOW & CALDAS, 1986). Sob o tratamento de ultrassom, as bolhas são geradas durante o período de pressão negativa e comprimidas, causando o aumento da pressão e temperatura que leva ao colapso das bolhas. O fenômeno de cavitação é dividido em três estágios, sendo eles: nucleação (formação de bolhas de ar), desenvolvimento das bolhas e violenta implosão (LUZ, 1998).

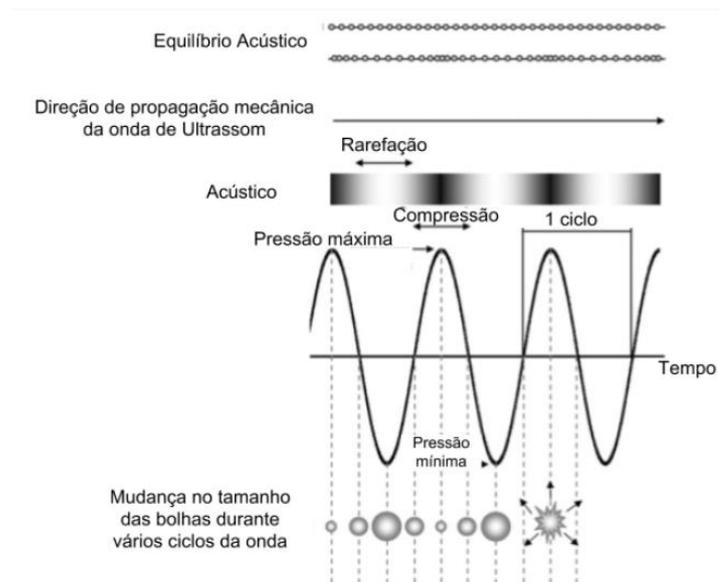


Figura 6 – Ilustração do processo de cavitação
Fonte: Adaptado de Soria & Villamiel, 2010.

A extração sólido-líquido assistida por ultrassom, cuja denominação é *Ultrasound Assisted Extracton* (UAE), foi reconhecida como uma abordagem que engloba energia acústica e solventes para extrair compostos alvo de vários materiais vegetais (CHANIOTI & TZIA, 2017). Quando o colapso ocorre perto da superfície sólida, uma "onda de choque" resultante rompe as paredes celulares facilitando a penetração do solvente no material, permitindo a liberação de compostos bioativos (CHANIOTI & TZIA, 2017). O aumento da penetração do solvente nas células leva a um aumento da transferência de massa (HEMWIMOL, PAVASANT & SHOTIPRUK, 2006; WEI *et al.*, 2008). Outro efeito do ultrassom sobre a matriz é o inchamento e a hidratação causados pelo alargamento dos poros das paredes celulares. Esse efeito melhora o processo de difusão e aumenta também a transferência de massa (VINATORU, 2001).

O ultrassom rompe as paredes das células vegetais, facilita a liberação de compostos extraíveis e aumenta o transporte de massa de solvente da fase contínua para as células vegetais (LI, PORDESIMO & WEIS, 2004). O método oferece muitas vantagens, como maior eficiência, tempo de extração reduzido, baixo consumo de solvente e alto nível de automação em relação ao método de extração convencional (CHANIOTI & TZIA, 2017; JERMAN, TREBEB & MOZETIZ-VODOPIVEC, 2010). As principais vantagens da técnica de ultrassom são: alta reprodutibilidade da técnica, baixo custo e rapidez (LUZ, 1998).

O método de extração assistida por ultrassom é proposto entre os outros métodos de extração alternativos devido a várias vantagens. Oferece rendimentos melhorados, ao mesmo tempo que diminui o tempo e a temperatura de extração, evitando a deterioração térmica dos extratos e preservando as propriedades estruturais e moleculares dos compostos bioativos (TIAN *et al.*, 2013).

Relatos sobre UAE de oleaginosas são apenas focados na recuperação de óleo e não na recuperação dos componentes químicos da fração insaponificável (CHANIOTI & TZIA, 2017). O ultrassom também tem sido utilizado na extração e determinação de compostos fenólicos em morangos e extração de óleo de soja (NASCIMENTO, 2015).

Considerando que parte dos compostos fenólicos do fruto da oliveira não é incorporado no azeite, permanecendo no bagaço de azeitona, o ultrassom pode ser utilizado na recuperação de extrato lipídico e dos compostos fenólicos presentes nesse resíduo.

5 Material e métodos

5.1 Material

Neste estudo foram utilizados azeite de oliva comercial e bagaço liofilizado a partir do bagaço de oliva, ambos provenientes de uma propriedade produtora de azeite de oliva localizada na Estrada da Guarda Velha, nº 20 com latitude -31,49998 e longitude -53,50806 no município de Pinheiro Machado, Rio Grande do Sul.

O azeite de oliva comercial do tipo extravirgem, resultante de um *blend* de variedades, foi adquirido em maio de 2017, logo após processo de extração utilizando sistema de duas fases, e envase. Os 18 frascos de vidro de cor verde com capacidade de 250mL cada, contendo o azeite do tipo extravirgem, foram identificados por números sequenciais de 1 a 18 (correspondente ao número de meses de armazenamento) e mantidos no Laboratório dos Olivais do Pampa (LOPA) na Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) em prateleiras com incidência de luz natural e artificial do laboratório durante o dia e no escuro à noite, sob temperatura ambiente. Durante os 18 meses de armazenamento, a temperatura ambiente média no outono e inverno ficou entre 18,8°C e 16,1°C (com amplitude de -1°C e 33°C), e na primavera e verão entre 22°C e 26,5°C (com amplitude de 8°C a 37°C), segundo dados colhidos no período pelas estações meteorológicas do aeroporto Comandante Gustavo Kraemer (BGX/SBBG), localizado no município de Bagé.

O bagaço de oliva da variedade arbequina foi coletado em uma caixa térmica de 18 litros logo após o processo de extração do azeite de oliva obtido pelo processo de duas fases, em março de 2019 (Figura 7), e encaminhado para o LOPA, onde foi fracionado em porções de aproximadamente 150g acondicionadas em caixas plásticas de poliestireno cristal transparente com tampa (tipo Gerbox), e congeladas em ultra freezer (INDREL SCIENTIFIC – modelo IULT) a -75°C ± 0,5 para posterior liofilização. Uma fração de 150g do bagaço foi mantida descongelada para imediata caracterização físico-química.



Figura 7 - Coleta do bagaço de oliva após a centrifugação para separação azeite/bagaço.

Fonte: autora

5.2 Metodologia

O estudo resultou em dois experimentos. O primeiro com o objetivo de avaliar a vida útil do azeite de oliva comercial do tipo extravirgem, e o segundo para analisar o processo de extração do extrato lipídico de bagaço liofilizado por ultrassom.

Experimento 1: Vida útil do azeite de oliva comercial do tipo extravirgem

O azeite de oliva comercial foi avaliado no início do armazenamento e ao longo de 18 meses, sendo todas as análises realizadas em triplicata.

O frasco de azeite de oliva identificado com o número um (1), correspondente ao início do experimento e ao primeiro mês de armazenamento foi caracterizado quanto aos parâmetros de qualidade estabelecidos pela legislação brasileira, descritos na Instrução Normativa MAPA nº 1/2012 (BRASIL, 2012): índice de peróxido expresso em miliequivalentes de oxigênio reativo por quilograma de amostra ($\text{meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$), acidez livre expresso em gramas de ácido oleico por 100g de amostra (% ác. oleico), coeficiente de extinção específica por absorção na região do ultravioleta nos comprimentos de onda de 270 e 232nm. Também foi caracterizado quanto ao índice de refração (Raia D a 20°C) e índice de iodo (Wijs) determinados de acordo com as metodologias descritas nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008) e a umidade pelo método de titulação Karl Fischer, realizado em titulador automático Modelo KF- 1000, expressa em percentagem (%). Além destes parâmetros legais, determinou-se a viscosidade cinemática (ν) em viscosímetro tipo

Copo Ford, onde foi medido o tempo de escoamento da amostra através do orifício medindo 3,0mm, e densidade pelo ensaio de picnometria, conforme metodologias de Cremasco (2012). A cor foi mensurada através do colorímetro LOVIBOND®, PFR-*i* Series (LOVIBOND, 2022), através da leitura direta do azeite em cubeta de vidro de 5¼``de caminho ótico (AOAC, 2005). A medida das cores foi feita por meio de comparações entre a cor da amostra analisada e a escala de cores Lovibond, que contempla medidas de cor para vermelho (0,1-70,0), amarelo (0,1 – 70,0), azul (0,1-9,0) e neutro (0,1-3,0) (FRANÇA, SANTOS & LIMA, 2007).

Ao longo do período de 18 meses foi realizada mensalmente a abertura de um frasco do azeite de oliva comercial, conforme ordem numerada sequencial de 2 a 18, e avaliados em triplicata o índice de peróxido, a acidez livre e o coeficiente de extinção conforme metodologias citadas.

Os compostos fenólicos totais foram quantificados pelo método de Folin-Ciocalteu, conforme metodologia de Singleton & Rossi (1965), com adaptações. O extrato foi obtido a partir de 1 g do azeite de oliva comercial em 10mL de metanol, agitado em vórtex por 1 min e colocado em banho-maria a 25°C por 3 horas. Após o tempo de extração dos compostos, a solução foi filtrada em algodão e transferida para um balão volumétrico de 10mL, e o volume completado com metanol. Alíquota de 1 mL do extrato foi diluída em 10mL de água destilada e 0,5mL do reagente Folin-Ciocalteu.

Passados 3 minutos adicionou-se 1,5mL de carbonato de sódio 20% e a mistura foi mantida em ambiente escuro por 2 horas. O meio reacional foi transferido para cubeta de quartzo de 10mm e seguiu-se a leitura direta da absorbância no comprimento de onda de 765nm em espectrofotômetro Biospectro®/SP-220, previamente zerado com metanol. O teor de fenóis totais foi determinado empregando-se a equação da reta obtida pela curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (Equação 1) e expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por 100g de óleo.

$$y = 0,009x + 0,0202 \quad (R^2 = 0,9991) \quad (\text{Eq. 1})$$

Experimento 2: Obtenção de extrato lipídico de bagaço de azeitona por ultrassom

Caracterização do bagaço de oliva *in natura* e liofilizado

A composição centesimal do bagaço de oliva *in natura* foi determinada logo após a chegada do material ao LOPA, e o bagaço liofilizado (BL) após realizado todo o processo de liofilização do material congelado. As análises de umidade, cinzas, proteína, lipídio e fibra bruta foram realizadas, em triplicata, conforme metodologias descritas pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). A determinação do conteúdo provável de outros carboidratos foi obtida pela diferença entre 100 (percentual total) e o somatório dos percentuais encontrados para umidade, cinzas, proteína, lipídio e fibra bruta.

No bagaço de oliva *in natura* e no bagaço liofilizado (BL) também foi avaliada, em triplicata, a atividade antioxidante e o conteúdo total de compostos fenólicos.

A atividade antioxidante foi determinada através do método de redução do radical DPPH• (1,1 – difenil – 2 – picrilhidrazil) proposta por Brand-Williams, Cuvelier & Berset (1995), com adaptações. Foi preparada uma solução de 100mL e metanol contendo 24mg do radical DPPH• e armazenada sobre refrigeração. Para a reação foi preparada uma diluição da solução do radical DPPH onde utilizou-se uma alíquota de 10mL da solução armazenada e 45mL de metanol, esta solução foi ajustada para permanecer na faixa de $1,1 \pm 0,02$ de absorvância a 517nm. As amostras de bagaço *in natura* e de bagaço liofilizado foram pesadas (2,5g) em tubos Falcon de 50mL e homogeneizadas por 1 min em 10mL de metanol usando vórtex e armazenadas em baixa temperatura (2 – 4°C) por 24 horas. Após este período cada amostra foi centrifugada por 15 min, 12.000 rpm a 4°C. O sobrenadante (100 µL) foi colocado em tubo de ensaio e adicionado de 3,9mL da solução diluída de DPPH com absorvância ajustada. Para obter o fator de correção foi preparado o branco da mesma forma utilizando somente metanol. A absorvância foi medida em espectrofotômetro (Biospectro®/SP – 220) calibrado com metanol, no comprimento de onda de 517nm, e a leitura realizada em cubeta de quartzo de 10mm de caminho ótico. a. A atividade de captura do radical DPPH• foi expressa em porcentagem de inibição de acordo com a Equação 2.

$$\%I = \left(\frac{A_{branco} - A_{amostra}}{A_{branco}} \right) * 100 \quad (2)$$

Sendo: %I inibição do radical livre DPPH• pela amostra, A_{λ} absorvância no respectivo comprimento de onda.

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, conforme metodologia de Singleton & Rossi (1965) descrita na avaliação da vida útil do azeite comercial.

Redução da umidade do bagaço de oliva

O bagaço de oliva *in natura* congelado a $-75^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ foi liofilizado em equipamento Liofilizador de bancada (LIOTOP – Modelo L101) (Figura 8), por 30 horas a temperatura de $-55^{\circ}\text{C} \pm 0,1$.

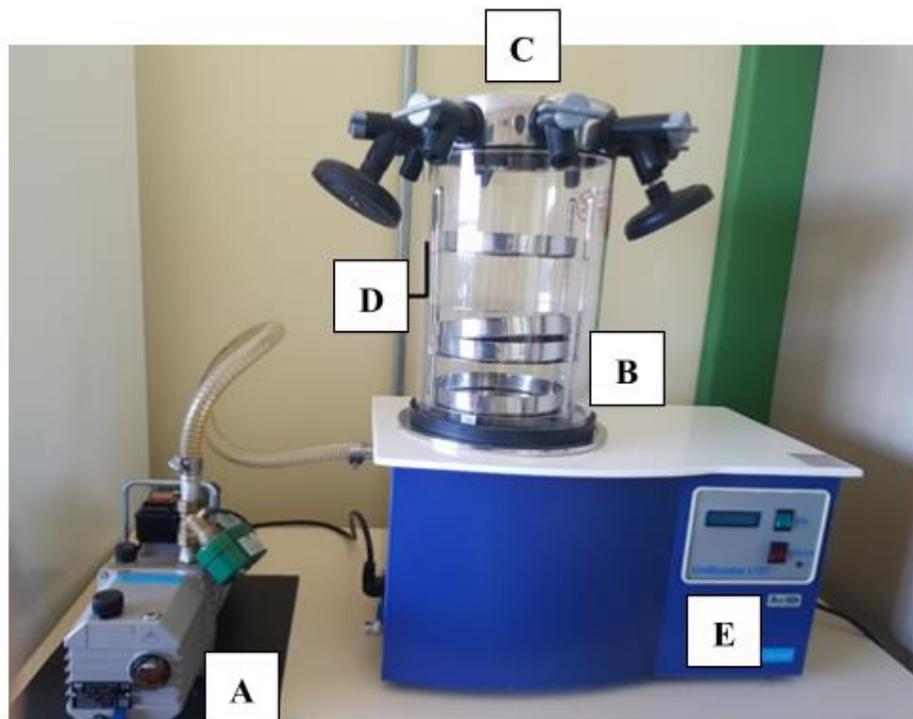


Figura 8 - Liofilizador utilizado na redução do teor de umidade do bagaço de oliva. (A) Bomba de vácuo, utilizada para redução da pressão (até ponto de sublimação da água); (B) Câmara (campânula/plataforma) em acrílico; (C) Tampa superior em aço inox acoplada de válvulas para controle do vácuo; (D) Estante e bandejas do liofilizador, local na qual as amostras foram posicionadas para serem liofilizadas; (E) Painel eletrônico do equipamento.

Fonte: Pereira, 2019.

O bagaço liofilizado (BL) foi triturado em moinho analítico de facas (Modelo IKA A11 Basic Mill). Utilizando peneira para análise granulométrica com malha 20 Mesh/Tylre com abertura de $850 \text{ mm}/\mu\text{m}$, foi feita a peneiração para remoção de partículas maiores de $850 \text{ mm}/\mu\text{m}$ como partes de sementes e tegumentos que não foram triturados. Após o peneiramento as amostras de BL foram submetidas à extração do extrato lipídico por ultrassom conforme descrito a seguir.

Extração por ultrassom do extrato lipídico do bagaço liofilizado

As extrações do extrato lipídico do BL por *Ultrasound Assisted Extracton* (UAE) foi realizada em banho ultrassônico Unique (Modelo USC2800A) na frequência 40kHz e potência US: 154w (Figura 9).

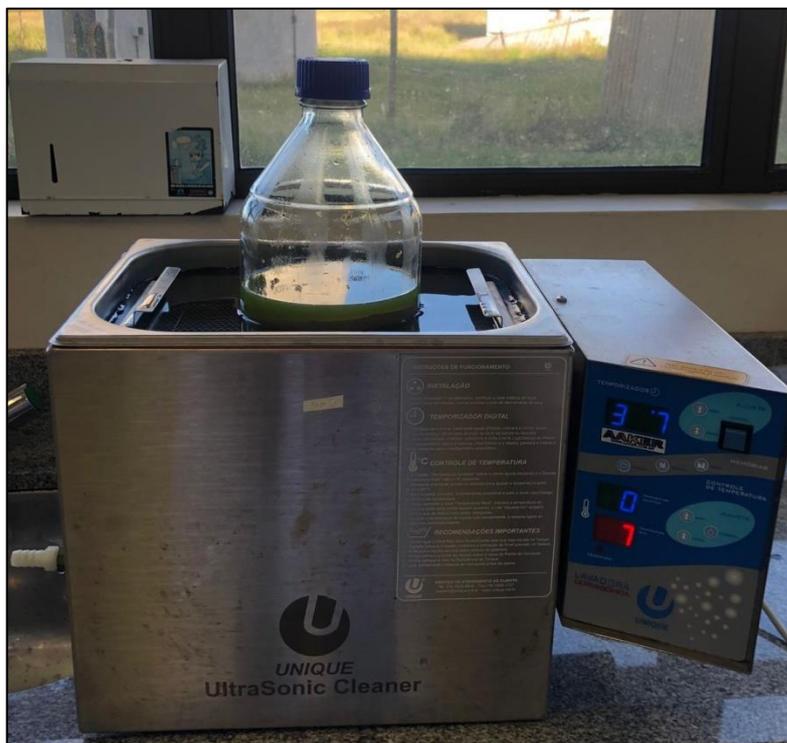


Figura 9 – Banho ultrassônico empregado nas extrações do extrato lipídico de bagaço de oliva, liofilizado.

Fonte: autora

Para extração, o bagaço liofilizado e peneirado foi colocado em frascos com tampa de rosca na quantidade de 30 g, acrescido do solvente e submetido à sonicação.

Para avaliar os efeitos das condições de operação de extração por UAE do extrato lipídico do bagaço liofilizado no rendimento de extração, nos fenóis totais e na atividade antioxidante, os experimentos foram realizados com base em um planejamento experimental do tipo fatorial completo (RODRIGUES & IEMMA, 2005) com três variáveis independentes (2^3) e três repetições no ponto central, totalizando 11 tratamentos (Tabela 1).

Os fatores estudados no planejamento experimental foram a proporção de bagaço liofilizado (BL) em relação ao solvente (etanol), o tempo de contato entre eles, e a temperatura de extração, cujos níveis foram determinados por meio de testes preliminares, sendo que para a variável proporção de BL:etanol usou-se para a menor proporção 1:2 (nível -1) e a maior proporção 1:18 (nível +1), para a variável tempo o

menor valor 30 minutos (nível -1) e o maior valor 60 minutos (nível +1) e para a variável temperatura o menor valor 30°C (nível -1) e o maior 60°C (nível +1).

As variáveis resposta (dependentes) foram atividade antioxidante (DPPH) expressa em (%), teor total de fenol (mg EAG 100g⁻¹ de óleo) e rendimento da UAE expressa em (%).

Tabela 1 - Matriz do planejamento experimental fatorial completo (2³), com as variáveis reais e codificadas, para extração por ultrassom do extrato lipídico do bagaço liofilizado (BL)

Tratamentos	Variáveis independentes		
	Proporção solvente (BL:etanol)	Tempo (min)	Temperatura (°C)
T1	1:2 (-1)	30 (-1)	30 (-1)
T2	1:2 (-1)	60 (+1)	30 (-1)
T3	1:2 (-1)	30 (-1)	60 (+1)
T4	1:2 (-1)	60 (+1)	60 (+1)
T5	1:18 (+1)	30 (-1)	30 (-1)
T6	1:18 (+1)	60 (+1)	30 (-1)
T7	1:18 (+1)	30 (-1)	60 (+1)
T8	1:18 (+1)	60 (+1)	60 (+1)
T9	1:10 (0)	45 (0)	45 (0)
T10	1:10 (0)	45 (0)	45 (0)
T11	1:10 (0)	45 (0)	45 (0)

Após a extração por UAE, foi realizada a filtração em funil de Büchner sob vácuo para a retirada da parte sólida do bagaço. A parte líquida foi rotaevaporada a 40°C, sob vácuo, separando-se o extrato lipídico do solvente. Traços do solvente remanescentes no extrato lipídico foram removidos em estufa à vácuo a 40°C, por 18 horas.

Após a obtenção do extrato lipídico do bagaço de liofilizado foram realizadas imediatamente as determinações de atividade antioxidante e de fenóis totais.

O rendimento (R) do extrato lipídico do bagaço liofilizado foi calculado pelo quociente entre a quantidade em gramas do extrato lipídico obtido e a quantidade em gramas do bagaço liofilizado (30 g), conforme Equação 3.

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{g de extrato lipídico do bagaço liofilizado}}{30 \text{ g}} * 100 \quad (\text{Eq.3})$$

Metodologia estatística

Os dados sobre a vida útil do azeite de oliva comercial foram submetidos à análise de regressão.

Os dados resultantes da caracterização do bagaço de oliva *in natura* e liofilizado foram submetidos à análise de variância (ANOVA), teste F e, no caso de diferença significativa, submetidos à comparação de médias pelo teste de Tukey. Diferenças entre as médias foram consideradas estatisticamente significantes, no nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$). Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão.

Os dados resultantes do planejamento fatorial completo foram submetidos a teste para normalidade e homocedasticidade. Os dados do planejamento experimental foram analisados pela análise de variância (ANOVA) e a determinação das variáveis com efeito significativo foi feita considerando um intervalo de confiança de 90% ($p \leq 0,10$), usando erro puro para uma estimativa de repetibilidade mais significativa. Com a finalidade de visualizar quais fatores de extração por UAE do extrato lipídico de bagaço de oliva liofilizado tem efeito sobre as respostas, foi utilizado Diagrama de Pareto para visualização dos efeitos.

O tratamento estatístico dos dados foi realizado utilizando o programa *Statistica*[®] para *Windows* versão 7.0 produzido pela *Statsoft*[®].

6 Resultados e discussão

6.1 Vida útil do azeite de oliva comercial

Os resultados determinados no frasco zero para os padrões de identidade preconizados pela legislação brasileira e pelo *Codex Alimentarius* para azeite de oliva estão na Tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização do azeite de oliva comercial tipo extravirgem, produzido na Região da Campanha, RS, em 2017, e parâmetros de identidade e qualidade segundo a legislação

Determinações*	Azeite de oliva comercial	Legislação
Densidade relativa (g/m ³)	0,893 ± 0,01	0,910 – 0,916**
Índice de iodo (gl ₂ /100g)	93 ± 0,51	75 – 94** ***
Índice de refração (n _D ²⁰)	1,4682 ± 0,0354	1,4677 – 1,4705** ***
Viscosidade cinemática (mm ² /cm)	83,66 ± 1,05	-
Umidade (%)	0,1 ± 0,01	≤ 0,2***
Cor Lovibond [®]	2,0V 70A	-

* média de 3 repetições ± desvio padrão.

** valores limites para azeite de oliva segundo *Codex Alimentarius* (CODEX 2017).

*** valores limites para azeite de oliva segundo Instrução Normativa MAPA nº 1/2012 (BRASIL, 2012).

A densidade relativa está relacionada com as características específicas de cada óleo vegetal e indica o peso molecular médio da gordura (MORETTO & FETT, 1998). O azeite analisado apresentou (Tabela 2) um valor de densidade relativa menor que o estabelecido pela norma *Codex Alimentarius* (CODEX, 2017), este parâmetro não é estabelecido pela Instrução Normativa MAPA nº 1/2012 (BRASIL, 2012).

A densidade de um triacilglicerol está relacionada com a eficiência do empacotamento de suas moléculas: quanto mais eficiente o empacotamento, maior a densidade. Assim, ácidos graxos insaturados são capazes de empacotar com menor eficiência, em comparação aos que contêm ácidos graxos saturados lineares e, portanto, tendem a apresentar densidades inferiores (ANDRADE *et al.*, 2017).

O índice de iodo indica o grau de insaturação dos ácidos graxos presentes no azeite. O índice de iodo assim como o índice de refração possibilita também a identificação de adulterações pela mistura com óleos vegetais diferentes. O índice de iodo determinado para o azeite comercial neste estudo (Tabela 2) ficou acima do citado por Mello & Pinheiro (2012), de $88\text{gl}_2\ 100\text{g}^{-1}$, e dentro do que determina o *Codex Alimentarius* (CODEX, 2017) e a Instrução Normativa MAPA nº 1/2012 (BRASIL, 2012) de $75\text{-}94\text{gl}_2\ 100\text{g}^{-1}$.

A determinação do índice de refração é característica para cada tipo de óleo e está relacionado com o grau de saturação das ligações, compostos de oxidação e tratamento térmico (ZENEBON et. al., 2008). O índice de refração do azeite analisado atendeu à faixa específica pelo *Codex Alimentarius* (CODEX, 2017) e à Instrução Normativa MAPA nº 1/2012 (BRASIL, 2012) que é de $1,4677 - 1,4705n_d^{20}$. O mesmo foi encontrado por Paz et al. (2020) para azeites extravirgem de diferentes cultivares produzidos também na região da Campanha, no Rio Grande do Sul.

A viscosidade cinemática relaciona a ação de forças viscosas que se opõem ao escoamento com a ação de forças inerciais que favorecem o escoamento de um fluido (ANDRADE et al., 2017). Verificou-se (Tabela 2) que a viscosidade do azeite comercial ficou abaixo do valor da maioria dos óleos vegetais refinados $0,91$ a $0,92\text{mm}^2/\text{cm}$ (BRASIL, 2006), indicando que o azeite de oliva é mais insaturado, visto que triacilgliceróis com maior grau de insaturação tendem a ser menos viscosos (ANDRADE et al., 2017).

O parâmetro umidade apresentou-se dentro do estabelecido como limite pela legislação para azeite do tipo extravirgem (BRASIL, 2012). A água, embora imiscível com o azeite, pode existir na forma de uma emulsão estabilizada por certos constituintes hidrofílicos. A umidade favorece a hidrólise do azeite, especialmente em azeites cuja acidez inicial é elevada (PAZ et al., 2020).

De acordo com o *Codex Alimentarius* (CODEX, 2017) o azeite de oliva extravirgem deve ser claro, de cor amarela a verde, com odor e sabor específicos. No azeite deste estudo (Tabela 2) verificou-se predominância da cor amarela (70A 2,0V), aspecto importante a ser considerado do ponto de vista sensorial.

O azeite de oliva extravirgem é um produto altamente suscetível à oxidação lipídica e tem sua vida útil fortemente influenciada pelas condições em que é armazenado. Morales & Przybylski (2013) afirmam que a deterioração das

propriedades funcionais ou de qualidade do azeite de oliva durante o envelhecimento está relacionada aos processos oxidativos. Os indicadores da vida útil utilizados neste estudo para azeite comercial foram fenóis totais, índice de peróxido, índice de acidez livre e coeficiente de extinção, cujos resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Avaliações químicas do azeite de oliva comercial tipo extravirgem, produzido na Região da Campanha, RS, em 2017, armazenado durante 18 meses em temperatura ambiente (16,1 a 26,5°C)

Mês	Determinações				
	Índice de peróxido*	Índice de acidez livre*	Coeficiente de extinção *		Fenóis totais*
	(mEq O ₂ kg ⁻¹)	(% ác. oleico)	(270nm)	(232nm)	mg de EAG 100g ^{-1**}
1	ausente	0,22 ± 0,01	0,13 ± 0,02	1,52 ± 0,02	35,41 ± 6,72
2	7,46 ± 0,20	0,23 ± 0,01	0,18 ± 0,00	2,20 ± 0,01	31,98 ± 0,91
3	7,33 ± 0,50	0,22 ± 0,03	0,15 ± 0,00	2,09 ± 0,01	34,50 ± 5,33
4	7,88 ± 0,19	0,29 ± 0,01	0,18 ± 0,01	2,12 ± 0,02	30,13 ± 0,39
5	7,82 ± 0,50	0,30 ± 0,02	0,15 ± 0,00	2,18 ± 0,01	39,03 ± 0,75
6	7,89 ± 0,02	0,28 ± 0,01	0,22 ± 0,00	2,05 ± 0,04	19,31 ± 4,17
7	7,05 ± 0,18	0,34 ± 0,01	0,22 ± 0,01	2,07 ± 0,02	11,77 ± 0,63
8	8,09 ± 0,18	0,35 ± 0,01	0,23 ± 0,01	2,19 ± 0,01	11,77 ± 0,63
9	8,91 ± 0,12	0,34 ± 0,02	0,22 ± 0,00	2,13 ± 0,02	9,83 ± 1,98
10	8,09 ± 0,11	0,38 ± 0,02	0,22 ± 0,02	2,04 ± 0,01	6,04 ± 0,61
11	8,39 ± 0,31	0,55 ± 0,03	0,21 ± 0,00	2,13 ± 0,01	6,45 ± 1,50
12	8,18 ± 0,09	0,38 ± 0,11	0,22 ± 0,00	2,19 ± 0,01	6,81 ± 0,64
13	8,46 ± 0,44	0,57 ± 0,02	0,22 ± 0,00	2,44 ± 0,02	7,78 ± 1,22
14	8,41 ± 0,62	0,76 ± 0,02	0,25 ± 0,02	2,51 ± 0,0	4,58 ± 1,46
15	8,16 ± 0,10	0,71 ± 0,02	0,25 ± 0,00	2,58 ± 0,01	6,96 ± 1,08
16	8,21 ± 0,24	0,70 ± 0,02	0,26 ± 0,00	2,73 ± 0,04	3,75 ± 0,99
17	8,04 ± 0,71	0,90 ± 0,02	0,27 ± 0,01	2,41 ± 0,02	5,73 ± 0,23
18	8,97 ± 0,53	0,99 ± 0,01	0,26 ± 0,01	2,58 ± 0,00	3,27 ± 1,76

* Média de 3 repetições ± desvio padrão.

** EAG equivalente de ácido gálico.

No azeite comercial avaliado neste estudo (Tabela 3) não foi detectada a presença de peróxidos no início do armazenamento (mês 1), pois o azeite foi envasado e trazido para o laboratório onde começaram as análises, não tendo tempo para que ocorresse alguma oxidação.

A partir do segundo mês e ao longo dos dezoito meses de armazenamento foi verificada (Figura 10) a presença de peróxidos, mas dentro do limite estabelecido pela legislação para o índice de peróxido no azeite de oliva que é de $20 \text{ mEq O}_2 \text{ kg}^{-1}$ azeite (BRASIL, 2012). Durante o período analisado verificou-se que do segundo mês até o nono mês houve um crescimento de 20% no índice de peróxido do azeite comercial, após os valores se mantiveram próximos. Os recipientes não foram manuseados até a data de serem avaliados, portanto não houve exposição do azeite ao oxigênio durante o período, apenas o que permaneceu dentro do frasco após o envase. Sanmartin (2018) afirma que o armazenamento de azeites extravirgens sem contato com o oxigênio pode preservar os aspectos composicionais, nutricionais e a qualidade sensorial do azeite.

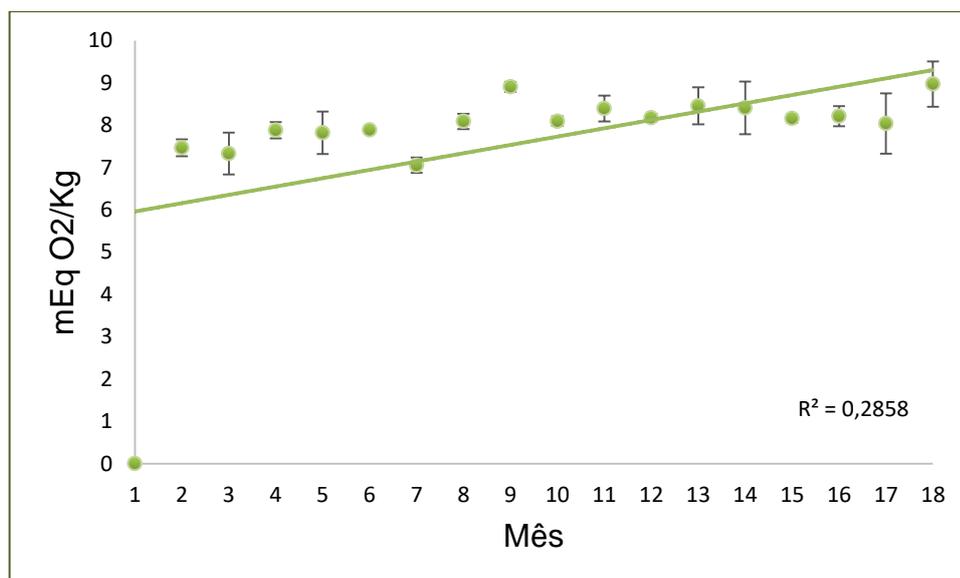


Figura 10 – Variação do índice de peróxido em azeite de oliva comercial tipo extravirgem, produzido na Região da Campanha, RS, em 2017, durante 18 meses de armazenamento em temperatura ambiente.

A principal causa de deterioração de óleos vegetais é a oxidação lipídica, causando alterações na aparência, vida útil, textura, características sensoriais e nutricionais do produto (BOTTI, 2014). Ruiz *et al.* (2017), na avaliação da vida útil, não observaram aumento significativo no valor do peróxido durante o período de 18 meses em duas marcas de azeites comerciais. Sabe-se ainda que no início a reação de oxidação lipídica ocorre de maneira uniforme e lenta dependendo da presença de

antioxidantes naturais. De acordo com os estudos realizados por Araújo (2008), durante as etapas de oxidação os valores de peróxido atingem certas concentrações e depois diminuem. O equilíbrio entre os antioxidantes presentes no azeite e a oxidação lipídica parecem ser suficientes para compensar a formação de radicais (BEŠTER *et al.*, 2008; SILVA, BORGES & FERREIRA, 1999). Decorre inclusive que o azeite extravirgem é rico em ácidos graxos monoinsaturados e isso o torna mais estável, oxidando menos facilmente (AHMED & OKASHA, 2016).

A acidez mede a porcentagem de ácidos graxos que se encontram livres na estrutura dos triacilgliceróis. Este método detecta a ocorrência de anomalia resultante do mau estado da azeitona e ou das más condições de processamento (SANTOS, 2009). O azeite comercial apresentou evolução do índice de acidez (Figura 11), que se manteve dentro dos limites estabelecidos pela legislação ($\leq 0,8\%$ ác. oleico) (BRASIL, 2012) até o décimo sexto mês.

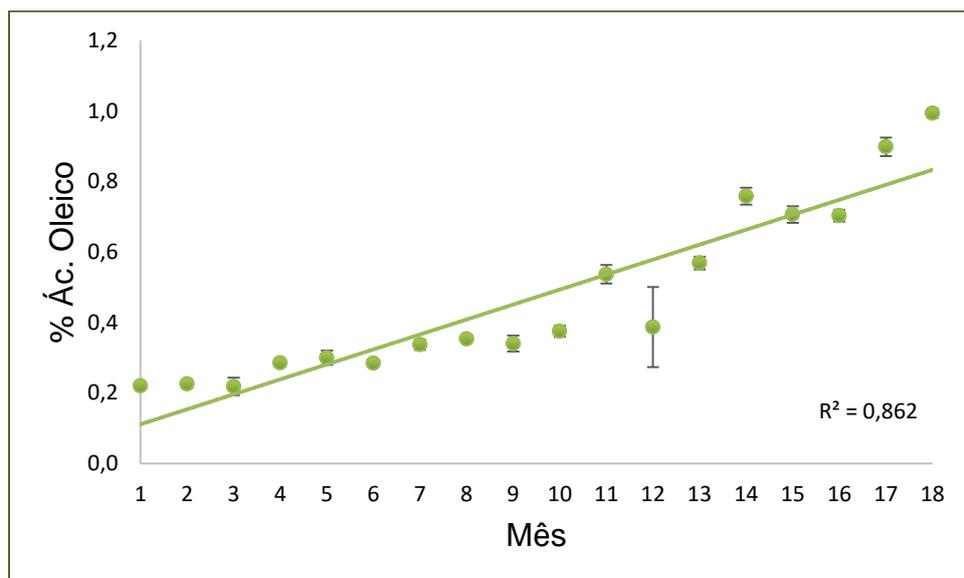


Figura 11 – Variação da acidez em azeite de oliva comercial tipo extravirgem, produzido na Região da Campanha, RS, em 2017, durante 18 meses de armazenamento em temperatura ambiente.

Neste estudo (Figura 11), os dados corroboram com estudos dirigidos por Ruiz *et al.* (2017) que também verificaram aumento nos valores de acidez durante o período de 18 meses em duas marcas de azeites comerciais. Mello & Pinheiro (2012) encontraram valores entre 0,38% e 0,40%. Andrade *et al.* (2017) encontraram valores entre 0,18% e 0,19% para índice de acidez em azeites da região da Campanha, neste estudo foi encontrado valores entre 0,22% no primeiro mês a 0,70% no décimo sexto mês. Esses valores de índice de acidez e umidade próximos à zero indicam um processamento eficiente. Neste estudo, a partir do décimo sétimo mês o azeite

apresentou acidez livre maior que o permitido pela legislação, deixando de ser considerado azeite do tipo extravirgem (BRASIL, 2012), embora este parâmetro por si só não defina a qualidade do azeite (JORGE, 2015).

A análise espectrofotométrica do azeite de oliva na região do ultravioleta fornece informações sobre o estado de conservação, identidade e alterações causadas pelo processamento. A análise de dienos e trienos conjugados é feita a partir do coeficiente de extinção específica, K_y , em cada comprimento de onda. O K_{232} é a variável correspondente à formação das estruturas de dienos conjugados. Enquanto o K_{270} refere-se aos trienos conjugados. Assim como o índice de peróxido, a formação de dienos conjugados está relacionada ao início do processo de oxidação de óleos (hidroperóxidos e radicais peróxidos). Enquanto que a formação de compostos secundários de estruturas mais estáveis, os trienos conjugados (cetonas insaturadas e aldeídos). O limite para os valores de dienos e trienos conjugados no azeite é $\leq 2,50$ e $\leq 0,22$, respectivamente (BRASIL, 2012).

A degradação do azeite de oliva comercial em estudo (Tabela 3) foi observada por meio das análises de coeficiente de extinção específica a partir do oitavo mês de estocagem, quando o índice de trienos teve extinção acima de 0,22 e a partir do décimo quarto mês apresentou extinção dos dienos acima de 2,50. Na Figura 12 pode-se visualizar o aumento linear dos coeficientes de extinção no azeite de oliva comercial.

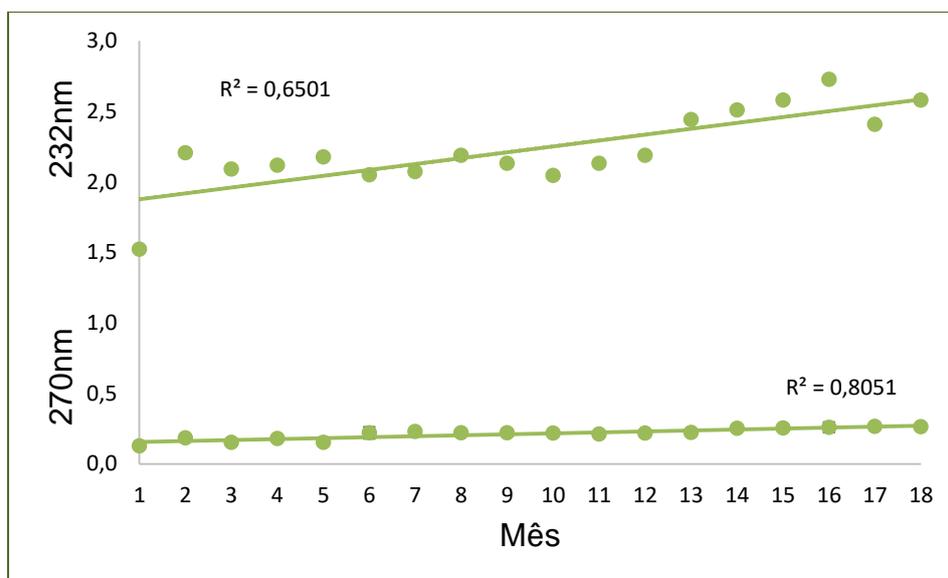


Figura 12 – Variação do coeficiente de extinção em azeite de oliva comercial tipo extravirgem, produzido na Região da Campanha, RS, em 2017, durante 18 meses de armazenamento em temperatura ambiente.

Bubola *et al.* (2014) avaliaram azeites por 12 meses e observou que o único parâmetro que ultrapassou os limites da legislação para azeite extravirgem foi o dieno. Neste estudo, apesar do índice de peróxido manter-se estável, ocorreu oxidação secundária conforme demonstrado pela análise do composto dieno.

Andrade *et al.* (2017), avaliando azeites durante 4 meses, encontraram valores de trienos entre 0,14 a 0,18 e valores de dienos entre 1,50 a 2,28. Já Mello & Pinheiro (2012) encontraram 0,19 e 0,16 para trienos e 2,97 e 2,77 para dienos em duas marcas de azeite.

Na Tabela 3 verifica-se que o teor de fenóis apresentou variação de 39,03 a 3,27mg de EAG 100g⁻¹ de óleo. Rodeghiero (2016) encontrou variações de 15,6 a 6,1mg de EAG 100g⁻¹ de óleo no teor de compostos fenólicos em azeites de diferentes cultivares da Região da Campanha abrangendo a fronteira leste e sul. Mello & Pinheiro (2012) encontraram teores de compostos fenólicos entre 493,20 a 527,00mg de ácido caféico L⁻¹ em duas amostras de azeites da Região da Campanha abrangendo a fronteira leste.

A variação na concentração de compostos fenólicos totais em azeite de oliva comercial tipo extravirgem apresentada na Figura 13 demonstra a degradação destes compostos durante 18 meses de armazenamento em temperatura ambiente.

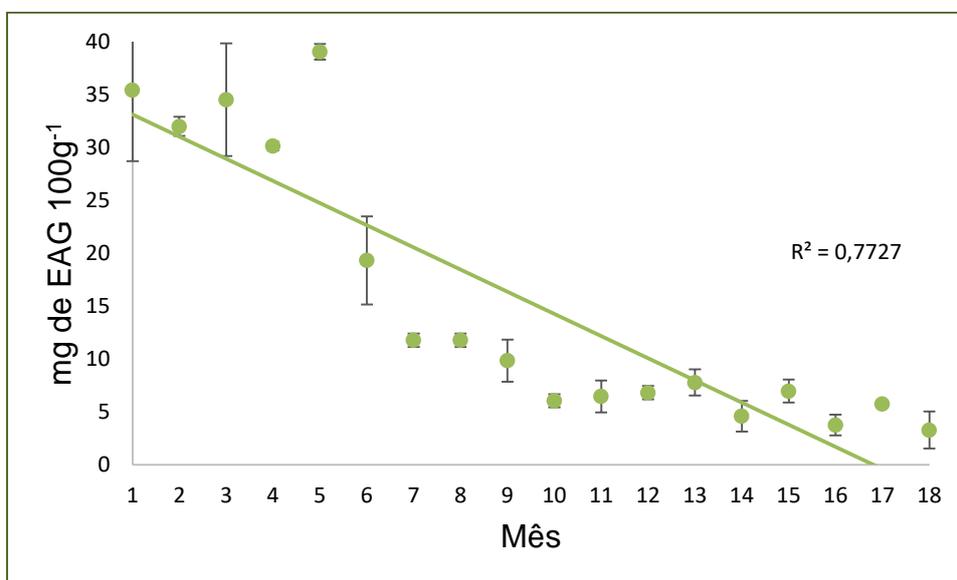


Figura 13 – Variação na concentração de compostos fenólicos totais em azeite de oliva comercial tipo extravirgem, produzido na Região da Campanha, RS, em 2017, durante 18 meses de armazenamento em temperatura ambiente.

Os processos da produção do azeite como processamento e embalagem, além da cultivar da planta, estágio de maturação do fruto e fatores climáticos (INAREJOS-

GARCÍA & FREGAPANE, 2011; BAJOUB *et al.*, 2015; BALLUS *et al.*, 2015; FRANKEL *et al.*, 2013; DABBOU *et al.*, 2010), determinam o teor de compostos fenólicos do azeite.

O azeite comercial extravirgem apresentou elevados teores de compostos fenólicos durante os primeiros meses validando a qualidade e estabilidade do azeite. A determinação da fração de compostos fenólicos é um parâmetro que avalia a qualidade do produto no aspecto nutricional e do ponto de vista sensorial, uma vez que estes compostos interferem marcadamente nas características sensoriais de amargo e picante (MELLO & PINHEIRO, 2012).

Os compostos fenólicos do azeite comercial diminuíram expressivamente e gradativamente a partir do sexto mês de armazenamento, apresentando ao final de 18 meses uma redução em torno de 92% nestes compostos.

A concentração de compostos fenólicos do azeite evolui dependendo da concentração inicial de antioxidantes e das condições de armazenamento do mesmo (RUIZ *et al.*, 2017). Muitos compostos que mudam em suas concentrações durante o prazo de validade do azeite revelam sua degradação, mas não necessariamente implicam em deterioração nas propriedades de aroma ou sabor. São vários os fatores que influenciam na qualidade do azeite de oliva, portanto a caracterização físico-química permite identificar e determinar o grau de pureza e a interpretação dos resultados comparados à legislação específica da Instrução Normativa MAPA nº 1/2012 auxilia na classificação e avaliação dos azeites (BRASIL, 2012).

Os compostos fenólicos fornecem resistência à degradação oxidativa, porém seu teor no produto armazenado está diretamente ligado ao teor inicial destes compostos no azeite. Conforme Tsimidou (2005), entre os fatores críticos que podem afetar o conteúdo estão o armazenamento e a embalagem. Krichene, Salvador & Fregapane (2015) confirmaram que as condições de armazenamento afetam o teor de fenóis totais. Condições físicas flutuantes durante a vida útil como mudanças de temperatura, oxigênio e luz causam a deterioração oxidativa e hidrolítica do azeite, diminuindo sua vida útil e afetando a qualidade sensorial (KRICHENE, SALVADOR & FREGAPANE, 2015).

Fregapane *et al.* (2013) estudaram conceitos relacionados à estabilidade do azeite comercial determinado como ponto chave à oxidação lipídica, principal causa da deterioração da qualidade do azeite. Como foi demonstrado neste estudo (Figura 12), o coeficiente de extinção do azeite comercial foi o primeiro índice de oxidação a exceder

o limite de qualidade estabelecido pela legislação específica da Instrução Normativa MAPA nº 1/2012 (BRASIL, 2012), o que ocorreu a partir do oitavo mês com a redução dos triênios conjugados, embora Fregapane *et al* (2013) apresentem o dienio como primeiro índice de oxidação a exceder o limite de qualidade do azeite comercial do tipo extravirgem. O índice de acidez (Figura 11) atingiu o limite máximo ($\leq 0,8\%$ ác. oleico) (BRASIL, 2012) a partir do 17º mês de armazenamento, e o teor de compostos fenólicos (Figura 13) decresceu durante todo o período. A legislação brasileira não aponta limites para estes compostos; contudo, sua presença pode auxiliar na conservabilidade do azeite extravirgem.

O azeite comercial do tipo extravirgem analisado manteve-se estável até o 8º mês, quando apresentou sinais de degradação, perdendo a classificação de extravirgem a partir deste momento (BRASIL, 2012). A redução observada nos teores de fenóis totais durante os 18 meses, provavelmente interfere nas características sensoriais deste azeite. O armazenamento do azeite, em condições ambientais durante 18 meses contribuiu para sua degradação, demonstrando a necessidade de controlar a incidência de luz e a variação da temperatura durante o período. As alterações químicas constatadas durante os 18 meses de armazenamento evidenciam deterioração e comprometimento à qualidade do produto, embora não classifique o azeite como impróprio para o consumo.

6.2 Composição centesimal, teor de fenóis totais e atividade antioxidante do bagaço de oliva

O bagaço de oliva *in natura* apresentou composição centesimal (Tabela 4), compatível com o que é relatado na literatura para umidade, lipídios e carboidratos e menor percentual de cinzas, proteína e fibra (JÚLIO, 2015; TEIXEIRA, FILHO & GAUTÉRIO, 2015; ROIG, CAYUELA & SÁNCHEZ-MONEDERO, 2006; BOSKOU, 1998; DIAS & PEREIRA, 2017). Fatores edafoclimáticos podem influenciar a composição centesimal alterando o teor de umidade, bem como o perfil de compostos químicos do bagaço de oliva, além de outros fatores como as práticas agrícolas, cultivar ou o estágio de maturação (PORTARENA BALDACCHINI & BRUGNOLI, 2017).

O processo de liofilização reduziu em 89,8% a umidade do bagaço de oliva *in natura*, concentrando os demais compostos ($p \leq 0,05$) (Tabela 4). A retirada da água

mantém a estabilidade lipídica do produto e facilita o processo de extração do extrato lipídico (NUNES *et al.*, 2018).

Tabela 4 - Composição centesimal, em base úmida (BU) e base seca (BS), compostos fenólicos e atividade antioxidante do bagaço de oliva *in natura* e do bagaço de oliva liofilizado, obtidos na Região da Campanha, RS, em 2019

Determinações	Bagaço <i>in natura</i> *		Bagaço liofilizado*	
	BU	BS	BU	BS
Umidade (%)	70,77 ± 0,66 ^a	**	7,20 ± 0,48 ^b	**
Cinzas (%)	1,52 ± 0,10 ^a	8,93 ± 0,59 ^a	2,48 ± 0,70 ^a	2,68 ± 0,70 ^b
Lipídios (%)	7,71 ± 3,33 ^b	26,24 ± 11,06 ^a	22,57 ± 2,84 ^a	24,31 ± 0,77 ^a
Proteína (%)	1,48 ± 0,07 ^b	8,67 ± 0,44 ^b	11,93 ± 0,96 ^a	12,86 ± 1,04 ^a
Fibra bruta (%)	7,84 ± 1,56 ^b	26,63 ± 4,74 ^a	24,87 ± 4,85 ^a	26,82 ± 5,37 ^a
Outros carboidratos (%)	10,68 ± 4,29 ^b	29,53 ± 15,03 ^a	30,95 ± 4,66 ^a	33,33 ± 4,86 ^a
Fenóis totais (mg EAG 100g ⁻¹ de óleo)	65,17 ± 2,33 ^b	**	111,22 ± 1,28 ^a	**
Atividade antioxidante (% de inibição)	93,27 ± 0,14 ^a	**	91,22 ± 1,74 ^a	**

* Média de 3 repetições ± desvio padrão seguidos por letras iguais na linha para BU, ou na linha para BS não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ** não se aplica

O bagaço de oliva *in natura* apresentou umidade de 70,77% (porcentagem/matéria fresca) (Tabela 4). Valores semelhantes para teor de umidade no bagaço de oliva obtido por sistema de extração de duas fases são relatados por Júlio (2015), que encontrou teores na faixa de 55 a 70% dependendo da maturidade do fruto e do processo. ROIG, CAYUELA & SÁNCHEZ-MONEDERO, 2006 relataram de 49,6 a 71,4% de umidade em bagaço de oliva proveniente de extração de duas fases.

Considerando os valores calculados em base seca, o bagaço de oliva *in natura* e o bagaço liofilizado não diferem quanto aos percentuais de lipídios, fibra bruta e carboidratos; mas diferem ($p \leq 0,05$) no teor de cinzas que é maior no produto *in natura* na BS do que no bagaço liofilizado. Essa diferença dos valores encontrados para cinzas pode estar relacionada a fatores de não uniformidade da amostra ou perda de elementos por volatilização durante o processo de incineração da amostra.

O teor de cinzas encontrado no bagaço de oliva *in natura* foi de 8,93% (BS) e no bagaço liofilizado de 2,68% (BS) (Tabela 4). Júlio (2015) obteve valor inferior de cinzas (3,13%) no bagaço seco em estufa (*in natura*) e superior (4,08%) no bagaço liofilizado. Segundo Boskou (1998), os valores de cinzas encontrados em resíduos oleícolas

dependem do tipo de solo e do cultivar de oliveira plantada, pois cada cultivar possui necessidades específicas em minerais para seu desenvolvimento.

O teor de lipídios do bagaço *in natura* (7,71%) em BU foi semelhante ao encontrado por Teixeira, Filho & Gautério, (2015), de 7,31%. Essa porcentagem de lipídios pode variar conforme o amadurecimento/ponto de maturação que as azeitonas são encaminhadas para o processamento, bem como o tipo de cultivar, o *blend* de azeitonas e o tipo de sistema de extração (BOSKOU, 1998). Brito (2016) encontrou valor médio de 6,7% e Roig, Cayuela & Sánchez-Monedero (2006) descrevem valores entre 3,76 a 18%. Para Dias & Pereira (2017) o bagaço liofilizado em BS apresentou teor de lipídios entre 21,88% e 27,44% para o ano de 2016 e 2017 respectivamente, semelhante ao encontrado para o bagaço liofilizado neste estudo (24,31%). Podemos constatar um significativo teor de lipídios para o bagaço de oliva.

O teor de proteínas do bagaço *in natura* (8,67%) ficou próximo daquele encontrado por Júlio (2015), de 9,65%, e é semelhante ao encontrado por Teixeira, Filho & Gautério (2015) de 1,86% (BU) e por Roig, Cayuela & Sánchez-Monedero (2006) entre 6,7 a 7,2% (BS). No bagaço liofilizado o teor de proteínas (12,86%) foi superior ao encontrado por Júlio (2015), de 8,92%.

O teor de fibra bruta do bagaço *in natura* (26,24%) e liofilizado (26,82%) ambos em BS foram menores que os relatados para fibra alimentar por Júlio (2015) com resultado de 61,56% para o bagaço *in natura* e 54,55% para bagaço liofilizado. Estima-se que o teor de fibra bruta represente 1/7 do teor de fibra total, pois tende a perder gomas, mucilagens e pectinas durante a análise. Júlio (2015), considera o bagaço de oliva como fonte de fibra alimentar. Segundo Albuquerque *et al.* (2004), o bagaço de oliva apresenta valores em média de 63% de fibras. Roig, Cayuela & Sánchez-Monedero (2006) apresentam valores entre 15,3-47,5% de fibras.

O teor de carboidratos do bagaço *in natura* (10,8%) está abaixo do relatado por Júlio (2015) que encontrou 14,31%. Já o bagaço liofilizado (30,95%) superou o teor de carboidratos relatados por ele de 20,58% e foi próximo ao encontrado por Dias & Pereira (2017) de 35,57-38,83%.

A composição centesimal do bagaço de oliva pode ser muito variável devido à constituição das azeitonas (variedade), do estágio de maturação, do tipo de cultivo e também pelo tipo de processamento do azeite.

O teor de fenóis totais do bagaço *in natura* (65,17mg EAG 100 g⁻¹ de óleo) é menor ($p \leq 0,05$) do que o bagaço de oliva liofilizado (111,22mg EAG 100 g⁻¹ de óleo) e

é compatível com a diferença de umidade entre eles, demonstrando que o processo de secagem escolhido não afetou os compostos fenólicos, concentrando-os. Júlio (2015) encontrou valores de 645,70mg EAG 100 g⁻¹ de óleo para o bagaço *in natura* seco em estufa a 55°C e 1680,4mg EAG 100 g⁻¹ de óleo para o bagaço liofilizado, contribuindo com a indicação do método de liofilização para concentrar e recuperar os compostos fenólicos. Segundo Alu'datt (2010), o azeite de oliva pode conter percentuais baixos de compostos fenólicos quando comparado ao bagaço proveniente de sua extração, assim acredita-se que seu potencial antioxidante seja superior ao do azeite.

A atividade antioxidante apresentada no bagaço de oliva *in natura* e no bagaço liofilizado não diferiu, reafirmando a escolha deste processo para retirada de água sem prejuízo aos compostos de interesse. Júlio (2015) encontrou valores menores de porcentagem de inibição para o bagaço seco em estufa do que para o bagaço liofilizado, relatando que o processo térmico de secagem do bagaço degradou compostos antioxidantes, já o bagaço liofilizado apresentou a melhor porcentagem de inibição entre os tratamentos utilizados por ele.

6.3 Extração por UAE do extrato lipídico do bagaço liofilizado

Estudos preliminares (PEREIRA, DIAS & CREXI, 2017) apresentaram bons resultados usando etanol como solvente para obtenção do extrato lipídico em uma proporção de 1:18, com variação da temperatura de 30 e 60°C em temperatura ambiente, sendo necessário investigar parâmetros como o tempo e a quantidade de solvente para verificação destes parâmetros quanto ao rendimento, teor de fenóis e atividade antioxidante. Os resultados dos efeitos da proporção bagaço liofilizado:solvente etanol, do tempo e da temperatura sobre o rendimento de extração, os fenóis totais e a atividade antioxidante do extrato lipídico do bagaço de oliva liofilizado estão apresentados na Tabela 5.

O rendimento de extração do extrato lipídico do bagaço de oliva por UAE foi de 18,38 a 44,41%, cujo valor máximo correspondeu às condições de trabalho referentes ao ponto central (T9) de proporção bagaço:solvente de 1:10, 45 min de contato a 45°C. O extrato lipídico do bagaço de oliva apresentou fenóis totais entre 61,10 e 130,62mg EAG 100g⁻¹ de óleo, com máximo na condição de proporção bagaço:solvente de 1:2 (T2), 60 min de contato a 30°C, enquanto Chanioti & Tzia (2017) observou na extração UAE valores de 14,4 a 26,2mg EAG 100g⁻¹ de óleo com maior valor encontrado na

proporção 1:8, e Cioff *et al.* (2010) encontraram 20,7 a 21,0mg EAG 100g⁻¹ no bagaço de oliva. A atividade antioxidante do produto foi entre 91,71 e 95,52% de inibição do radical DPPH[•], com valor máximo na proporção bagaço:solvente de 1:2 (T4), por 60 min a 60°C. Chanioti & Tzia (2017) apresentou valores de 0,168 a 0,210mg trolox/g de extrato lipídico, sendo os maiores valores encontrados para o ponto central do seu experimento. Cioffi *et al.* (2010) apresentaram valores superiores no bagaço de oliva para atividade antioxidante quantificado através do teste EC₅₀^o.

O Ultrassom é considerado um procedimento rápido e eficiente para a extração de compostos fenólicos. Cavalheiro (2013), na extração em folhas de oliveira, obteve 75% de rendimento de compostos fenólicos em um tempo menor que os métodos tradicionais e utilizando etanol como solvente.

Amirante & Paduano (2016), ao estudarem o ultrassom relatam a facilidade de recuperação do óleo e compostos menores no tecido não triturado da azeitona aumentando a extração e reduzindo o tempo de processo.

Tabela 5 - Respostas da matriz do planejamento experimental fatorial completo (2³), para extração por ultrassom do extrato lipídico de bagaço de oliva liofilizado

Tratamentos	Proporção (Bagaço: etanol)	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Rendimento (%)	Fenóis totais (mg EAG 100g ⁻¹ de óleo)	Atividade antioxidante (% de inibição)
1	1:2	30	30	19,89	93,29	95,24
2	1:2	60	30	29,01	130,62	91,71
3	1:2	30	60	18,38	120,44	94,57
4	1:2	60	60	24,13	111,06	95,52
5	1:18	30	30	30,38	61,10	95,24
6	1:18	60	30	39,92	95,74	95,33
7	1:18	30	60	40,49	75,44	95,17
8	1:18	60	60	33,45	78,04	94,92
9	1:10	45	45	44,41	107,17	95,24
10	1:10	45	45	33,49	83,01	95,33
11	1:10	45	45	39,68	84,24	95,14

Na Tabela 6 e nas Figuras 14, 15 e 16 estão os valores dos efeitos estimados das variáveis estudadas (proporção de bagaço:solvente, tempo e temperatura de extração) para as respostas rendimento do processo, teor de fenóis totais e atividade antioxidante do extrato lipídico do bagaço de oliva liofilizado obtido por UEA.

A análise do efeito estimado de uma variável permite avaliar como será sua influência sobre a resposta, ou seja, quanto maior for o seu valor, maior será a sua influência sobre a resposta. Um efeito negativo sobre a resposta indica que, ao passar de um valor mínimo a um valor máximo da variável, o valor da resposta diminui, (RODRIGUES & LEMMA, 2005).

Tabela 6 - Efeito estimado, erro puro e grau de significância estatística (p) para o rendimento do processo, teor de fenóis totais e atividade antioxidante na extração por ultrassom do extrato lipídico de bagaço de oliva liofilizado

Fator	Efeito estimado	Erro Puro	P
Rendimento			
Proporção (L)	13,2075	3,872288	0,076257
Tempo (L)	4,3425	3,872288	0,378669
Temperatura (L)	- 0,6875	3,872288	0,875435
Tempo x Temperatura	-4,9875	3,872288	0,326655
Tempo x Proporção	-3,0925	3,872288	0,508276
Temperatura x Proporção	2,5075	3,872288	0,583681
Fenóis totais			
Proporção (L)	-36,2748	9,622038	0,063717
Tempo (L)	16,2975	9,622038	0,232390
Temperatura (L)	1,0575	9,622038	0,922520
Tempo x Temperatura	-19,6854	9,622038	0,177374
Tempo x Proporção	2,3246	9,622038	0,831756
Temperatura x Proporção	-2,7373	9,622038	0,802777
Atividade Antioxidante			
Proporção (L)	0,90500	0,067206	0,005469
Tempo (L)	-0,68500	0,067206	0,009489
Temperatura (L)	0,66500	0,067206	0,010060
Tempo x Temperatura	1,03500	0,067206	0,004190
Tempo x Proporção	0,60500	0,067206	0,012116
Temperatura x Proporção	-0,90500	0,067206	0,005489

Valores em negrito indicam efeitos significativos a 90% de probabilidade ($p \leq 0,10$).

Graficamente os efeitos que influenciam a resposta estão onde o efeito apresenta valores após a linha divisória ($p=0,1$) podendo ser considerado significativo. Somente a relação bagaço:solvente teve efeito estatisticamente significativo ($p \leq 0,1$) sobre o rendimento (Tabela 6, Figura 14) e sobre a concentração de fenóis totais

(Tabela 6, Figura 15). Todos os parâmetros avaliados e suas interações tiveram efeito significativo ($p \leq 0,1$) sobre a atividade antioxidante (Tabela 6, Figura 16).

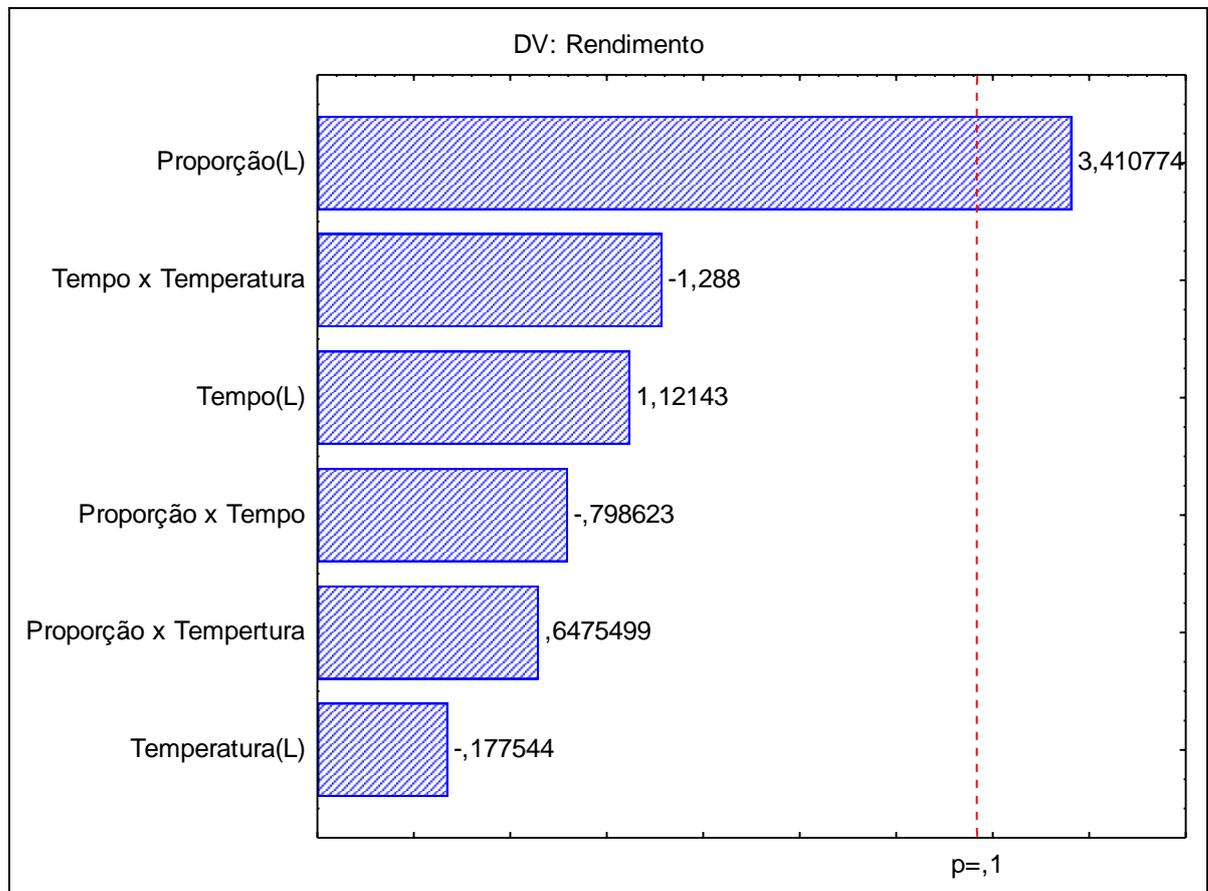


Figura 14: Diagrama de Pareto com representação dos efeitos estimados das variáveis estudadas sobre o rendimento do extrato lipídico do bagaço de oliva liofilizado extraído por ultrassom.

Na variável rendimento o efeito estimado da relação sólido:líquido ($P=0,10$) demonstrou que nos tratamentos onde foi usado a maior proporção entre bagaço:solvente obteve-se maior rendimento em extrato lipídico. Goula (2013) observou que o aumento da quantidade de hexano usado como solvente favoreceu o aumento do rendimento de extrato lipídico na extração de sementes de romã por UAE. Zhang *et al.* (2009) descrevem que o aumento da quantidade de solvente melhora a difusão através da redução da viscosidade, propicia maior concentração do solvente no interior da matriz vegetal resultando no aumento da eficiência da extração. Chanioti & Tzia (2017), na extração de óleo de bagaço de oliva, verificou que a temperatura, a relação sólido:líquido e o tamanho de partícula apresentaram maior influência no rendimento. Alguns estudos também apresentaram relação entre sólido:líquido, temperatura e tamanho da partícula no rendimento de extração para diferentes fontes de óleo (HUANG *et al.*, 2008; LI *et al.*, 2011; MINJARES-FUENTES *et al.*, 2014).

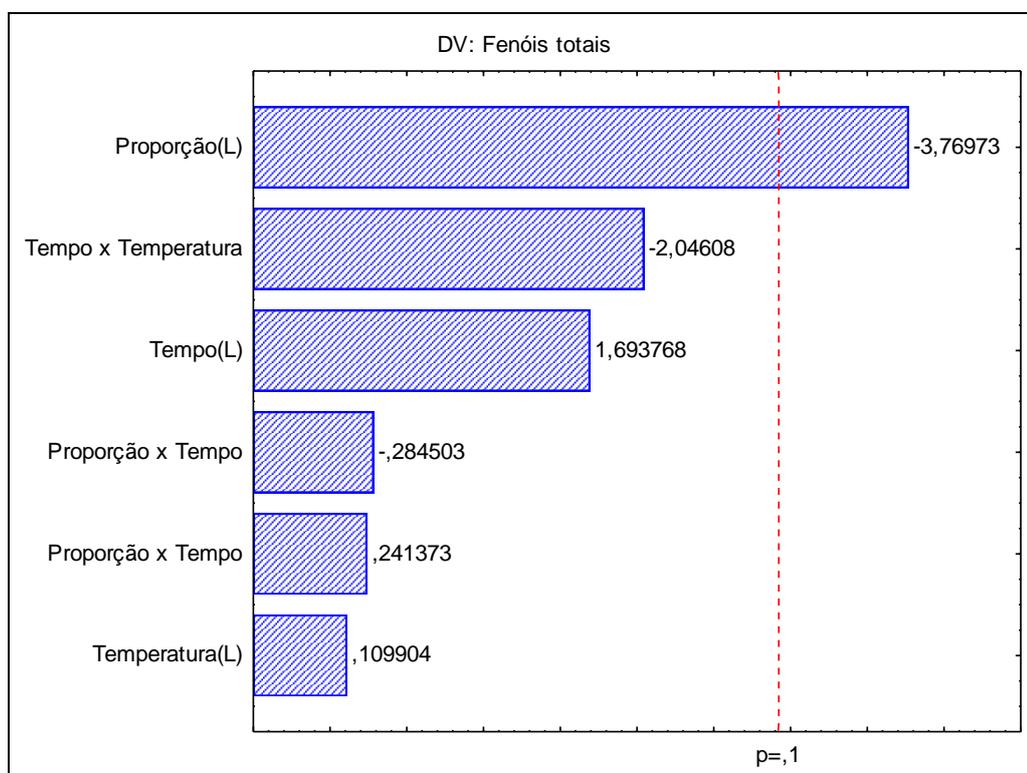


Figura 15: Diagrama de Pareto com representação dos efeitos estimados das variáveis estudadas sobre a concentração de fenóis totais do extrato lipídico do bagaço de oliva liofilizado extraído por ultrassom.

Observa-se (Tabela 6 e Figura 15) que a relação sólido:líquido teve efeito significativo negativo ($p \leq 0,1$) sobre o teor de fenóis, ou seja, quanto menor a proporção bagaço:solvente maior foi o teor de fenóis totais encontrado no extrato lipídico extraído. Apesar da proporção ter tido o efeito significativo, ele foi contrário ao efeito do rendimento. Amirante *et al.* (2017) observaram aumento do teor de compostos fenólicos acompanhado pelo aumento no rendimento de azeite extravirgem extraído por ultrassom enfatizando que não havia resultados publicados onde estivessem aumentos simultâneos de rendimento de óleo e teor de compostos fenólicos. Amirante *et al.* (2017) também atribuíram aumento do teor de fenóis à diminuição das enzimas polifenoloxidasas. Neste estudo, embora não mensurado, observou-se que o bagaço liofilizado preservou a cor mesmo depois de armazenado por um mês para posterior extração, o que pode indicar eficiência do processo de inativação das enzimas que poderiam estar envolvidas na degradação de compostos fenólicos.

A maior atividade antioxidante obtida foi de 95,52 % (Tabela 5), correspondente ao tratamento com menor proporção de solvente (1:2), maior tempo (60 min) e maior

temperatura (60°C). Contudo, na Tabela 6 verifica-se que todos os parâmetros avaliados exerceram efeito significativo sobre a atividade antioxidante, sendo que a interação entre o tempo e a temperatura exerceu o maior efeito (Figura 16). Esta interação foi positiva, ou seja, o aumento de ambos ao mesmo tempo resultou em maior atividade antioxidante.

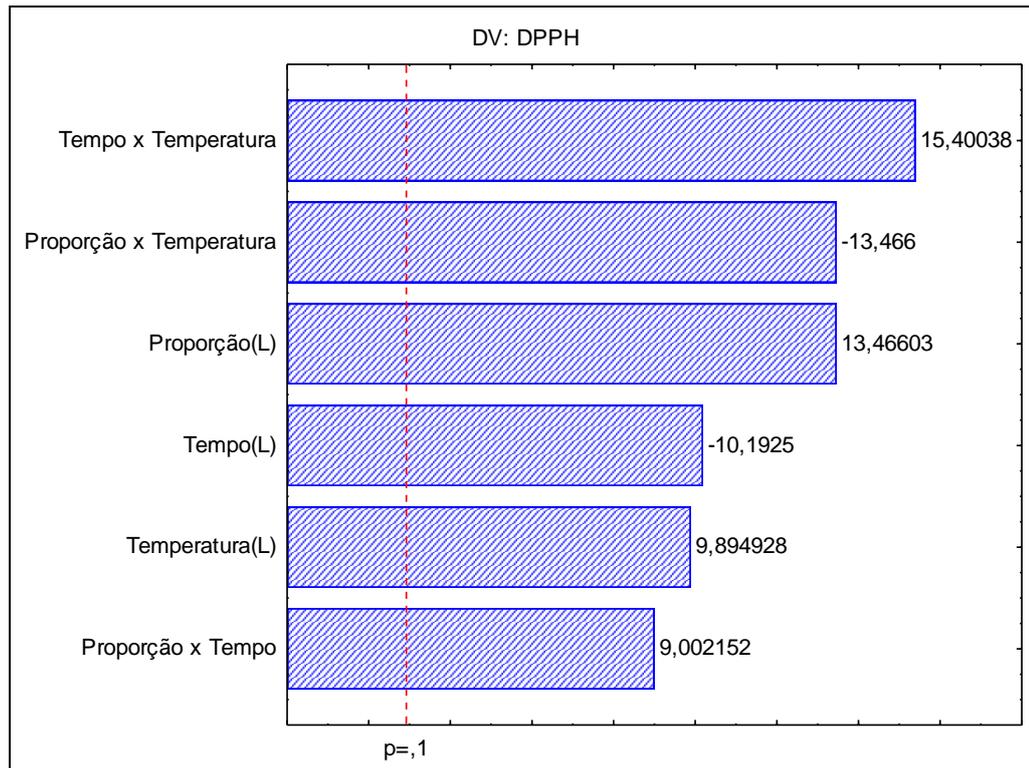


Figura 16: Diagrama de Pareto com representação dos efeitos estimados das variáveis estudadas sobre atividade antioxidante do extrato lipídico do bagaço de oliva liofilizado extraído por ultrassom.

Os demais parâmetros estudados e suas interações exerceram influência menos expressiva sobre a atividade antioxidante do extrato lipídico (Tabela 6, Figura 16). A interação entre proporção bagaço:solvente e temperatura de extração exerceu efeito negativo, indicando que a menor relação sólido:líquido (1:2) associada a temperatura de 60°C tende a extrair mais compostos com atividade antioxidante. Considerando-se os efeitos isolados, a atividade antioxidante é influenciada, aumentando com o aumento da proporção sólido:líquido, com menores tempos de extração e temperatura mais elevada, dentro das faixas estudadas.

Chanioti & Tzia (2017) descreve que a temperatura foi o efeito mais significativo na atividade antioxidante do extrato lipídico de bagaço de oliva extraído por UEA, seguido pelo tamanho da partícula e depois pela proporção do sólido:líquido. Şahin &

Şamli (2013) constataram que a proporção sólido:líquido foi significativa para a atividade antioxidante de extratos obtidos de folhas de oliveira.

Refletindo sobre a eficiência do método de extração por UEA do extrato lipídico de bagaço liofilizado, verifica-se que o máximo rendimento em extrato lipídico na extração utilizando-se etanol como solvente ocorreu nas condições estabelecidas no ponto central para as faixas das variáveis independentes estudadas (Tabela 5), que corresponde à combinação da proporção bagaço liofilizado:solvente de 1:10, durante o tempo de 45 minutos e a temperatura de 45°C, com forte influência da maior proporção de solvente em relação ao bagaço. O percentual de extrato lipídico extraído do bagaço com etanol por ultrassom nesta faixa (ponto central) foi entre 33,39% e 44,41%, tal resultado corrobora para a afirmativa de que o etanol como solvente é eficiente para a extração do extrato lipídico do bagaço de oliva por UEA, não sendo possível a comparação com o percentual verificado no bagaço de oliva que lhe deu origem, onde foi encontrado 26,24% para o bagaço *in natura* e 24,31% para o bagaço liofilizado (Tabela 4) utilizando hexano como solvente (solvente recomendado pela metodologia analítica), pois o hexano retira apenas a fração lipídica, ou seja, por ser apolar extrai os triacilgliceróis (óleo - apolar) enquanto o etanol retira compostos polares e apolares. A extração de óleo com solvente é um processo de transferência de constituintes solúveis (o óleo) de um material inerte (a matriz graxa) para um solvente com o qual a matriz se acha em contato. Brum, Arruda & Reginato-d'Arce (2009) relatam que o etanol apresentou um alto rendimento em óleo, já que possui um poder de solvatação superior extraíndo os lipídios e os não-lipídios da matriz.

Observa-se também que o teor máximo de compostos fenólicos no extrato lipídico extraído por UEA do bagaço liofilizado (130,62mg de EAG 100 g⁻¹ de óleo) com proporção de 1:2, tempo de extração de 60 minutos e temperatura de 30°C (Tabela 5), foi maior que o encontrado no bagaço *in natura* e no bagaço liofilizado que lhe deram origem, de 65,17 e 111,22mg de EAG 100 g⁻¹ de óleo (Tabela 4), respectivamente, e também maior do que o verificado no azeite comercial analisado durante 18 meses (máximo de 39,03mg de EAG 100 g⁻¹ de óleo) (Tabela 3), sugerindo que o ultrassom poderia ser utilizado na extração do azeite extravirgem para aumentar seu teor de compostos fenólicos.

Da mesma forma, o método de extração por UEA também resultou em maior atividade antioxidante no extrato lipídico do bagaço liofilizado (95,52% de inibição) (Tabela 5), ao que foi observado no bagaço *in natura* e no bagaço liofilizado que lhe

originaram (93,27% e 91,22% de inibição, respectivamente) (Tabela 4). Este fato reforça que, na faixa estudada, o efeito da interação entre tempo de extração e temperatura contribuem para a preservação dos compostos antioxidantes. Também é possível verificar que a atividade antioxidante está relacionada a vários compostos químicos com atividade antioxidante, não só aos compostos fenólicos, visto que a menor atividade antioxidante encontrada nos tratamentos foi no Tratamento 2, onde se obteve maior índice de compostos fenólicos, e uma das maiores atividades antioxidantes foi encontrada no Tratamento 5, onde se obteve menor teor de compostos fenólicos.

7 Considerações finais

O azeite comercial do tipo extravirgem produzido na Região da Campanha do Rio Grande do Sul atendeu aos critérios e limites estabelecidos pela legislação brasileira e pelo *Codex Alimentarius*, apresentando também viscosidade e cor compatíveis com este tipo de produto.

O armazenamento do azeite durante 18 meses, resultou em alterações químicas que evidenciam deterioração e comprometimento da qualidade do produto, embora não classifique o azeite como impróprio para o consumo. Contudo, o azeite comercial do tipo extravirgem analisado manteve-se estável até o oitavo mês, quando apresentou sinais de degradação que não permitem a classificação como extravirgem, segundo a normativa brasileira vigente. Os parâmetros envolvidos na degradação que apresentaram incremento ao longo do período foram os compostos do tipo trienos conjugados (cetonas insaturadas e aldeídos) após 8 meses, dienos conjugados após 14 meses e acidez em ácido oleico após 17 meses. Concomitantemente ocorreu a degradação dos compostos fenólicos cuja concentração reduziu expressivamente (em torno de 90%) durante os 18 meses.

Os resultados obtidos neste estudo reforçam a importância do controle do ambiente de comercialização e ou de armazenamento dos azeites, visando garantir sua estabilidade até o momento do consumo.

Vislumbra-se que estudos que promovam a preservação das substâncias com atividade antioxidante no azeite, com destaque aos compostos fenólicos, podem contribuir para aumento da vida útil do produto dentro dos padrões estipulados. Estudar as alterações em outros compostos, como clorofilas, carotenos, tocoferóis e compostos voláteis, durante a vida útil do azeite extravirgem, bem como acompanhar seu armazenamento na agroindústria antes do envase, podem trazer informações relevantes à vida útil do produto.

O estudo da vida útil do azeite em condições usuais de comercialização conduz a uma reflexão sobre estratégias para sua comercialização por um período que não

ocorra degradação significativa dos compostos fenólicos e conseqüentemente mantendo seus parâmetros de qualidade por mais tempo.

O bagaço de oliva *in natura* resultante da extração do óleo apresentou composição centesimal compatível com o que é relatado na literatura para umidade, lipídios e carboidratos e menor percentual de cinzas, proteína e fibra bruta. O processo de liofilização resultou em um bagaço com alto teor de extrato lipídico a ser recuperado, sem prejuízo à atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos.

O método de extração por ultrassom assistida, utilizando etanol como solvente, para recuperar o extrato lipídico do bagaço de oliva remanescente no resíduo da agroindústria de azeite, mostrou-se uma alternativa interessante para aproveitamento e valorização deste resíduo com a recuperação de compostos químicos de interesse.

Considerando o planejamento experimental aplicado, o melhor rendimento para extração de extrato lipídico do bagaço de oliva ocorreu nas condições de trabalho referentes ao ponto central, que corresponde à proporção bagaço liofilizado:solvente de 1:10, durante 45 minutos de contato a 45°C. O extrato lipídico do bagaço de oliva apresentou fenóis totais com concentração máxima na condição de trabalho que corresponde à proporção bagaço liofilizado:solvente de 1:2, durante 60 minutos de contato a 30°C. O valor máximo de atividade antioxidante, representado pelo percentual de inibição do radical DPPH*, foi obtido com a proporção bagaço:solvente de 1:2, por 60 minutos de extração a 60°C.

Desta forma, o planejamento experimental usado para definir a região de trabalho apresentou resultados que podem ser melhor estudados conforme a finalidade escolhida, considerando-se a influência preponderante das variáveis estudadas. Assim, o maior rendimento corresponde à maior extração que ocorre quando utilizada maior proporção de solvente (etanol) em relação ao bagaço liofilizado. Já a recuperação de compostos fenólicos do extrato lipídico de bagaço de oliva é maior quanto menor a proporção de bagaço:solvente. A atividade antioxidante do extrato lipídico obtido é preservada em todas as condições de trabalho estudadas, demonstrando eficácia do método que não degradou compostos de interesse que afetam esta resposta.

Referências

- AGUILERA, M. P.; BELTRÁN, G.; ORTEGA, D.; FERNÁNDEZ, A.; JIMÉNEZ, A.; UCEDA, M. Characterization of virgin olive oil of Italian olive cultivars: Frantoio and Leccino, grown in Andalusia. **Food Chemistry**, v. 89, n. 3, p. 387-391, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814604002122>. Acesso em: 10 set. 2022.
- AHMED, M.; OKASHA, M. Olive Oil: Quality Indices. **LAP Lambert Academic Publishing**. p. 55, 2016.
- ALBURQUERQUE, J. A.; GONZÁLVIZ, J.; GARCIA, D.; CEGARRA, J. Agrochemical characterisation of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. **Bio-resource Technology**, v. 91, p. 195-200, 2004.
- ALLOUCHE, Y.; JIMÉNEZ, A.; GAFORIO, J. J.; UCEDA, M.; BELTRÁN. How heating affects extra virgin olive oil quality indexes and chemical composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 23, p. 9646–9654, 2007. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf070628u>. Acesso em: 10 set. 2022.
- ALU'DATT, M. H.; ALLI, I.; EREIFEJ, K.; ALHAMAD, M. N.; AL-TAWAHA, A. R.; RABABAH, T. Optimisation, characterisation and quantification of phenolic compounds in olive cake. **Food Chemistry**, v. 123, n. 1, p. 117–122, 2010. Disponível em: <https://scite.ai/reports/10.1016/j.foodchem.2010.04.011> . Acesso em: 15 ago. 2022.
- ALVES, A. C. G. **Técnicas analíticas de controle de qualidade de azeites**. 2013. 151 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química) - Instituto Politécnico de Tomar, Tomar - Portugal. 2013. Disponível em: <https://comum.rcaap.pt/handle/10400.26/5835>. Acesso em: 10 set. 2022.
- ALVES, J. de O. **Espectrometria de massas com ionização electrospray (esi-ms) e métodos quimiométricos: caracterização de azeites de oliva (extravirgem e puro) e outros óleos vegetais e quantificação de óleos adulterantes em azeite de oliva extravirgem**. 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 2010. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/SFSA-87YNTT>. Acesso em: 10 set. 2022.
- AMIRANTE, R.; DISTASO, E.; TAMBURRANO, P.; PADUANO, A.; PETTINICCHIO, D.; CLODOVEO, M. L. Acoustic cavitation by means ultrasounds in the extra virgin olive oil extraction process. **Energy Procedia**, v. 126, p. 82-90, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876610217335476>. Acesso em: 10 set. 2022.
- AMIRANTE R.; PADUANO A. Ultrasound in olive oil extraction. In: **Products from Olive Tree**. IntechOpen, London, p. 43-53, 2016. 344 p. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/61902> Acesso em: 10 set. 2022.
- ANDRADE, D.; DIAS, C. S.; PEREIRA, M. S.; SALIM, C. D.; CREXI, V. T. Azeite de oliva

da região da Campanha: padrões de identidade e qualidade. **Anais 9º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 9, n. 2, Santana do Livramento, 2017. Disponível em: <https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/SIEPE/article/view/97777>. Acesso em: 10 set. 2022.

ANGEROSA, F.; LANZA, B.; MARSILIO, V. Biogenesis of fusty defect in virgin olive oils. **Grasas y aceites**, Sevilla, v. 47, n. 3, p. 142-150, 1996.

AOAC - American Oil Chemists' Society. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 18 ed., Maryland: Gaithersburg. 2005. Disponível em: <http://www.aocs.org/tech/sectionc.htm>. Acesso em: 10 set. 2022.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos** - Teoria e prática. Ed UFV 4ª edição 2008. 596 p.

AUED-PIMENTEL, S.; TAKEMOTO, E.; MINAZZI-RODRIGUES, R. S.; BADOLATO, E. S. G. Azeite de oliva: incidência de adulterações entre os anos de 1993 a 2000. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 61, n. 2, p. 69-75, 2002. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/download/34982/33478>. Acesso em: 10 set. 2022.

BAJOUB, A.; CARRASCO-PANCORBO, A.; AJAL, E. A.; OUAZZANI, N. FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ. A. Potential of LC–MS phenolic profiling combined with multivariate analysis as an approach for the determination of the geographical origin of north Moroccan virgin olive oils. **Food Chemistry**, v. 166, p. 292-300, 2015.

BALLUS, C. A. A. **Otimização da separação de compostos fenólicos por eletroforese capilar e análise da composição em ácidos graxos de azeite de oliva extravirgem**. 2010, 159 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 2010. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/296856074.pdf>. Acesso em: 10 set. 2022.

BALLUS, C. A.; PINÉ, Q. R.; BAKHOUCHE, A.; SILVA, L. F. O.; OLIVEIRA, A. F.; COUTINHO, E. F.; CROCE, D. M.; SEGURA-CARRETERO, A.; GODOY, H. T. Profile of phenolic compounds of Brazilian virgin olive oils by rapid resolution liquid chromatography coupled to electrospray ionisation time-of-flight mass spectrometry (RRLC–ESI-TOF-MS). **Food Chemistry**, v. 170, p. 366-377, 2015.

BEŠTER, E.; BUTINAR, B.; BUCAR-MIKLAVČIČ, M.; GOLOB, T. Chemical changes in extra virgin olive oils from Slovenian Istra after thermal treatment. **Food Chemistry**, v. 108, n. 2, p. 446-454, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607011028>. Acesso em: 10 set. 2022.

BHATNAGAR, A.; KACZALA, F.; HOGLAND, W.; MARQUES, M.; PARASKEVA, C. A.; PAPADAKIS, V. G.; SILLANPÄÄ, M. Valorization of solid waste products from olive oil industry as potential adsorbents for water pollution control-a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 1, p. 268–298, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-013-2135-6>. Acesso em: 10 set. 2022.

BORGES, T. H. P. **Caracterización nutricional, físico-química y organoléptica de aceites de oliva virgen producidos em Brasil em comparación con las variedades originales españolas**. 2017. 306 f. Tese (Doctoral) – Programa de Doctorado en Nutrición y Ciencias de los Alimentos, Universidad de Granada, Granada, Espanha. 2017. Disponível em: <https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/49316/28872174.pdf> Acesso em: 13 set. 2022.

BORJA, R.; RAPOSO, F.; RINCÓN, B. Treatment Technologies of liquid and solid wastes from two-phase olive oil mills. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 57, n. 1, p. 32-46, 2006.

BOSKOU, D. **Olive Oil: Chemistry and Technology**. 2. ed. Champaign Illinois: AOCS Press, 1996. 249 p.

BOSKOU, D. **Química y tecnología del aceite de oliva**. 1. ed. Madrid: Mundi-Prensa, 1998. 287 p.

BOTTI, L. C. M. **Propriedades de barreira em sistemas de embalagem para azeite de oliva**. 2014. 96 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP. 2014.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. Resolução nº 270, de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, v. 184, p. 372-373, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 49, 22 de dezembro de 2006. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Óleos Vegetais Refinados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. Seção 1, p. 140-142, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, 30 de janeiro de 2012. Regulamento técnico do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 1, p. 5-8, 2012.

BRENES, M.; ROMERO, C.; GARCIA, A.; HIDALGO, F. J.; RUIZ-MÉNDEZ, M. V. Phenolic compounds in olive oils intended for refining: formation of 4-ethylphenol during olive paste storage. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 26, p. 8177-8181, 2004. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0402532>. Acesso em: 10 set. 2022.

BRITO, R. F. **Valorização integrada de resíduos e subprodutos da extração do azeite: extração e caracterização de compostos bioativos do bagaço de azeitona**. 2016. 124 f. Dissertação (Tecnologia de Alimentos) - Instituto Superior de Engenharia, Universidade do Algarve, Portugal. 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.1/8667> . Acesso em 21 jan. 2022.

BRUM, A. A. S.; ARRUDA, L. F.; REGINATO-D'ARCE, M. A. B. Métodos de extração e

qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Química Nova**, v. 32, n. 4, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400005>

BUBOLA, K. B.; KOPRIVNJAK, O.; SLADONJA, B.; BELOBRAJIĆ. Influence of storage temperature on quality parameters, phenols and volatile compounds of Croatian virgin olive oils. **Grasas y aceites**, v. 65, n. 3, p. e034-e034, 2014. Disponível em: <https://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/1499>. Acesso em: 10 set. 2022.

CABRERA, A.; FERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, A.; CIVANTOS, C. G.-O.; COX, L.; VELARDE, P.; CORNEJO, J. Estudio del efecto de la adición de alperujo sobre la persistencia de diuron en el cultivo del olivar. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 209-216, 2010.

CARAPINHA, P. G. **Utilização do azeite na fritura de alimentos**. 2012. 54 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal.2012.

CARDOSO, C. S.; DIAS, M. F. P. **Cadeia da Olivicultura. Série Agronegócios do Sul**. Pelotas, 2018. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/gpeia/files/2018/02/CADEIA-DA-OLIVICULTURA-1.pdf>. Acesso: 27 ago. 2019.

CAVALHEIRO, C. V. **Extração de compostos fenólicos assistida por ultrassom e determinação de ácidos graxos e minerais em folhas de *Olea europaea* L.** 2013. 93 f. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais. Santa Maria, RS. 2013.

CECCHI H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimento**. Editora Unicamp, 2003. 208 p.

CHANIOTI, S.; TZIA, C. Optimization of ultrasound-assisted extraction of oil from olive pomace using response surface technology: Oil recovery, unsaponifiable matter, total phenol content and antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 79, p. 178-189, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643817300294>. Acesso em: 10 set. 2022.

CIOFFI, G.; PESCA, M. S.; CAPRARIIS, P.; BRACA, A.; SEVERINO, L.; TOMMASI, N. Phenolic compounds in olive oil and olive pomace from Cilento (Campania, Italy) and their antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 121, n. 1, p. 105-111, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609014125>. Acesso em: 10 set. 2022.

CODEX ALIMENTARIUS. International Food Standards. Codex standards for olive oils and olive pomace oil: **CODEX STAN 33-1981 (rev. 2017)**. Roma: FAO/WHO, 2017. Disponível em: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/en/>. Acesso em: 11 set.2022.

COIMBRA, M. C. **Caracterização dos frutos e dos óleos extraídos da polpa e amêndoa de guariroba (*Syagrus oleracea*), jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) e macaúba**

(*Acrocomia aculeata*). 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, SP. 2010. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/88418>. Acesso em: 10 set. 2022.

COSTA, H. M. L. G. **Azeites aromatizados: Estudo da influência do agente aromatizante na composição química e resistência à oxidação**. 2012. 80 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança. 2012. Disponível em: <https://search.proquest.com/openview/34901044bd05cf9f104351158668934e/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y>. Acesso em: 10 set. 2022.

COUTINHO, E. F. Coeficientes técnicos, custos, rendimentos e rentabilidade. In: **Cultivo de oliveira (*Olea europaea* L.)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, v. 16, p. 119-121, 2009.

COVAS, M. I. Olive oil and the cardiovascular system. **Pharmacological Research**. v. 55, n. 3, p. 175-186, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661807000333>. Acesso em: 10 set. 2022.

CUNHA, S. C. S. **Autenticidade e Segurança de Azeites e Azeitonas: Desenvolvimento de metodologias cromatográficas para o doseamento de triacilgliceróis, fitosteróis, tocoferóis/tocotrienóis e pesticidas**. 2007. 394 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, Portugal 2007.

DABBOU, S.; BRAHMI, F.; TAAMALI, A.; ISSAOUL, M.; OUNI, Y.; BRAHAM, M.; ZARROUK, M.; HAMMAMI, M. Extra virgin olive oil components and oxidative stability from olives grown in Tunisia. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 87, n. 10, p. 1199 – 1209, 2010. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11746-010-1600-3>. Acesso em: 10 set. 2022.

DAMODARAN, S.; PARKIN K. L.; FENNEMA O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 890 p.

DI GIOVACCHINO, L. Technological aspects. In: **Handbook of olive oil: analysis and properties**. New York: Springer Science; Business Media, p. 57-98, 2013.

DIAS, C. S.; RODRIGUES, R. S.; GONÇALVES, W. F.; JACQUES, A. C., CREXI, V. T.; AZEVEDO, M. L. Composição fitoquímica do azeite e do bagaço de azeitona de uma agroindústria da Região da Campanha. **Revista da 14ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp**, p. 951-960, 2017

DIAS, C. S.; RODRIGUES, R. S.; PEREIRA, M. S.; CREXI, V. T. Obtenção de óleo do bagaço de azeitona por ultrassom: Avaliação do tempo e quantidade de solvente de extração. **Revista da 14ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp**, p. 2143-2152, 2017. Disponível em: <http://revista.urcamp.edu.br/index.php/rcjppg/article/view/827>. Acesso em: 10 set. 2022.

DIAS, C. S.; PEREIRA, M. S. Caracterização do bagaço de azeitona liofilizado da safra 2016 e 2017 da região da campanha. **Anais 9º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 9, n. 2, 2017. Disponível em: <https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/SIEPE/article/view/98600>. Acesso em: 10 set. 2022.

DIAS, S. M. C. **Pasta de azeite versus azeite virgem extra**. 2009, 87 f. Tese (Doutorado em Engenharia Alimentar), Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal. 2009. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/2009>. Acesso em: 10 set. 2022.

ERGÖNÜL, G. P.; SÁNCHEZ, P. Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons content in different types of olive and olive pomace oils produced in Turkey and Spain. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 115, p. 1078- 1084, 2013.

FERREIRA, L. R. S. **Contributo para a caracterização de azeites virgens produzidos na região do Douro**. 2014. 79 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal 2014. Disponível em: <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/12023>. Acesso em: 10 set. 2022.

FOGAÇA, F. H. S. **Efeito do tocoferol no desempenho e na estabilidade lipídica da Tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*)**. 2005, 79 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP. 2005. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/86711>. Acesso em: 10 set. 2022.

FRANÇA, S. C. A.; SANTOS, S. F.; LIMA, S. R. M. Ensaio para medida de cor em colorímetros Lovibond e ASTM. Comunicação técnica elaborada para o livro Tratamento de Minérios: **Práticas laboratoriais**. Rio de Janeiro: Centro de tecnologia Mineral - CETEM, Ministério da Ciência e Tecnologia, Coordenação de Processos Minerários, 2007. Disponível em: <http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/1076/1/Cap%2031%20Lovibond.pdf>. Acesso em: 10 set. 2022.

FRANKEL, E.; BAKHOUCHE, A.; LOZANO-SÁNCHEZ, J.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Literature review on production process to obtain extra virgin olive oil enriched in bioactive compounds. Potential use of byproducts as alternative sources of polyphenols. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v. 61, n. 22, p. 5179-5188, 2013. <https://doi.org/10.1021/jf400806z>

FREGAPANE G.; GÓMEZ-RICO, A.; INAJEROS, A. M.; SALVADOR, M. D. Relevance of minor components stability in commercial olive oil quality during the market period. **European Journal of Lipid Science and Technology** v. 115, n. 5, p. 541–548, 2013.

FREITAS, M. R. **Avaliação do potencial energético dos resíduos sólidos dos lagares do Alentejo**. 2007. 159 p. Dissertação (Mestrado em olivicultura, azeite e azeitona de mesa), Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal. 2007. Disponível em: <https://search.proquest.com/openview/8a5863ca0657299788c61e6b07084fd8/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y>. Acesso em 10 set. 2022.

FUENTES, P. H. A. **Avaliação da Qualidade de óleos de soja, canola, milho e girassol durante o armazenamento**. 2011. 109 f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos), Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 2011. Disponível em: http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/7733/1/PG_COALM_2016_2_08.pdf. Acesso: 10 set. 2022.

GALANAKIS, C. M.; TOMBERG, E.; GEKAS, V. A study of the recovery of the dietary fibres from olive mill wastewater and the gelling ability of the soluble fibre fraction. **Food Science and Technology**, v. 43, n. 7, p. 1009-1017, 2010.

GARCÍA-GONZÁLEZ, D. L.; APARICIO-RUIZ, R.; APARICIO, R. Virgin olive oil - Chemical implications on quality and health. **European Journal Lipid Science Technology**, v. 110, p. 602–607, 2008.

GOULA, A. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil e kinetic modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 492-498, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877412004657>. Acesso em: 10 set. 2022.

GRANADOS, J. A. **Enciclopedia del aceite de oliva, historia y eyendas del aceite y la aceituna**. 1 ed. Barcelona: Editorial Planeta, 2000. 415 p.

GUINAZI, M.; MILAGRES, R. C. R.M.; SANT'ANA, H. M. P.; CHAVES, J. B. P. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Química Nova**, v.32, n. 8, p. 2098–2103, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/BKwVt84wtcNpr8Shzy53WhB/?lang=pt>. Acesso em: 10 set. 2022.

HEMWIMOL S; PAVASANT P.; SHOTIPRUK A. Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of Morinda citrifolia. **Ultrason Sonochem**, v. 13, n. 6, p. 543-548, 2006.

HERNÁNDEZA D.; ASTUDILLO, L.; GUTIÉRREZ, M.; TENREIRO, C.; RETAMAL, C.; ROJAS, C. Biodiesel production from an industrial residue: Alperujo. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 495–498, 2014.

HERRERA, B. J.; DUEÑAS, A. C. **La cata de aceites: Aceite de oliva virgen. características organolépticas y análisis sensorial**. 1 ed. Sevilla: Copysevilla, 2008. 134 p.

HUANG, W.; ZHENSHAN, L.; HAI, N.; DAN, L. Optimization of operating parameters for supercritical carbon dioxide extraction of lycopene by response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 89, n. 3, p. 298-302, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877408002185>. Acesso em: 10 set. 2022.

IBRAOLIVA Instituto Brasileiro de Olivicultura **Safra de 2021 de oliveiras traz boas expectativas aos produtos**. Fonte: Sandro. Marques. Disponível em: <https://www.ibraoliva.com.br/noticias/detalhe/107/safra-2021-de-oliveiras-traz-boas-expectativas-aos-produtores>. Acesso em: 02 junho 2021.

INAREJOS-GARCÍA, A. M.; FREGAPANE, G.; SALVADOR, M. Desamparados. Effect of crushing on olive paste and virgin olive oil minor components. **European Food Research and Technology**, v. 232, n. 3, p. 441-451, 2011. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-010-1406-4>. Acesso em: 10 set. 2022.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1000 p. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf> Acesso em: 29/11/2022

INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL (COI). **STANDARDISATION AND RESEARCH UNIT** 2019. Disponível em: <https://www.internationaloliveoil.org/what-we-do/chemistry-standardisation-unit/standards-and-methods/> Acesso em: 11 Jun. 2020.

JERMAN, T.; TREBSE P.; MOZEIC-VODOPIVEC B. Ultrasound-assisted solid liquid extraction (USLE) of olive fruit (*Olea europaea*) phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 123, p. 175–182, 2010.

JOÃO, P. L.; CONTE A. **Levantamento da fruticultura comercial do Rio Grande do Sul**. EMATER-RS, v. 28, p. 82, 2007. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US20170000012>. Acesso em 10 set. 2022.

JORGE, R. C. **Estudo da vida útil de um azeite**. 2015. 103 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Engenharia Biológica), Portugal. 2015. Disponível em: <http://repositorium.uminho.pt/bitstream/1822/47586/1/Rita%20da%20Cruz%20Jorge.pdf>. Acesso em: 10 set. 2022.

JORGE, R. O. **Caracterização de azeites virgem extra “gourmet” varietais e “blends” comercializados no mercado do Rio Grande do Sul. 2010**. 2010. 105 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas RS. 2010. Disponível em: <http://guaiaca.ufpel.edu.br/handle/123456789/1328>. Acesso em: 10 set. 2022.

JÚLIO, L. R. C. **Tratamento, caracterização química e estudo in vivo do bagaço de azeitona resultante da extração do azeite de oliva**. 2015. 114 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2015.

KADAM, S. U.; TIWARI, B. K.; ÁLVAREZ, C.; O'DONNELL, C. P. et al. Ultrasound applications for the extraction, identification and delivery of food proteins and bioactive peptides. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, n. 1, p. 60-67, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092422441500179X>. Acesso em: 10 set. 2022.

KALOGERAKIS N.; POLITI, M.; FOTEINIS, S.; CHATZISYMEON, E.; MANTZAVINOS, D. Recovery of antioxidants from olive mill wastewaters: A viable solution that promotes their overall sustainable management **Journal of Environmental Management**, v. 128, , p. 749-758, 2013.

KALUA, C. M.; ALLEN, M. S.; BEDGOOD, D. R. J.; BISHOP, A. G.; PRENZLER, P. D.; ROBARDS, K. Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. **Food chemistry**, v. 100, n. 1, p. 273-286, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605008666>. Acesso em: 10 set. 2022.

KAPELLAKIS, L. E.; TSAGARAKIS, K. P.; CROWTHER, J. C. Olive oil history, production and by-product management. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 7, n. 1, p. 1-26, 2008. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11157-007-9120-9>. Acesso em: 10 set. 2022.

KIRITSAKIS, A.; CHRISTIE, W. Análisis de aceites comestibles. In: **Manual del aceite de oliva**. Madrid: Mundi-Prensa, p.135-162. 2003. 614 p.

KOUNTOURI, A. M.; MYLONA, A.; KALIORA, A. C.; ANDRIKOPOULOS, N. K. Bioavailability of the phenolic compounds of the fruits (drupes) of *Olea europaea* (olives): impact on plasma antioxidant status in humans. **Phytomedicine**, v.14, n.10, p.659-667, 2007.

KRICHENE, D.; SALVADOR, M. D.; FREGAPANE, G. Stability of virgin olive oil phenolic compounds during long-term storage (18 months) at temperatures of 5–50 C. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 30, p. 6779-6786, 2015. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jafc.5b02187>. Acesso em: 1 set. 2022.

LAFKA, T.; LAZOU, A. E.; SINANOGLU, V. J.; LAZOS, E. S. Phenolic and antioxidant potential of olive oil mill wastes. **Food Chemistry**, v. 125, n. 1, p. 92-98, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610010447>. Acesso em: 11 set. 2022.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 975 p.

LI, C.; ZHENG, Y.; WANG, X.; FENG, S.; DI, DUOLONG. Simultaneous separation and purification of flavonoids and oleuropein from *Olea europaea* L. (olive) leaves using macroporous resin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.91, n.15, p. 2826-2834, 2011.

LI, H.; PORDESIMO, L.; WEISS, J. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. **Chemistry Food Research International**. v. 37, p. 731-738, 1 ago. 2004.

LIANFU, Z.; ZELONG, L. Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 15, n. 5, p. 731-737, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417707001885>. Acesso em: 11 set. 2022.

LOLIS, A.; BADEKA, A. V.; KONTOMINAS M. G. Quality retention of extra virgin olive oil, Koroneiki cv. packaged in bag-in-box containers under long term storage: A comparison to packaging in dark glass bottles. **Food Packaging Shelf**. v. 26, p. 100549, 2020.

LOVIBOND. **Lovibond Colour Measurement**. 2022. Disponível em: <<http://www.lovibondcolour.com/instrument/pfx-880at> >. Acesso em: 30 agosto. 2022.

LUZ, L. P. **Estudo do Ultra-som Como Técnica de Extração de Carvões e Caracterização dos Hidrocarbonetos Poliaromáticos** 1998 108 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 1998.

MARQUES, C. J. S. **Análise comparativa de azeites virgem extra de vários DOP: caracterização reológica, físico-química e cromatográfica**. 2015. 153 f. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade e Toxicologia dos Alimentos), Universidade de Lisboa Faculdade de Farmácia, Portugal. 2015. Disponível em: <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/24969>. Acesso em: 11 set. 2022.

MARTÍNEZ-PINEDA, M.; MAIRAL-FERRER, A.; VERCET, A.; YAGÜE, C. Physicochemical characterization of changes in different vegetable oils (olive and sunflower) under several frying conditions Caracterización físicoquímica de los cambios en diferentes aceites vegetales (oliva y girasol) bajo varias condiciones de fritura. **CyTA-Journal of Food**, v. 9, n. 4, p. 301-306, 2011. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19476337.2011.601817>. Acesso em: 11 set. 2022.

MARTINS, D. A. O. **Valorização de resíduos da indústria do azeite: análise do potencial da recuperação de antioxidantes e de água**. 2016. 93 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal. 2016. Disponível em: <https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/81657>. Acesso em: 11 set. 2022.

MATOS L.C.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Evaluation of a numerical method to predict the polyphenols content in monovarietal olive oils, **Food Chemistry**, 102, p. 976- 983. 2007.

MEDEIROS, R. M. L.; VILLA, F.; SILVA, D. F. & FILHO, R. L. C. Destinação e Reaproveitamento de Subprodutos da Extração Olivícola. Scientia Agraria Paranaensis, [s.l.]. **Revista Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15 n. 2, p. 100-108. 2016.

MELLO, L. D.; PINHEIRO, M. F. Aspectos físico-químicos de azeites de oliva e de folhas de oliveira provenientes de cultivares do RS, Brasil. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 537-548, 2012. Disponível em: https://www.academia.edu/download/39600226/caeacteristica_fisico_quimica_do_azeite_de_oliva_e_da_folha_de_oliveira.pdf. Acesso em: 11 set. 2022.

MINJARES-FUENTES, R.; FEMENIA, A.; GARAU, M. C.; MEZA-VELÁZQUEZ, J. A.; SIMAL, S.; ROSSELLÓ, C. Ultrasound-assisted extraction of pectins from grape pomace using citric acid: A response surface methodology approach. **Carbohydrate polymers**, v. 106, p. 179-189, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861714001349>. Acesso em: 11 set. 2022.

MODOLO, J. S. **Quantificação de estigmastadienos em azeit deoliva (*Olea europaea***

L.) **por cromatografia em fase gasosa**. 2007, 178 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861714001349>. Acesso em: 11 set. 2022.

MOGHADDAM, A. H.; NABAVI, S. F.; ESLAMI, S.; NABAVI, S. M. In vivo protective effects of quercetin against sodium fluoride-induced oxidative stress in the hepatic tissue. **Food Chemistry**, v. 132, n. 2, p. 931-935, 2012.

MORAL, P. S.; MÉNDEZ, M. V. R. Production of pomace olive oil. **Grasas y aceites**, v. 57, n. 1, p. 47-55, 2006. Disponível em: <https://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/21>. Acesso em: 11 set. 2022.

MORALES, M.T.; PRZYBYLSKI, R. Olive Oil Oxidation, In: **Handbook of Olive Oil. Analysis and Properties**, 2. ed., Springer, New York. p. 479–522, 2013. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-7777-8_13. Acesso em: 11 set. 2022.

MORELLÓ, J. R.; MOTILVA, M. J.; TOVAR, M. J.; ROMERO, M. P. et. al. Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. **Food Chemistry**, v. 85, n. 3, p. 357-364, 2004.

MOREIRA, N. X.; CURI, R.; MANCINI FILHO, J. Ácidos graxos: uma revisão. **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 24, p. 105-123, 2002.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais: na indústria de alimentos**. 1. ed. São Paulo: Editora Varela, 1998. 150 p.

NASCIMENTO, L. S. M. **Identificação e quantificação de compostos bioativos em frutos de Eugenia brasiliensis, Lam.** 2015. 83 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Campus Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. 2015.

NIAOUNAKIS, M.; HALVADAKIS, C.P. **Olive processing waste Management: Literature Review and Patent Survey**, 2d. Elsevier Ltd., Kidlington, Oxford, UK. 2006. 514 p. Disponível em: <https://www.elsevier.com/books/olive-processing-waste-management/niaounakis/978-0-08-044851-0> Acesso em: 17 nov. 2022

NUNES, M. A.; COSTA, A. S. G.; BESSADA, S.; SANTOS, J.; PUGA, H.; ALVES, R. C.; FREITAS, V.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Olive pomace as a valuable source of bioactive compounds: A study regarding its lipid- and water-soluble components. **Science of the Total Environment**, v. 644, p. 229 – 236, 2018.

OKUNO, E.; CHOW, C.; CALDAS, L. I. **Física para ciências biológicas e biomédicas**. São Paulo: Editora Harbra Ltda, 1986. 490 p.

PAINI, M.; ALIAKBARIAN, A.; CASAZZA, A.; LAGAZZO, A.; BOTTER, R.; PEREGO P.. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study

of operative parameters. **LWT-Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 177-186, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815000389>. Acesso em: 11 set. 2022.

PAZ, D. A.; VASCONCELLOS, E. A.; DIAS, C. S.; MORAIS, M. M. & CREXI, V. T. Azeites de oliva da Campanha gaúcha: extração e padrões de identidade. In: Congresso brasileiro de segurança alimentar. **Anais 7º Simpósio de Segurança Alimentar - Inovação com Sustentabilidade** (livro eletrônico), Porto alegre, RS. 2020. Disponível em: http://schenautomacao.com.br/ssa7/envio/files/trabalho3_349.pdf. Acesso em: 13 set. 2022.

PEIXOTO, E. R. M.; SANTANA, D.; ABRANTES, S. Avaliação dos índices de identidade e qualidade do azeite de oliva-proposta para atualização da legislação brasileira. **Food Science and Technology**, v. 18, p. 444-452, 1998. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/7zdLhvhK84zBdTBLdBNB4Pd/?lang=pt&format=html>. Acesso em: 11 set. 2022.

PEREIRA, M. S. **Extração e caracterização da oleorresina de pimentas (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*)**. 2019. 79f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) —, Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Pampa, Campus Bagé, Bagé, RS. 2019.

PINÉ, R. Q.; CORONA, J. J. D.; CARRETERO, A. S.; GUTIÉRREZ, A. F. Técnicas de análisis del aceite de oliva. IN: **El Aceite de Oliva Virgen: Tesoro de Andalucía** 13 perspectivas concentradas. Málaga, España: Servicio de Publicaciones de la Fundación Unicaja p. 247-286, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Alberto-Fernandez-Gutierrez/publication/268175164_Tecnicas_de_analisis_del_aceite_de_oliva/links/54ff34600cf2eaf210b79898/Tecnicas-de-analisis-del-aceite-de-oliva.pdf. Acesso: 11 set. 2022.

PORTARENA S., BALDACCHINI, C.; BRUGNOLI, E. Geographical discrimination of extra-virgin olive oils from the Italian coasts by combining stable isotope data and carotenoid content within a multivariate analysis **Food Chemistry**, v.215, p. 1-6, 2017.

RAMBO, B. S. J. **A Fisionomia do Rio Grande do Sul**. Separata do volume: Fundamentos da Cultura Rio-Grandense Primeira Série. Organização: Faculdade de Filosofia Universidade do Rio Grande do Sul 1954 CADERNO Nº. 31 - SÉRIE DOCUMENTOS HISTÓRICOS, Porto Alegre RS. Selbach, 1954. 39 p.

RAMÍREZ-TORTOSA, M.; GRANADOS, S.; QUILES, J. L. Chemical composition, types and characteristics of olive oil. IN: **Olive Oil Health**, p. 45-62, 2006.

RODEGHIERO, J. M. **Caracterização físico-química e atividade antioxidante de azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul**. 2016. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS. 2016.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos **Experiment Planning and Process Optimization**. Ed. Asa do pão, 2005.

357p.

RODRIGUES, A. B. **Olivicultura é tema de seminário técnico na Emater/RS-Ascar.** Porto Alegre, 22 nov. 2017. Disponível em:

<http://www.emater.tche.br/site/multimidia/noticias/detalhe-noticia.php?id=27319#.WxGtvvh96Uk> . Acesso em: 18 mar. 2018.

RODRIGUEZ, G.; LAMA, A.; RODRÍGUEZ, R.; JIMÉNEZ, A.; GUILLÉN, R.; FERNANDEZ-BOLAÑOS, J. Olive stone an attractive source of bioactive and valuable compounds. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5261-5269, 2008.

ROIG, A.; CAYUELA, M. L.; SÁNCHEZ-MONEDERO. An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. **Waste management**, v. 26, n. 9, p. 960-969, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956053X05002242>. Acesso em 11 set. 2022.

ROSELLÓ-SOTO E. KOUUBA, M.; MOUBARIK, A. LOPES, R. P.; SARAIVA, J. A.; BOUSSETTA, N.; GRIMI, N.; BARBA F. J. Emerging opportunities for the effective valorization of wastes and by-products generated during olive oil production process: non-conventional methods for the recovery of high-added value compounds **Trends Food Sci. Technol.**, v. 45, p. 296-310, 2015.

RUIZ, A. R.; NOELIA, T.; INMACULADA, R. R.; LÓPEZ, A.; GARCIA-GONZÁLES, R.; DIEGO, L.; MORALES-MILLÁN, M. T. Predicting extra virgin olive oil freshness during storage by fluorescence spectroscopy. **Grasas y Aceites**, v. 68, n. 4, p. e219-e219, 2017. Disponível em: <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/1686>. Acesso em: 11 set. 2022.

RUIZ-MÉNDEZ, M. V.; ROMERO, C.; MEDINA, E.; GARCÍA, A.; CASTRO, A.; BRENES, M. Acidification of Alperujo paste prevents off-odors during their storage in open air. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 90, n. 3, p. 401-406, 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11746-012-2172-1>. Acesso em: 11 set. 2022.

SAMARAM, S.; MIRHOSSEINI, H.; TAN, C. P.; GHAZALI, H. M.; BORDBAR, S.; SERJOUIE, A. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. **Food Chemistry**, v. 172, p. 7-17, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614012928>. Acesso em: 11 set. 2022.

SÁNCHEZ, J.L., CARRETERO, A.S.; GUTIÉRREZ, A.F. Composición del aceite de oliva IN: **El Aceite de Oliva Virgen: Tesoro de Andalucía** 13 perspectivas concentradas. Málaga, España: Servicio de Publicaciones de la Fundación Unicaja, p. 195-224. 2009.

SANMARTIN, C.; VENTURI, F.; MACALUSO, M.; NARI, A.; QUARTACCI, M. F.; SGHERRI, C.; FLAMINI, G.; TAGLIERI, I. ASCRIZZI, R.; ANDRICH, G.; ZINNAI, A. Preliminary Results About the Use of Argon and Carbon Dioxide in the Extra Virgin Olive Oil (EVOO) Storage to Extend Oil Shelf Life: Chemical and Sensorial Point of View.

European Journal of Lipid Science na Technology. v. 120, 5 p., 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ejlt.201800156> Acesso em: 13 set. 2022

SANTOS M. J. A. **A influência da utilização de gás inerte na estabilidade oxidativa dos azeites virgens nos depósitos de armazenamento.** 2009. 67 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar Tecnologia dos Produtos vegetais..0), Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal. 2009.

ŞAHIN, S.; ŞAMLI, R. Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 595-602, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417712001757>. Acesso em: 11 set. 2022.

SAUERESSIG D. **O desenvolvimento da olivicultura no Rio Grande do Sul: Potencial e desafios.** 2018. 122 f. Dissertação (Mestrado em Agronegócios) - Centro de Estudos e Pesquisas em Agronegócios, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2018. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/192800>. Acesso em: 11 set. 2022.

SCHIESSEL, D. L. **Ácido graxo α linolênico causa o mesmo efeito que seus derivados de cadeia longa em ratos portadores de tumor de Walker 256 Investiga o antitumoral e imunitária.** 2011. 107 f. Tese (Doutorado em Biologia celular e molecular) - Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. 2011. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/147517748.pdf>. Acesso em: 11 set. 2022.

SEAPDR-Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural. **Abertura Oficial da Colheita da Oliva será em Formigueiro.** Porto Alegre, RS, 2018. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/abertura-oficial-da-colheita-da-oliva-sera-em-15-de-marco>. Acesso em: 02 jun. 2019.

SEAPDR-Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural. **Feira do Azeite Novo – Safra 2021** acontece neste sábado (15) no pátio da Secretaria da Agricultura. Porto Alegre, RS, 2021 Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/a-feira-do-azeite-novo-safra-2021-acontece-neste-sabado-15-no-patio-da-secretaria-da-agricultura>. Acesso: 14 maio 2021.

SEAPDR-Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural. **Pr -Oliva 2022. Porto Alegre, RS, 2022.** Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/pro-oliva>. Acesso: 17 maio 2022.

SEAPI-Secretária da Agricultura, Pecuária e Irriga o. **Grupo Técnico avalia safra gaúcha de oliveiras 2016/2017.** Grupo Técnico avalia safra gaúcha de oliveiras 2016/2017, Porto Alegre, RS, 2017. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/grupo-tecnico-avalia-safra-gaucha-de-oliveiras-2016-2017-59160f972d526>. Acesso: 06 mar 2018.

SILVA, F. A. M; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avalia o do grau de oxida o lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103,

1999. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/qn/v22n1/1143.pdf>. Acesso em: 11 set. 2022.

SILVA, L. G.; NASCIMENTO, S. G. S.; BENITEZ, J. E. P.; ÁVILA, M. R. OLIVICULTURA NO SUL DO BRASIL. **Revista Científica Agropampa**, v. 1, n. 1, p. 15-35, 13 fev. 2020. Disponível em: <https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/Agropampa/article/view/432>. Acesso em: 11 set. 2022.

SILVA, M.D.G.; FREITAS, A. M. C.; CABRITA, M. J. B.; GARCIA, R. Olive oil composition: volatile compounds. In: DIMITRIOS, B. (ed.). **Olive oil: constituents, quality, health properties and bioconversions**. London: Intech, 2012. 500 p.

SILVA, S. F. **Estabilidade de azeite de oliva extravirgem (Olea europaea) em diferentes sistemas de embalagem**. 2011. 140 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2011.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965. Disponível em: <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144.short>. Acesso em: 11 set. 2022.

SORIA A. C.; VILLAMIEL M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review. **Food Science & Technology**, v. 21: p. 323–331, 2010

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 719 p.

TEIXEIRA, R. F.; FILHO, C. A. B.; GAUTÉRIO, F. G. A. Avaliação das características físico-químicas do resíduo do processamento do azeite na região da campanha gaúcha. **7º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão** – Universidade Federal do Pampa, n. 1, p. 2–3, 2015. Disponível em: <https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/SIEPE/article/view/89500>. Acesso em: 20 set. 2022.

TELIS, V. R. N.; MAURO, M. A. Desidratação. In: TADINI *et al.* **Operações Unitárias na Indústria de Alimentos**. Rio de Janeiro: LTC, volume II, 2016. 516p.

TENA, E. P.; MONILLAÓ, D.; JOSEP, J.; SANZ, V. M.; FIGUERES, F. G. Influencia de los ataques fúngicos en la pérdida de calidad del aceite de oliva. **Fruticultura Profesional**. Barcelona, v. 2, n. 88, p. 131-135, 1997. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=158531>. Acesso em: 10 set. 2022.

TIAN, Y.; XU, Z.; ZHENG, B.; LO, M. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 202-208, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417712001496>. Acesso em: 11 set. 2022.

TOUS, J.; ROMERO, A.; PLANA, J. Comportamento agrônômico y comercial de cinco variedades de olivo en Tarragona. **Investigacion Agrária: Produccion y Proteccion**

Vegetable, (Madrid), v. 13, n. ½, p. 97-109, 1998.

TOUS, J.; ROMERO, A.; PLANA, J.; GUERRERO, L.; DIAZ, I. Características de los aceites de oliva virgen de la variedad Arbequina. **Fruticultura Profesional**, Barcelona, v.2, n. 88, p. 57-58, 1997.

TSIMIDOU, M.Z.; GEORGIU, A.; KOIDIS, A.; BOSKOU, D. Loss of stability of “veiled” (cloudy) virgin olive oils in storage. **Food Chemistry**, v. 93, p. 377–382, 2005

UCEDA, M.; H., M.; A., M. P. La calidad del aceite de oliva. In: **El cultivo del olivo**; 6.ed. Córdoba: Ed. Mundi-prensa, 2008. p. 699- 727.

VINATORU, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs **Ultrasonics Sonochemistry** v. 8, n. 3, p. 303-313, 2001.

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de Bioquímica**. Porto Alegre: Artmed, 2000. 931p.

WEI, F.; GAO, G. Z.; WANG, X. F.; DONG, X. Y.; LI, P. P.; HUA, W.; WANG, X.; WU, X. M.; CHEN, H. Quantitative determination of oil content in small quantity of oilseed rape by ultrasoundassisted extraction combined with gas chromatography. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, p. 938 -942, 2008.

WREGE, M. S.; COUTINHO, E. F.; PANTANO, A. P.; JORGE, R. O. Distribuição potencial de oliveiras no Brasil e no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, p. 656-666, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/SK4d3XwgmYhPjNSCw5pLRPk/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 11 set. 2022.

ZBAKH, H.; EI-ABBASSI, A. Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 4. p. 53-65. 2012.

ZHANG, Q. A.; ZHANG, Z. Q.; YUE, X. F.; FAN, X. H.; LI, T.; CHEN, S. F. Response surface optimization of ultrasound-assisted oil extraction from autoclaved almond powder. **Food Chemistry**, v. 116, n. 2, p. 513-518, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609002672>. Acesso em: 11 set. 2022.