

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO RIO GRANDE
DO SUL - CAMPUS ERECHIM

CARINE GIRELLI

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATO DE ESPINHEIRA-
SANTA (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss) APLICADO EM ÓLEO DE SOJA

Erechim-RS

2024

CARINE GIRELLI

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATO DE ESPINHEIRA-
SANTA (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss) APLICADO EM ÓLEO DE SOJA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Engenharia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – *Campus* Erechim, como requisito para aprovação do componente curricular Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador: Prof. Dr. Wagner Luiz Priamo

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Priscilla Pereira dos Santos

Erechim-RS

2024

Dedico este trabalho a todos que lutam incansavelmente para tornar a ciência e a educação mais acessíveis, humanas e dinâmicas. E também aos sonhadores, idealistas e ansiosos que, como eu, acreditam em dias melhores.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que, ao longo desses anos, estiveram ao meu lado, oferecendo apoio emocional e encorajamento para enfrentar esta jornada acadêmica.

Ao professor Wagner e à professora Priscilla por toda atenção, dedicação, paciência, disposição e esforço, dividindo o seu tempo e conhecimento para a construção deste trabalho.

Sou grata aos colegas de curso, Bruno e Eduardo, pelo tempo dedicado em colaborar com este estudo.

À empresa Olfar S/A- Alimento e Energia pelo material fornecido que foi fundamental para esta pesquisa.

Por fim, a todos os outros professores da área de alimentos, pelo conhecimento transmitido, orientações e ensinamentos que serão valiosos para toda a minha vida.

RESUMO

Os óleos e gorduras são fundamentais na constituição dos alimentos, entretanto, essas substâncias são suscetíveis a reações que alteram suas características, destacando-se a oxidação lipídica. A adição de antioxidantes é uma estratégia eficaz contra essa oxidação, e há uma crescente preferência por antioxidantes naturais, impulsionando pesquisas sobre possíveis fontes vegetais. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi analisar a capacidade antioxidante do extrato de espinheira-santa aplicado em óleo de soja, com extrato das folhas obtido a partir de um planejamento experimental que investigou o efeito de variáveis sobre a capacidade antioxidante (DPPH) na extração assistida por ultrassom e os compostos fenólicos (*Folin-Ciocalteu*). Além disso, o estudo desenvolveu emulsões do tipo água em óleo (A/O) para aplicar a formulação com melhor estabilidade em óleo de soja degomado e comercial. Ainda, objetivou-se avaliar o índice de peróxidos e a estabilidade oxidativa a 110°C para verificar se o extrato protege os óleos contra a oxidação. A extração teve influência positiva do percentual de etanol e negativa da razão sólido-líquido. Sete ensaios apresentaram atividade antioxidante com percentual de inibição acima de 40%. O planejamento experimental da emulsão A/O encontrou desafios de estabilidade devido ao alto percentual de etanol nos extratos, por isso, optou-se pela formulação com ensaio 9 do planejamento de extração, que apresentou aproximadamente 34% de inibição e grandes quantidades de compostos fenólicos (6 mg.mL⁻¹EAG ou 120 mgEAG.g⁻¹ de amostra). Na análise de índice de peróxidos, ao final do tempo de armazenamento (25 dias), o extrato protegeu os óleos, com valores de 59,23±2,19 meq.kg⁻¹ para óleo degomado e 57,58±0,98 meq.kg⁻¹ para o óleo comercial, metade do valor obtido para seus respectivos controles. A proteção também foi constatada na estabilidade à oxidação a 110°C, com período de indução foi de 10,68 h e 12,62 h para o óleo degomado e comercial, respectivamente. Contudo, houve desafios na estabilidade da emulsão antioxidante ao ser incorporada ao óleo de soja, sugerindo a necessidade de futuras pesquisas para explorar métodos que melhorem a miscibilidade e a estabilidade física dessa emulsão. O extrato de espinheira-santa se mostrou promissor para aplicações em alimentos com alto teor lipídico, oferecendo uma alternativa natural para conservação dos alimentos, podendo substituir total ou parcialmente antioxidantes sintéticos.

Palavras-chave: extração assistida por ultrassom; rancidez oxidativa; polifenóis.

ABSTRACT

Fats and oils are essential components of foods; however, they are susceptible to reactions altering their characteristics, notably lipid oxidation. The addition of antioxidants is an effective strategy against this oxidation, and there is a growing preference for natural antioxidants, driving research into potential plant sources. Therefore, this study aimed to analyze the antioxidant capacity of espinheira-santa extract applied in soybean oil, extracted from leaves using an experimental planning investigating variables affecting antioxidant capacity via ultrasound-assisted extraction. Antioxidant capacity was assessed using DPPH• and phenolic compounds quantified using the Folin-Ciocalteu reagent. Additionally, water-in-oil (W/O) emulsions were developed to apply the most stable formulation in degummed and commercial soybean oils. Peroxide value and oxidative stability at 110°C were evaluated to assess whether the extract protected oils from oxidation. Extraction was positively influenced by ethanol percentage and negatively by liquid-to-solid ratio. Seven assays exhibited antioxidant activity with inhibition rates above 40%. The W/O emulsion experimental planning encountered stability challenges due to high ethanol content in extracts; hence, the formulation from extraction assay 9 was chosen, showing approximately 34% inhibition and high phenolic compound content (6 mg.mL⁻¹ GAE or 120 mg GAE.g⁻¹ of sample). At the end of a 25-day storage period, the extract protected oils with values of 59.23±2.19 meq.kg⁻¹ for degummed oil and 57.58±0.98 meq.kg⁻¹ for commercial oil, half of their respective controls. Protection was also observed in oxidative stability at 110°C, with induction periods of 10.68 h and 12.62 h for degummed and commercial oils, respectively. However, challenges in the stability of the antioxidant emulsion upon incorporation into soybean oil suggest the need for future research to improve the miscibility and physical stability of this emulsion. Espinheira-santa extract has shown promise for applications in foods with high lipid content, offering a natural alternative for food preservation, being able to totally or partially replace synthetic antioxidants.

Keywords: ultrasound-assisted extraction; oxidative rancidity; polyphenols.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reação de hidrólise para óleos e gorduras.....	15
Figura 2 – Esquema da reação de fotoxidação de ácidos graxos.....	21
Figura 3 – Mecanismo de ação da autoxidação.....	23
Figura 4 – Mecanismo de ação dos antioxidantes primários.....	25
Figura 5 – Categorias de Compostos Fenólicos.....	28
Figura 6 – Aspectos morfológicos da <i>Maytenus ilicifolia</i>	30
Figura 7 – Princípio de extração assistida por ultrassom e fenômeno cavitacional.....	32
Figura 8 - Orientação de moléculas de surfactante em uma interface óleo-água.....	34
Figura 9 - Representação esquemática de emulsões. A (O/A); B (A/O).....	34
Figura 10 - Principais tipos de instabilidades em emulsões O/A.....	35
Figura 11 - A: Estufa utilizada para secagem da matéria-prima; B: Folhas de espinheira-santa submetidas à secagem.....	38
Figura 12 - Extração assistida por ultrassom: A (banho ultrassom utilizado para obtenção do extrato) e B (equipamentos utilizados para a filtração à vácuo).....	39
Figura 13 - Obtenção da emulsão: A(Aquecimento a 40°C da lecitina de soja e do óleo mineral); B (Gotejamento da fase aquosa) e C (Agitação por 15 minutos).....	42
Figura 14 - Extratos obtidos de acordo com o planejamento experimental.....	45
Figura 15 - Percentual de Inibição dos Ensaio de Extração.....	46
Figura 16 - Diagrama de Pareto com intervalo de 95% de confiança para as variáveis avaliadas na extração.....	47
Figura 17 - Superfície de resposta para as variáveis razão sólido-líquido e porcentagem de etanol em relação ao percentual de inibição da oxidação.....	48
Figura 18 - Emulsões, com o extrato 15, 6 horas após o preparo.....	49
Figura 19 - Ensaio 1,2 e 7 após 24 horas.....	50
Figura 20 - Ensaio com o extrato 15, após a evaporação do etanol.....	50
Figura 21 - Emulsões teste após 24 horas.....	51
Figura 22 - Emulsões obtidas a partir das formulações do planejamento experimental.....	52
Figura 23 - Curva de calibração da quantificação de fenóis totais com o ácido gálico como substância padrão. Absorbância 765 nm.....	54
Figura 24 - Emulsão adicionada em óleo de soja degomado e óleo de soja comercial e seus respectivos controles.....	56
Figura 25 - Amostras armazenadas em condições para acelerar a oxidação.....	56

Figura 26 - Oxidação do óleo de soja degomado e óleo de soja comercial com extrato e seus respectivos controles.....57

Figura 27 - Formação de precipitado: A(óleo de soja degomado) e B (óleo de soja refinado).
..... 60

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Etapas do processo de extração do óleo de soja.	18
Quadro 2 – Instabilidades comuns em emulsões.	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição de ácidos graxos de óleo de soja.....	17
Tabela 2 – Propriedades físicas do óleo vegetal de soja.....	17
Tabela 3 - Variáveis e níveis a serem estudados no delineamento completo.....	38
Tabela 4 - Variáveis e níveis a serem estudados no Delineamento Composto Central Rotacional.....	41
Tabela 5 – Formulações emulsões testes.....	51
Tabela 6 – Concentração de compostos fenólicos (EAG) no extrato de espinheira-santa.....	54
Tabela 7 – Índice de peróxidos (meq.kg^{-1} de amostra) para diferentes tempos de armazenamento dos óleos.....	57
Tabela 8 – Período de indução dos óleos controle e adicionado do antioxidante.....	58

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO	13
2.1 Objetivo Geral	13
2.2 Objetivo Específico	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 Óleos e Gorduras	14
3.1.1 Composição Química.....	15
3.1.2 Ácidos Graxos	15
3.1.3 Fontes de Óleos e Gorduras	16
3.1.4 Óleo de Soja	17
3.2 Oxidação Lipídica	19
3.2.1 Mecanismos de Oxidação Lipídica.....	20
3.2.1.1 <i>Oxidação Enzimática</i>	20
3.2.1.2 <i>Reações Hidrolíticas</i>	20
3.2.1.3 <i>Fotoxidação</i>	21
3.2.1.4 <i>Autoxidação</i>	22
3.2.2 Avaliação da Qualidade dos Óleos	23
3.2.2.1 <i>Índice de Peróxidos</i>	24
3.3 Antioxidantes	24
3.3.1 Mecanismo de Ação	25
3.3.2 Antioxidantes Sintéticos	26
3.3.3 Antioxidantes Naturais	26
3.3.4 Compostos Fenólicos.....	27
3.3.4.1 <i>Quantificação de compostos fenólicos totais por Folin-Ciocalteu</i>	29
3.4 Espinheira-Santa	29
3.5 Extração Assistida por Ultrassom	31

3.6 Emulsões	33
4 MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 Reagentes	37
4.2 Óleos Vegetais	37
4.3 Obtenção e Preparo da Matéria-Prima	37
4.4 Ensaios de Extração	38
4.4.1 Planejamento de Experimentos.....	38
4.4.2 Extração Assistida por Ultrassom.....	39
4.4.3 Caracterização dos Extratos.....	39
4.4.3.1 <i>Determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH•)</i>	39
4.4.3.2 <i>Quantificação dos Compostos Fenólicos Totais</i>	40
4.4.4 Obtenção da Emulsão Contendo o Extrato com Capacidade Antioxidante	41
4.4.5 Avaliação da Atividade Antioxidante da Emulsão em Óleo Vegetal.....	42
4.4.5.1 <i>Índice de Peróxidos</i>	42
4.4.5.2 <i>Estabilidade à oxidação a 110°C</i>	43
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 Obtenção e Caracterização do Extrato	45
5.2 Obtenção da Emulsão Contendo o Extrato com Capacidade Antioxidante	49
5.2.1.1 <i>Quantificação dos Compostos Fenólicos Totais</i>	53
5.2.1.2 <i>Avaliação da Atividade Antioxidante da Emulsão em Óleo Vegetal</i>	55
6 CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS	62
APÊNDICES	73

1 INTRODUÇÃO

Os óleos e gorduras são fundamentais na constituição dos alimentos, fornecendo energia calórica, vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais. Além disso, são importantes na transferência de calor durante a fritura e influenciam diretamente atributos sensoriais dos alimentos, como palatabilidade, sabor, cor e textura (Bolognese *et al.*, 2024; Pimentel, 2018; Souza, Braghirolli e Schneider, 2018). Entre os óleos vegetais, o óleo de soja é o segundo mais consumido mundialmente, com China, Estados Unidos e Brasil representando juntos 63% da demanda global (USDA, 2024). Entretanto, essas substâncias são suscetíveis a várias reações que alteram suas características originais, destacando-se a oxidação lipídica. Para retardar ou prevenir esse fenômeno, a adição de antioxidantes é uma estratégia eficaz (Albuquerque, Oliveira e Costa, 2018; Bayram e Decker, 2023; Fennema, 2017; Frankel, 2012).

Os antioxidantes podem ser sintéticos ou naturais. Na indústria alimentícia, os sintéticos mais utilizados são butil-hidroxianisol (BHA), butilhidroxi-tolueno (BHT), galato de propila (GP) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ) (Flieger *et al.*, 2021). Contudo, preocupações com possíveis complicações associadas aos antioxidantes sintéticos e a preferência crescente por produtos naturais têm direcionado as pesquisas para a utilização de substâncias naturais com propriedades antioxidantes (Araújo *et al.*, 2022; Caetano, 2022; Silva, T. F. da, 2023).

Os compostos fenólicos são encontrados em diversas fontes vegetais (Carvalho, 2019; Chaves Neto *et al.*, 2019; Farinazzi Machado *et al.*, 2017; Zopellaro, Silva e Lovato, 2019). A espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss) é uma dessas fontes, conforme demonstrado em estudos que destacam sua capacidade antioxidante e a presença de compostos fenólicos (Bittar *et al.*, 2024; Haida *et al.*, 2012; Negri, 2007; Perleberg *et al.*, 2017; Pessuto, 2006). Isso fortalece o reconhecimento desse material como uma alternativa de antioxidante natural.

Considerando o alto consumo de óleos vegetais, como o de soja, especialmente no preparo de alimentos em altas temperaturas, é crucial investigar a estabilidade oxidativa desses óleos. Isso se deve ao interesse em minimizar a degradação nutricional e prolongar sua vida útil, aliado à crescente preferência por antioxidantes naturais. Nesse contexto, torna-se pertinente estudar a capacidade antioxidante do extrato de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss) quando aplicado ao óleo de soja, visando melhorar sua resistência à oxidação.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Analisar a capacidade antioxidante do extrato de Espinheira-Santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss) aplicado no óleo de soja.

2.2 Objetivo Específico

- Obter extratos de folhas de espinheira-santa utilizando extração assistida por ultrassom (sonicação indireta);
- Investigar a atividade antioxidante dos extratos pela sua capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•);
- Testar diferentes formulações para desenvolvimento de emulsão do tipo água em óleo (A/O) contendo extrato de folha de espinheira-santa;
- Quantificar os compostos fenólicos totais do extrato empregado na emulsão, pelo método de Folin-Ciocalteu;
- Avaliar a estabilidade à oxidação do óleo de soja adicionado da emulsão desenvolvida por meio do índice de peróxidos e da estabilidade oxidativa a 110°C (Rancimat).

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Óleos e Gorduras

Os óleos e gorduras fazem parte de um grupo de compostos denominados de lipídios e são substâncias conhecidas por sua insolubilidade em água (hidrofóbicas), sendo derivados tanto de fontes animais quanto vegetais (Sinkiewicz, 2023). Entretanto, é relevante destacar a presença de uma ideia erroneamente disseminada na sociedade, que associa os óleos à origem vegetal e as gorduras às fontes animais. De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 481, de 15 de março de 2021, a classificação dos lipídeos em óleos ou gorduras não é determinada pela natureza da fonte da qual são extraídos, mas sim pelo ponto de fusão da mistura a uma temperatura de 25°C. Nesse contexto, os óleos são caracterizados por estarem em estado líquido, enquanto as gorduras se apresentam em formas sólidas ou pastosas (Brasil, 2005).

Esses compostos desempenham um papel significativo para o sabor e para a palatabilidade dos alimentos. Outra característica relevante dos óleos e gorduras está relacionada a sua importância na alimentação humana, pois são fontes de ácidos graxos essenciais e fontes de energia, uma vez que, após a digestão, fornecem ao organismo humano uma significativa quantidade de energia, com um valor de 9 kcal/g, o que excede em mais do que o dobro a energia derivada do metabolismo de carboidratos ou proteínas (Castro *et al.*, 2004; Pimentel, 2018). Adicionalmente, desempenham um papel crucial como veículos transportadores das vitaminas lipossolúveis, isto é, aquelas que são solúveis em óleos e gorduras, tais como as vitaminas A, D, E e K (Bolognese *et al.*, 2024).

Além disso, representam os componentes predominantes do tecido adiposo, que desempenha um papel duplo ao proporcionar isolamento ao organismo e proteção aos órgãos internos, ao mesmo tempo que influencia a configuração corporal (Souza, Braghirolli e Schneider, 2018).

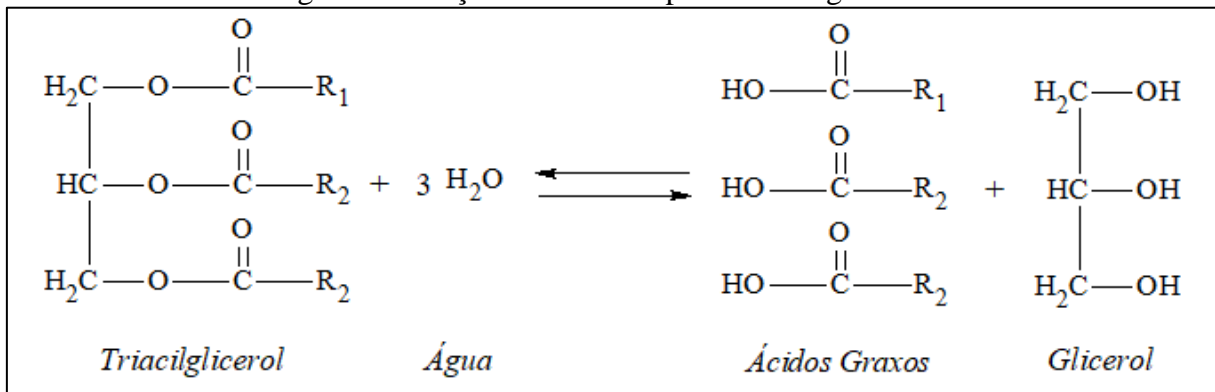
Como mencionado, os óleos e gorduras desempenham têm uma função crucial na alimentação, no entanto, é importante ressaltar que o consumo excessivo desses elementos pode acarretar riscos à saúde, como obesidade, doenças cardiovasculares e aumento do colesterol (Rodrigues, 2018).

3.1.1 Composição Química

Os termos “óleos” e “gorduras” referem-se a substâncias compostas predominantemente por moléculas de hidrogênio, oxigênio e carbono, principalmente na forma de triacilgliceróis ou triglicerídeos (cerca de 95%), que consistem em uma molécula de glicerol ligada a três moléculas de ácidos graxos (Kesarwani *et al.*, 2024).

No século XIX, Michel-Eugène Chevreul desencadeou as primeiras investigações acerca da estrutura de óleos e gorduras. Seus estudos evidenciaram que a hidrólise dessas substâncias resultava na formação de ácidos graxos livres e glicerol, contribuindo assim para um entendimento mais aprofundado de sua composição (Leray, 2023), conforme é demonstrado na Figura 1. Esses ácidos graxos podem ser idênticos ou, mais comumente, distintos entre si (Sinkiewicz, 2023).

Figura 1 - Reação de hidrólise para óleos e gorduras.



Legenda: R₁, R₂ e R₃ são ácidos graxos.

Fonte: Adaptado de Salcedo *et al.* (2023).

3.1.2 Ácidos Graxos

Os ácidos graxos são estruturas compostas por uma cadeia alifática (não aromática) ligada a um grupo ácido carboxílico (-COOH). Em sua maioria, são de origem natural e possuem um número par de átomos de carbono organizados em uma cadeia linear, resultado do processo biológico de alongamento, com a adição de dois carbonos a cada etapa. Na natureza, a maioria desses ácidos graxos possui entre 14 e 24 átomos de carbono, sendo conhecidos como ácidos graxos de cadeia longa, e são predominantes nas composições de alimentos de origem animal e vegetal (Fennema, 2017; Galante e Araújo, 2019).

Além disso, apresentam uma ampla variação em sua composição, podendo se classificar como saturados (não contém ligação dupla), monoinsaturados (contendo uma ligação dupla) ou

poli-insaturados (com mais de uma ligação dupla). A variação no tamanho da cadeia, grau e localização das insaturações na estrutura molecular confere a esses compostos distintas propriedades físicas, químicas e nutricionais (Zamuz *et al.*, 2022).

Os ácidos graxos insaturados são caracterizados por uma menor estabilidade diante de processos de degradação quando comparados aos saturados, em especial a oxidação. De maneira geral, essa susceptibilidade aumenta à medida que a quantidade de insaturações na estrutura molecular se eleva (Wang *et al.*, 2020).

Alguns ácidos graxos se classificam como essenciais e os seres humanos não conseguem sintetizar internamente, tornando necessário sua obtenção por meio da alimentação. Por esse motivo, estes ácidos graxos, desempenham um papel fundamental na saúde humana. As famílias de ácidos graxos ômega-3 (ω -3), que incluem o ácido graxo alfa-linolênico, e ômega-6 (ω -6), como o ácido linoleico, desempenham um papel crucial nesse contexto (Shrestha *et al.*, 2022).

3.1.3 Fontes de Óleos e Gorduras

Os óleos e gorduras têm uma ampla variedade de fontes, incluindo tanto origens animais quanto vegetais, e podem até ser produzidos por microrganismos. Dentre essas fontes, os óleos vegetais assumem um papel de destaque, representando produtos valiosos oriundos da agricultura. Dependendo do tratamento ao qual são submetidos, os óleos vegetais podem ser classificados como brutos, destinados principalmente a usos industriais, ou refinados, amplamente empregados na alimentação humana (Zeferino e Ramos, 2023).

Diversas matérias-primas são utilizadas na produção de óleos vegetais em todo o mundo. Essas matérias-primas incluem amendoim, oliva, caroço de algodão, coco, colza (óleo de canola), girassol, palma (azeite de dendê), palmiste e soja. Nesse contexto, os óleos de palma, soja, colza e girassol são os mais relevantes, representando, em ordem decrescente de importância, cerca de 88,12% da produção mundial projetada para a temporada 2024/25. Estima-se que a produção global de óleos vegetais atinja aproximadamente 228,28 milhões de toneladas entre os anos de 2024/25, refletindo um aumento de 2% em relação ao ano anterior, 2023/24. O consumo global de óleos vegetais também deve crescer, com uma previsão de 224,91 milhões de toneladas, um aumento de cerca de 3% em comparação com a temporada passada (USDA, 2024).

3.1.4 Óleo de Soja

O feijão de soja (*Glycine max*) é uma das culturas agrícolas mais antigas conhecidas pelo ser humano, com evidências de cultivo na China há aproximadamente 5.000 anos. No contexto brasileiro, foi introduzida pelos primeiros imigrantes japoneses em 1908, mas sua entrada oficial no país ocorreu no Rio Grande do Sul em 1914. No entanto, a verdadeira expansão da cultura da soja no Brasil ocorreu na década de 1970, impulsionada pelo crescente interesse da indústria de óleo e pela demanda do mercado internacional (Luzia, 2008).

A definição do óleo de soja é estabelecida pela Portaria nº 795, datada de 15 de dezembro de 1993. Conforme essa regulamentação, é descrito como "o produto obtido por prensagem mecânica e/ou extração por solvente, dos grãos de soja (*Glycine max. L Merrill*), isento de misturas de outros óleos, gorduras ou outras matérias estranhas ao produto". Ainda, essa norma detalha a composição percentual dos ácidos graxos presentes no óleo de soja, com os principais apresentados na Tabela 1 (Brasil, 1993).

Tabela 1 – Composição de ácidos graxos de óleo de soja.

Ácido Graxo	Composição (%)
Palmítico	9,0 a 14,5
Esteárico	2,5 a 5,0
Oleico	18,0 a 34,0
Linoleico	45,0 a 60,0
Linolênico	3,5 a 8,0

Fonte: Adaptado de Brasil (1993)

A Tabela 2 oferece uma apresentação de algumas de suas características e propriedades físicas.

Tabela 2 – Propriedades físicas do óleo vegetal de soja.

Propriedade	Característica/Valor
Estado físico a 25°C e 1 atm	Líquido
Cor	Amarelo pálido a amarelo acastanhado
Densidade	0,919 a 0,922
Temperatura de Fusão	-10°C a -16°C
Temperatura de Ebulição	Bruto: 185°C; Refinado e Branqueado: 228°C a 234°C
pH	7,5
Viscosidade	60 η , mPa ⁻¹ s
Inflamabilidade no armazenamento	Ponto de inflamação: 328°C; Ponto de incêndio: 363°C

Fonte: Adaptado de Baker, Grant e Malakar-Kuenen (2018).

Amplamente consumido em todo o mundo, está disponível em diferentes formas, incluindo o óleo bruto (na sua forma original, exatamente como é extraído dos grãos), o óleo degomado (óleo bruto submetido à extração de fosfolípidios) e o óleo refinado, que após a extração e a degomagem, é submetido a etapas adicionais de neutralização, branqueamento e desodorização (Gatade, 2020). O óleo de soja destinado ao consumo humano passa por um processo de refino que visa aprimorar suas características, como aparência, sabor, odor e estabilidade, por meio da remoção de componentes indesejáveis, incluindo ácidos graxos livres, proteínas, corantes naturais, umidade e compostos voláteis e inorgânicos (Chew e Nyam, 2020).

A sua extração é um processo que abrange várias etapas, e a Embrapa (2015) oferece uma explicação completa de cada uma delas, conforme apresentado na Quadro 1.

Quadro 1 – Etapas do processo de extração do óleo de soja.

ETAPA	DESCRIÇÃO
Armazenamento	Armazenamento da soja antes da extração, o que influencia diretamente na qualidade e no rendimento final.
Pré-Limpeza	Classificação dos grãos e remoção de impurezas por meio de peneiras vibratórias.
Descascamento	Remoção das cascas dos grãos.
Condicionamento	Aquecimento dos cotilédones a 55-60°C.
Trituração e Laminação	Aumento da superfície de contato entre grão e óleo para melhorar o rendimento da extração. Isso é feito com rolos de aço inoxidável.
Cozimento	Elevação da temperatura dos flocos para 105°C, rompendo as paredes celulares para facilitar a extração do óleo.
Extração do Óleo Bruto	Extração do óleo por prensagem mecânica ou solventes.
Destilação da Micela	A micela resultante da extração é filtrada e o óleo é separado do solvente por aquecimento sob vácuo.
Dessolventização e Tostagem	Evaporação do solvente com cocção úmida do farelo.
Recuperação do Solvente	Recuperação do solvente da mistura incondensável.
Degomagem	Remoção de fosfatídios do óleo bruto, como lecitina e proteínas, utilizando água a 60-70°C.
Neutralização	Eliminação de ácidos graxos livres e outras impurezas com solução aquosa de hidróxido de sódio.
Branqueamento	Adsorção de pigmentos em terras clarificantes.
Desodorização	Remoção de sabores e odores indesejáveis.

Fonte: Adaptado de Embrapa (2015).

Cabe ressaltar que o óleo de soja é propenso à oxidação devido ao seu elevado grau de insaturação, manifestado pelo alto teor de ácido linoleico e o teor relativamente elevado de ácido linolênico (Kozłowska e Gruczyńska, 2018).

3.2 Oxidação Lipídica

A oxidação lipídica, uma das principais preocupações no processamento de alimentos, especialmente quando se trata de óleos vegetais, refere-se a um processo complexo de reações químicas responsáveis pela degradação do óleo durante o processamento e armazenamento. É durante essas reações que os ácidos graxos presentes nos triacilgliceróis se degradam, resultando na formação de moléculas menores e voláteis que contribuem para odores e sabores indesejados (Albuquerque, Oliveira e Costa, 2018; Fennema, 2017). Além disso, esse processo pode ocasionar uma série de outras alterações que afetam não apenas a qualidade nutricional dos alimentos, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais, mas também comprometem a integridade e segurança dos produtos alimentícios, uma vez que podem levar à formação de compostos potencialmente tóxicos (Mohamed *et al.*, 2018).

Esse processo envolve uma série de interações influenciadas por diversos fatores que incluem temperatura, exposição à luz, presença de catalisadores, ação de radicais livres, formação de espécies reativas de oxigênio, influência de metais, pigmentos, composição glicerídica, natureza e concentração de antioxidantes e pró-oxidantes (Bao, Chen e Liu, 2019; Gómez-Cortés e Camiña, 2019; Huyan *et al.*, 2019). Segundo Tena *et al.* (2019) dentro deste complexo cenário de interações, várias consequências podem surgir:

- I. **Perda ou modificação de componentes químicos**, isso inclui ácidos graxos poli-insaturados e antioxidantes, que desempenham papéis cruciais na saúde humana;
- II. **Formação de outros compostos químicos** (hidroperóxidos e ácidos graxos livres), contribuindo para a formação de produtos secundários da oxidação;
- III. **Surgimento dos produtos secundários de oxidação**, que alteram as propriedades sensoriais dos óleos e gorduras, devido a formação de aldeídos e cetonas insaturados, responsáveis pelo desenvolvimento de defeitos "rançosos" que podem levar à rejeição do produto pelos consumidores.

Os óleos vegetais se destacam por sua abundância de ácidos graxos insaturados, os quais desempenham um papel central na oxidação lipídica, pois são alvos primordiais das espécies

reativas de oxigênio. Os ácidos graxos poli-insaturados são particularmente suscetíveis a esses efeitos prejudiciais devido às múltiplas ligações duplas em sua estrutura. Quando as espécies reativas entram em contato com estes, isso desencadeia uma reação química conhecida como peroxidação lipídica, resultando na degradação desses ácidos graxos (Socrier *et al.*, 2019).

Métodos eficazes de controle contra a oxidação lipídica abrangem uma variedade de estratégias. Estas incluem a inativação de metais pró-oxidantes, o processamento com foco na redução ou eliminação de contaminação metálica e exposição à luz, a hidrogenação parcial de gorduras poli-insaturadas e a escolha de embalagens adequadas para minimizar a exposição ao ar e à umidade. Além disso, o uso de antioxidantes é uma prática essencial para proteger contra a oxidação lipídica (Bayram e Decker, 2023; Frankel, 2012).

3.2.1 Mecanismos de Oxidação Lipídica

A degradação dos ácidos graxos insaturados pode ser desencadeada por diversos mecanismos, incluindo a oxidação enzimática, reações hidrolíticas, fotoxidação e autoxidação. Dentre esses processos, a autoxidação se destaca como uma das mais amplamente reconhecidas, sendo responsável por muitas das mudanças observadas durante o armazenamento de produtos alimentícios (Bottoli, 2022).

3.2.1.1 Oxidação Enzimática

A oxidação enzimática é desencadeada pela atuação das enzimas lipoxigenases, as quais agem sobre os ácidos graxos poli-insaturados, catalisando a incorporação de oxigênio nas cadeias hidrocarbonadas poli-insaturadas. Isso resulta na formação de peróxidos e hidroperóxidos contendo duplas ligações conjugadas, os quais podem se envolver em variadas reações degradativas (Amaral, Silva e Lannes, 2018).

3.2.1.2 Reações Hidrolíticas

Segundo Fennema (2017), as reações hidrolíticas podem ser de dois tipos principais:

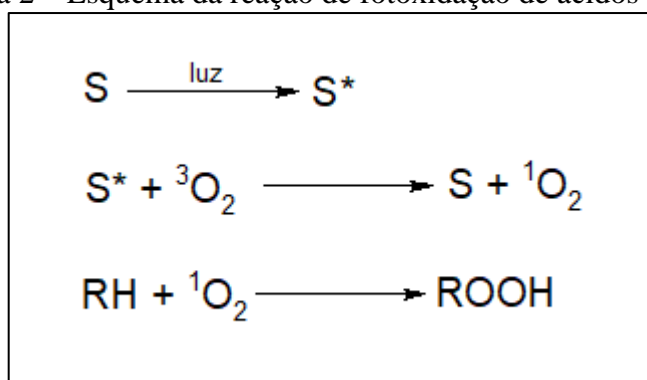
1. **Reação hidrolítica enzimática:** envolve a hidrólise de óleos e gorduras, resultando na produção de ácidos graxos livres. Catalisada por enzimas lipases, que podem estar presentes nas sementes oleaginosas ou serem de origem microbiana, a decomposição das gorduras é acelerada pela luz e calor, resultando em sabores e odores desagradáveis nos óleos.

2. **Reação hidrolítica química:** ocorre principalmente durante a fritura em altas temperaturas. Neste processo, a hidrólise dos lipídios é induzida pelo calor e pela água liberada dos alimentos, formando ácidos graxos livres, monoacilgliceróis, diacilgliceróis, glicerol, monômeros cíclicos, dímeros e polímeros

3.2.1.3 Fotoxidação

A fotoxidação é o processo, que em gorduras insaturadas, é desencadeado principalmente pela absorção de energia luminosa, com comprimentos de onda na faixa visível, próxima ao ultravioleta. Isso ocorre em presença de substâncias sensibilizadoras, (como clorofila, mioglobina, riboflavina e outras), que transferem essa energia para o oxigênio triplete ($^3\text{O}_2$), que possui dois elétrons não emparelhados em órbitas diferentes, criando assim o estado singlete ($^1\text{O}_2$). No estado singlete, todos os elétrons estão emparelhados, o que o torna mais reativo e capaz de reagir em uma taxa mais rápida. O oxigênio singlete, ao reagir diretamente com as ligações duplas por meio de adição, gera hidroperóxidos que apresentam características distintas dos produzidos na ausência de luz e sensibilizadores, esses, posteriormente, passam por processos de degradação que resultam na formação de aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (Bacellar e Baptista, 2019; Silva, 2018). A formação de hidroperóxidos por meio da fotoxidação é apresentada na Figura 2.

Figura 2 – Esquema da reação de fotoxidação de ácidos graxos.



Legenda: S – Sensibilizador; S* - Sensibilizador excitado; $^3\text{O}_2$ - Oxigênio triplete; $^1\text{O}_2$ - Oxigênio singlete; RH – Ácido graxo insaturado; ROOH – Hidroperóxido.

Fonte: Adaptado de Nunes (2013).

3.2.1.4 Autoxidação

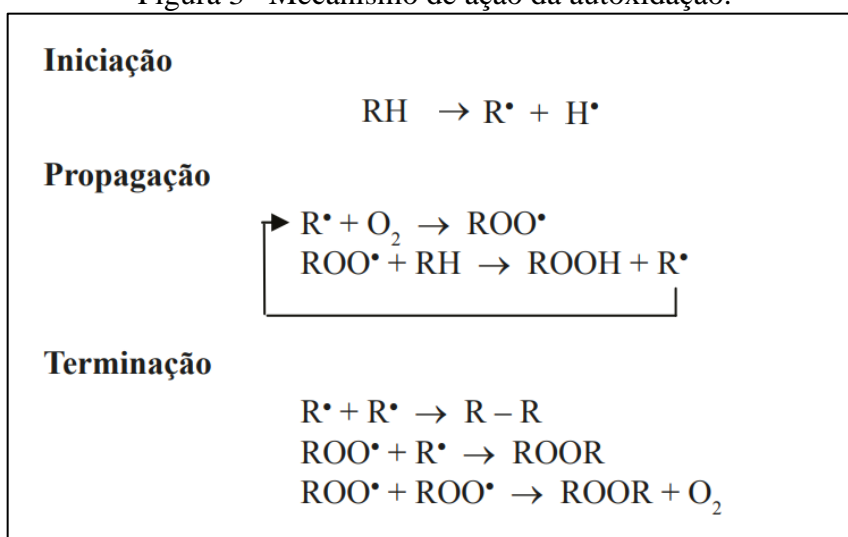
A autoxidação, que também pode ser referida como rancidez oxidativa ou peroxidação mediada por radicais livres, representa o mecanismo de oxidação mais encontrado em óleos e gorduras. Esse processo ocorre devido à existência de oxigênio no ambiente, tornando sua prevenção um obstáculo significativo. A sensibilidade a esse fenômeno varia de acordo com a quantidade e a posição das ligações duplas nos ácidos graxos insaturados encontrados nos óleos e gorduras. Outra característica desse processo é sua natureza autocatalítica que, uma vez desencadeada, se propaga e acelera por conta própria. No entanto, vários fatores pró-oxidantes, como íons de metais pesados, podem intensificar esse processo, enquanto antioxidantes têm o efeito oposto, reduzindo sua velocidade (Tena *et al.*, 2019).

A rancidez oxidativa resulta na formação de hidroperóxidos e segue três etapas: iniciação, propagação e terminação, conforme ilustrado na Figura 3. Assim que os hidroperóxidos se formam, eles podem se decompor em aldeídos e cetonas, que são os principais produtos responsáveis pelos sabores e aromas associados à rancidez oxidativa (Amaral, Silva e Lannes, 2018). No primeiro estágio, denominado de iniciação, ocorre a formação de radicais livres (R^\bullet), uma reação que demanda uma elevada energia de ativação e, portanto, não é espontânea. Para desencadear essa etapa, a presença de catalisadores é fundamental, tais como luz visível, radiação ultravioleta, metais ou metaloproteínas. Esses propiciam a remoção de um átomo de hidrogênio do carbono alílico presente na molécula do ácido graxo insaturado (RH), resultando na formação de átomos com elétrons não pareados nos orbitais externos (Lorenzo *et al.*, 2018). Na etapa de propagação, os radicais livres reagem com o oxigênio atmosférico (O_2) para gerar o radical peroxila ou radical peróxido (ROO^\bullet). Este último é extremamente reativo e instável, e, por sua vez, remove um átomo de hidrogênio de uma molécula de ácido graxo insaturado próxima (RH), resultando na formação de hidroperóxidos ($ROOH$) e na produção de outro radical (R^\bullet). Esse novo radical atua como propagador da reação, criando assim um processo autocatalítico. A formação do radical peroxila e a geração de novos radicais livres podem ocorrer em uma cadeia, repetindo-se inúmeras vezes (Chaijan e Panpipat, 2017).

No início da etapa de propagação, os hidroperóxidos se acumulam. No entanto, devido à sua natureza instável, à medida que a reação oxidativa avança, esses hidroperóxidos começam a se decompor, resultando na formação de hidrocarbonetos, ácidos graxos de cadeia curta, radicais livres e compostos voláteis, incluindo aldeídos e cetonas, que são responsáveis pelo característico odor de ranço. Os íons metálicos, como ferro, cobalto, cobre e molibdênio, podem

atuar como catalisadores nesse processo de degradação (Domínguez *et al.*, 2019). Por fim, na etapa de terminação, os radicais (livres e peroxilas) se combinam para formar compostos estáveis, ou seja, não reativos. Logo, a reação com oxigênio diminui, uma vez que a quantidade de radicais está reduzindo. A reação se encerra quando não há mais radicais presentes. No entanto, é crucial salientar que, em geral, as condições ambientais que favorecem a oxidação (como calor, luz e substâncias catalisadoras) permanecem presentes. Isso implica que sempre existe a possibilidade de formação de novos radicais livres e, conseqüentemente, a ocorrência de novos ciclos de autoxidação (Lorenzo *et al.*, 2018).

Figura 3 – Mecanismo de ação da autoxidação.



Legenda: RH - Ácido graxo insaturado; R[•] - Radical livre; ROO[•] - Radical peroxila ou Radical peróxido; ROOH - Hidroperóxido.

Fonte: Adaptado de Gavahian *et al.* (2018).

Assim, é importante reduzir ao máximo a influência de todos os fatores desencadeantes na formação de radicais livres, tais como a exposição à luz, temperaturas elevadas, presença de metais, contato com o oxigênio e, adicionalmente, bloquear a geração de radicais livres mediante a incorporação de antioxidantes, que têm a capacidade de diminuir a velocidade da reação, atrasando ou inibindo a oxidação (Grosshagauer, Steinschaden e Pignitter, 2019).

3.2.2 Avaliação da Qualidade dos Óleos

Os métodos empregados para avaliar o grau de oxidação lipídica oferecem informações sobre o estado do óleo no momento da análise. Esses procedimentos se fundamentam na mensuração de produtos primários e secundários resultantes da oxidação, os quais são quantificados com base em diversos critérios de qualidade específicos (Tena *et al.*, 2019).

3.2.2.1 Índice de Peróxidos

O índice de peróxidos (IP) é um método muito utilizado para avaliar o estado oxidativo, uma vez que os peróxidos são um dos primeiros produtos gerados durante a oxidação e, portanto, fornece informações sobre o frescor e qualidade do óleo. A sua determinação envolve a liberação de iodo molecular de uma solução saturada de iodeto de potássio pelos peróxidos presentes no óleo. O iodo liberado é, então, quantificado por titulação com tiosulfato de sódio (Dijkstra, 2016).

O resultado desse teste é expresso em "meq.kg⁻¹", que representa miliequivalentes por quilograma, refletindo a quantidade de peróxidos contidos em uma amostra de óleo ou gordura em relação à sua massa. Geralmente, o valor de peróxidos para óleos frescos é inferior a 10 meq.kg⁻¹ enquanto concentrações situadas entre 30 e 40 meq.kg⁻¹ podem sugerir a ocorrência de ranço (Tena *et al.*, 2019).

Ainda, é importante ressaltar que um valor baixo de índice de peróxido pode ser observado mesmo em óleos que estejam altamente oxidados e com sinais de rancidez. Esse fenômeno ocorre devido à transformação dos peróxidos contidos nesses óleos em compostos como aldeídos e cetonas, os quais conferem aromas indesejáveis ao produto. Portanto, é fundamental possuir informações prévias sobre as características do óleo antes de interpretar os resultados obtidos no teste (Talbot, 2011).

Conforme estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 481, de 15 de março de 2021, no Anexo IV da Instrução Normativa (IN) nº 87, os limites máximos permitidos para o índice de peróxidos em óleos e gorduras vegetais refinados é de 10 meq.kg⁻¹. Ainda, para óleos prensados a frio e não refinados, o limite máximo permitido é de 15 meq.kg⁻¹ (Brasil, 2021).

3.3 Antioxidantes

Os antioxidantes são compostos que têm a capacidade de retardar ou prevenir a oxidação de alimentos (Oswell, Thippareddi e Pegg, 2018). Sua afinidade pelo oxigênio supera a dos lipídios presentes nos produtos alimentícios, permitindo que atuem de forma preferencial ao consumir o oxigênio absorvido pelo produto. Assim, ajudam a proteger os alimentos da deterioração oxidativa (Mishra, Belur e Iyyaswami, 2021; Vaisali, Belur e Iyyaswami, 2018).

Ao escolher tais compostos, é desejável que apresentem as seguintes características: eficácia em concentrações reduzidas; ausência de efeitos indesejáveis na cor, sabor e odor do

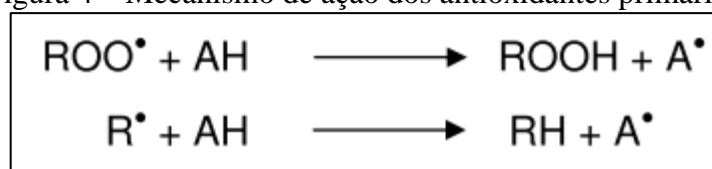
produto final; nenhuma influência adversa sobre o produto; segurança toxicológica; compatibilidade e facilidade de aplicação. Além disso, é importante considerar a conformidade com a legislação, os custos envolvidos e a preferência do consumidor por antioxidantes naturais (Lourenço, Moldão-Martins e Alves, 2019).

3.3.1 Mecanismo de Ação

Existem duas abordagens para inibir ou retardar os processos de oxidação por meio de antioxidantes. A primeira é através dos antioxidantes primários, que têm a capacidade de eliminar diretamente os radicais livres, neutralizando e inativando-os durante as fases iniciais ou de propagação das reações de oxidação, ao doar átomos de hidrogênio, interrompendo assim a progressão da reação em cadeia. Por outro lado, os antioxidantes secundários atuam de maneira distinta, não se envolvendo diretamente na eliminação desses radicais, mas exercendo um papel preventivo ao retardar o início da oxidação, sua função principal é neutralizar os catalisadores pró-oxidantes. Esses antioxidantes interagem com o oxigênio do ar (como o ácido ascórbico e o palmitato de ascorbila), e com íons de metais catalíticos (como o ácido etilenodiamino tetra-acético e o ácido cítrico), impedindo que esses elementos iniciem o processo de oxidação. Também, há antioxidantes com funções combinadas, que desempenham papéis tanto primários quanto secundários, exemplificados pelos polifenóis de origem natural (Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2021).

Os antioxidantes sintéticos, como butil-hidroxianisol (BHA), butilhidroxi-tolueno (BHT), galato de propila (GP) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ) são exemplos de antioxidantes primários (Manassis *et al.*, 2020). A Figura 4 apresenta o mecanismo de ação dos antioxidantes primários.

Figura 4 – Mecanismo de ação dos antioxidantes primários.



Legenda: ROO[•] - Radical peroxila ou Radical peróxido; AH – Antioxidante com um átomo de hidrogênio; ROOH – Hidroperóxido; A[•] - Radical inerte; R[•] - Radical livre; RH - Ácido graxo insaturado.

Os radicais R[•] e ROO[•] capturam o átomo de hidrogênio ativo do antioxidante com maior eficiência do que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas, gerando espécies inativas que interrompem a progressão da reação em cadeia. Isso resulta na formação de um radical inerte (A[•]) derivado do antioxidante, que, devido à sua estabilização por ressonância, não é capaz de iniciar ou propagar reações oxidativas.

Fonte: Adaptado de Gutiérrez-del-Río *et al.* (2021).

3.3.2 Antioxidantes Sintéticos

Numerosos compostos sintéticos demonstram uma atividade antioxidante superior em comparação aos antioxidantes naturais e estão amplamente disponíveis. Esses compostos, em sua maioria, pertencem à classe dos compostos fenólicos e incluem substâncias como TBHQ, BHA, BHT e GP (Flieger *et al.*, 2021). Entretanto, a utilização desses antioxidantes sintéticos está cada vez mais restrita e, em certos países, banida devido às crescentes apreensões relacionadas à sua toxicidade, mesmo em concentrações reduzidas, e aos potenciais efeitos adversos para a saúde associados a exposições prolongadas (FDA, 2021; Gonçalves-Filho e Souza, De, 2022).

Estudos demonstraram que o BHA, quando presente em altas concentrações, possui efeitos carcinogênicos, mutagênicos e um forte efeito citotóxico em humanos (Felter, Zhang e Thompson, 2021; Li *et al.*, 2018; Park *et al.*, 2019). No estudo conduzido por Sasaki *et al.* (2002), foi investigado o impacto dos aditivos alimentares no DNA de camundongos, revelando que tanto o BHA quanto o BHT causaram danos ao DNA nos órgãos gastrointestinais dos animais.

No Brasil, conforme a IN nº 211 de 1º de março de 2023, o uso de galato de propila, BHA, BHT e TBHQ é limitado a concentrações de até 200 mg/kg em óleos e gorduras vegetais, exceto em azeites de oliva e óleos prensados a frio, onde seu uso não é autorizado (Brasil, 2023). Considerando os indícios de potenciais complicações associadas ao consumo de antioxidantes sintéticos, como reações alérgicas, distúrbios hormonais e possíveis efeitos carcinogênicos, e a crescente demanda dos consumidores por produtos de origem natural e minimamente processados, pesquisas têm sido direcionadas à busca de substâncias naturais que possuam propriedades antioxidantes. Essas substâncias naturais, além de servirem como alternativas aos antioxidantes sintéticos, oferecem a possibilidade de serem utilizadas em associação com estes últimos, contribuindo assim para a redução das quantidades empregadas na indústria de alimentos (Araújo *et al.*, 2022; Caetano, 2022; Silva, M. F. da, 2023; Silva, T. F. da, 2023; Tozo, 2022; Venzel, 2022).

3.3.3 Antioxidantes Naturais

Os antioxidantes naturais são substâncias provenientes de fontes naturais, incluindo grãos, frutas, sementes, folhas e raízes (Bottoli, 2022). Esses compostos incluem vitaminas como o ácido ascórbico e os tocoferóis; carotenoides; antioxidantes contendo enxofre;

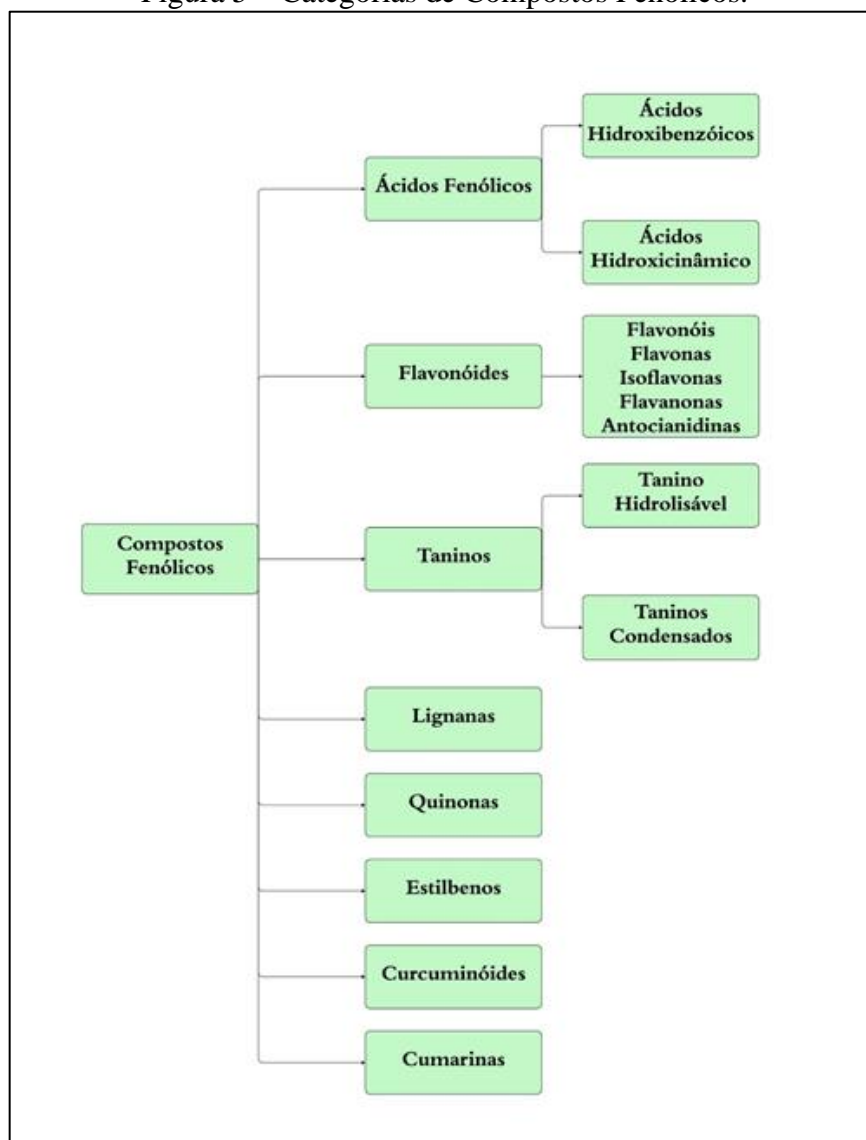
compostos neoformados, como as melanoidinas; compostos fenólicos (Cömert e Gökmen, 2018).

Por um longo período, as pesquisas se concentraram na avaliação da capacidade antioxidante de substâncias como tocoferóis, ácido ascórbico (vitamina C) e carotenoides. Contudo, os pesquisadores posteriormente observaram que os compostos fenólicos, substâncias que contêm um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila, apresentavam uma eficácia superior como antioxidantes. São encontradas mais de 8.000 estruturas fenólicas distintas, das quais muitas estão amplamente distribuídas nos alimentos. Esses são amplamente reconhecidas como os grupos de metabólitos secundários mais numerosos e onipresentes encontrados nas plantas, sendo subdivididos em seis grupos principais, que incluem flavonóides, ácidos fenólicos, álcoois fenólicos, estilbenos, lignanas e taninos (Cömert e Gökmen, 2018; Mutha, Tatiya e Surana, 2021; Oluwole *et al.*, 2022). No entanto, os compostos naturais ainda não foram submetidos a testes abrangentes para determinar seu perfil de segurança, o que restringe sua aplicação na preservação da estabilidade lipídica de alimentos (Pokorny *et al.*, 2010). Adicionalmente, é necessário aprimorar ou desenvolver métodos de extração, purificação, identificação e quantificação de antioxidantes por meio de técnicas ecologicamente corretas e econômicas para otimizar o rendimento do processo de extração (Oroian e Escriche, 2015).

3.3.4 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos, também conhecidos como polifenóis, são metabólitos secundários encontrados em plantas, produzidos como resposta a mecanismos de defesa. Reconhecidos por suas propriedades antioxidantes e outros benefícios para a saúde, esses compostos são caracterizados por conter grupos benzênicos com, pelo menos, um hidrogênio substituído por grupamentos hidroxila (OH) (Kumar *et al.*, 2020; Stiller *et al.*, 2021). Devido à diversidade de suas estruturas químicas, os compostos fenólicos podem ser categorizados em diversos subgrupos distintos, tais como ácidos fenólicos, flavonóides, taninos, cumarinas, lignanas, quinonas, estilbenos e curcuminóides (Gan *et al.*, 2019). A Figura 5 apresenta as diferentes categorias de compostos fenólicos.

Figura 5 – Categorias de Compostos Fenólicos.



Fonte: Adaptado de Gan *et al.* (2019).

A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos deriva predominantemente de suas características redutoras e estrutura química. Essas propriedades desempenham um papel fundamental na eliminação e captura de radicais livres, bem como na ligação a metais de transição, influenciando tanto o início quanto a propagação dos processos oxidativos. Os intermediários resultantes da ação dos antioxidantes fenólicos, ou seja, as espécies químicas que se formam durante a reação dos antioxidantes fenólicos com os radicais livres, demonstram notável estabilidade, em grande parte devido à ressonância presente nas estruturas de anéis aromáticos que compõem essas substâncias (Chun *et al.*, 2005; Huang, Cai e Zhang, 2010; Soares, 2002).

A comunidade científica tem dedicado atenção especial à extração de compostos fenólicos, principalmente a partir das folhas de diversas fontes vegetais (Alara, Abdurahman e

Ukaegbu, 2018; Do, Truong e Nguyen, 2020; Irakli, Chatzopoulou e Ekateriniadou, 2018; Schafranski, 2019; Wu *et al.*, 2020). A espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss) é um exemplo de planta com a presença de compostos fenólicos (Bittar *et al.*, 2024; Chiapetti, 2018; Haida *et al.*, 2012). Este fato corrobora para a valorização deste material no uso como antioxidante natural.

3.3.4.1 Quantificação de compostos fenólicos totais por *Folin-Ciocalteu*

O método *Folin-Ciocalteu* é uma técnica amplamente empregada para a quantificação de compostos fenólicos em amostras de origem vegetal. Essa abordagem se baseia em uma análise espectrofotométrica que faz uso da espectroscopia na faixa do visível, com um intervalo de comprimento de onda de 760 nm. Nesse processo, emprega-se o reagente *Folin-Ciocalteu*, composto por ácido fosfotúngstico e ácido fosfomolibdico, que exibe uma coloração amarela característica. Os compostos fenólicos contidos no extrato vegetal são submetidos a uma solução alcalina, geralmente carbonato de sódio, levando à formação do ânion fenolato por meio da dissociação do próton presente na sua estrutura. Esse ânion reage com os ácidos componentes do reagente *Folin-Ciocalteu*, ocasionando a redução destes em óxido de tungstênio e óxido de molibdênio, conferindo uma coloração azul ao sistema. Então, a concentração de compostos fenólicos é avaliada indiretamente em um espectrofotômetro, possibilitando o subsequente cálculo com base em uma curva de regressão linear estabelecida com o ácido gálico (GA) ou outro composto fenólico utilizado como padrão de referência (Chow *et al.*, 2017; Pérez, Dominguez-López e Lamuela-Raventós, 2023; Samara, Nasser e Mingelgrin, 2022).

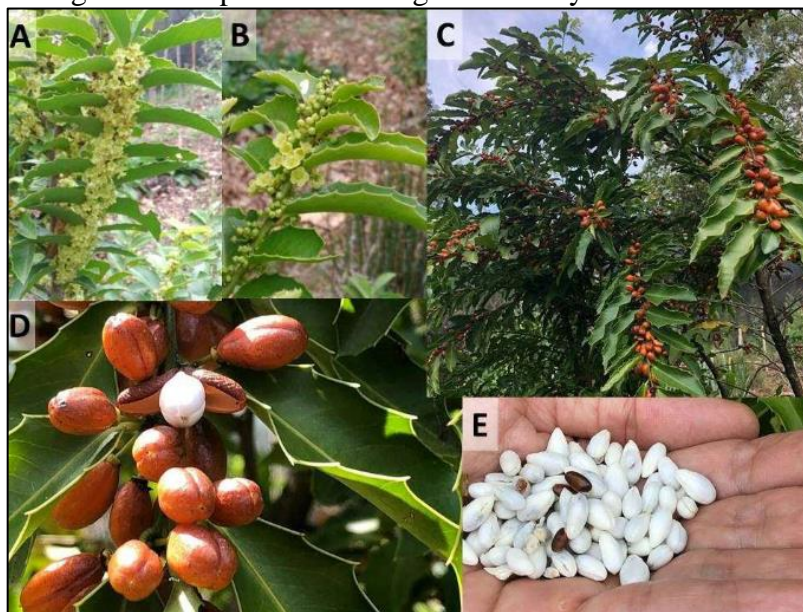
3.4 Espinheira-Santa

A planta conhecida como espinheira-santa, cujo nome científico é *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss, apresenta ramificações que se estendem desde a base, alcançando uma média de 5 metros de altura quando atinge a fase adulta, as suas flores são pequenas e de cor amarelada e os seus frutos são cápsulas bivalvares, deiscentes de cor vermelha, contendo de uma a quatro sementes de cor castanha ou preta (Figura 6). No estado do Paraná, essas plantas são comumente denominadas como "cancorosa", enquanto no Rio Grande do Sul, recebem diversos nomes, tais como "espinheira-divina," "erva cancorosa" e "erva-santa". Além disso, é encontrada em solos álicos, com baixa saturação de bases trocáveis e em solos eutróficos

(Benedetti *et al.*, 2009). Seu período de florescimento tem início durante a primavera, estendendo-se ao longo do verão, enquanto a fase de frutificação ocorre nos meses de novembro, dezembro e janeiro (Oliveira, 2016).

A designação "espinheira-santa" provém da presença de folhas com bordas espinhosas e da reconhecida utilidade medicinal da planta. Embora seja nativa do sul do Brasil, essa espécie também é encontrada em regiões do Chile, Paraguai, Argentina e Uruguai (Negri, Possamai e Nakashima, 2009). Essa planta se destaca por suas propriedades medicinais, sendo rica em flavonóides, taninos e triterpenos. Essas substâncias desempenham papéis diversos, atuando como antioxidantes, acelerando o processo de cicatrização e protegendo o revestimento gástrico (Vasconcelos e Santos, 2023). Em virtude dessas características, a espinheira-santa é frequentemente empregada como um recurso natural no tratamento de condições como úlcera gástrica, azia, gastrite, acne e eczema (Filho e Modesto, 2019).

Figura 6 – Aspectos morfológicos da *Maytenus ilicifolia*.



Legenda: A e B - flores; C - aspecto geral da planta com frutos; D - frutos; E - sementes com e sem arilo.
Fonte: Soares Garcia e Oliveira (2021).

A literatura contém alguns estudos que comprovam a capacidade antioxidante e a presença de compostos fenólicos na espinheira-santa (Bittar *et al.*, 2024; Haida *et al.*, 2012; Negri, 2007; Perleberg *et al.*, 2017; Pessuto, 2006).

3.5 Extração Assistida por Ultrassom

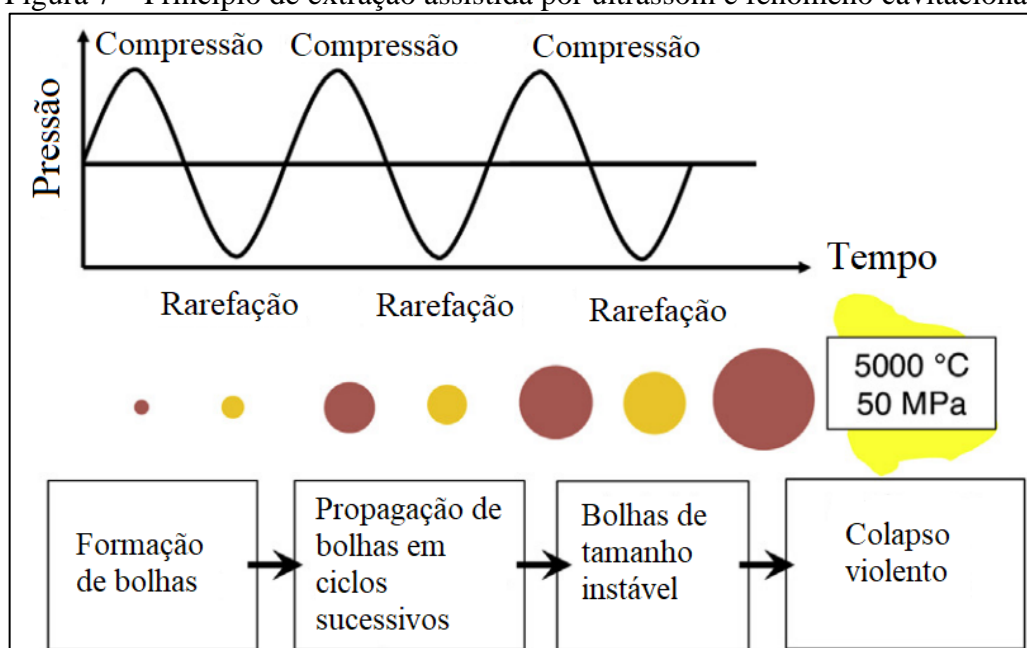
O ultrassom consiste em ondas mecânicas capazes de se propagar através de diferentes meios, abrangendo sólidos, líquidos e gases. Distingue-se do som audível pelo ser humano devido às suas frequências elevadas, geralmente superiores a 20 kHz (Moyano, Paraiso e González-Lezcano, 2022).

A cavitação é um dos fenômenos produzido quando as ondas de ultrassom se propagam em líquidos. As forças geradas pela cavitação, decorrentes da aplicação de ultrassom, originam-se da implosão de microbolhas que se formam devido às oscilações de pressão, envolvendo alternâncias entre compressões e rarefações, induzidas pelas ondas acústicas que se propagam no meio líquido. Essas microbolhas desenvolvem-se até atingirem um tamanho instável e, posteriormente, colapsam, como exemplificado na Figura 7, liberando uma considerável quantidade de calor e exercendo elevadas pressões substanciais nas proximidades da região de implosão. Se houver partículas sólidas presentes na solução, as implosões das microbolhas resultam na formação de jatos que colidem com essas partículas. Esse impacto pode levar à ruptura das células vegetais, o que, por sua vez, facilita a penetração do solvente extrator na matriz da planta. Além disso, o calor gerado pelas implosões contribui para o aumento da solubilidade dos analitos, resultando em uma maior eficiência no processo de extração e taxa de transferência de massa. Conseqüentemente, é possível promover a agitação da mistura e extrair os compostos desejados em um período significativamente mais curto do que o requerido pelos métodos convencionais de extração, tudo isso enquanto se utiliza uma quantidade reduzida de solvente (Gallo, Ferrara e Naviglio, 2018; Quarato *et al.*, 2023; Shestakova e Sillanpää, 2020).

Nos últimos anos, começou a ser observado um aumento significativo na aplicação da técnica de extração de compostos fenólicos assistida por ultrassom. Esse método se destaca por proporcionar uma eficaz extração em um período consideravelmente reduzido, ao mesmo tempo em que demanda menor consumo de energia e quantidades reduzidas de solvente (Altemimi *et al.*, 2017; Baakili, El, Fadil e Es-Safi, 2023; Lopeda-Correa, Valdés-Duque e Osorio-Tobón, 2022; Rocha *et al.*, 2017; Sanou *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2021).

Na extração de polifenóis, soluções que combinam água e etanol são empregadas, especialmente quando o extrato se destina a formulações de alimentos. O uso de etanol é vantajoso devido à sua capacidade de aumentar a solubilidade dos polifenóis, facilitando sua extração da matriz. Por outro lado, a presença da água desempenha um papel essencial ao auxiliar na remoção eficaz do soluto da amostra (Barros *et al.*, 2019).

Figura 7 – Princípio de extração assistida por ultrassom e fenômeno cavitacional.



Fonte: Adaptado de Barba *et al.* (2016)

A capacidade antioxidante e o perfil dos compostos bioativos podem sofrer influência de diversos fatores, tais como temperatura, pressão, frequência, tempo de sonicação e potência ultrassônica (Yahya, Attan e Wahab, 2018). Portanto, os principais parâmetros estudados quando se emprega o ultrassom como técnica são o tempo de sonicação, a temperatura de extração, relação entre a quantidade de líquido e sólidos na matriz, tipo e concentração do solvente, frequência e potência do ultrassom (Linares e Rojas, 2022; Mehta *et al.*, 2022). Normalmente, a frequência utilizada em banhos ultrassônicos varia entre 20 a 40 kHz. Frequências mais baixas, como 20 kHz, têm demonstrado eficácia na extração de compostos de origem vegetal, principalmente devido aos efeitos físicos associados à cavitação (Shirsath, Sonawane e Gogate, 2012).

O estudo de Mazza (2017) visou obter um extrato em pó rico em compostos fenólicos a partir de resíduos de bagaço de uva, usando extração assistida por ultrassom. Os testes abrangeram diferentes parâmetros, como potência ultrassônica (1000 a 3000 W/L), concentração de ácido cítrico (0 a 3%) e razão sólidos-líquidos (1:5 a 1:15). A condição mais eficaz identificada foi uma potência de 3000 W/L, 2,5% de ácido cítrico e razão S:L de 1:15, destacando o ultrassom como uma alternativa promissora para a extração de antioxidantes.

O uso do ultrassom oferece diversas vantagens, como a redução no tempo de extração, uma melhor penetração e baixo consumo do solvente, maior rendimento, boa reprodutibilidade e permite a exploração de solventes alternativos mais econômicos e seguros para o meio ambiente e a saúde. Portanto, a aplicação desta tecnologia se mostra uma opção de fácil

implementação para melhorar o processo de extração de compostos fenólicos (Barba *et al.*, 2016; Lavilla e Bendicho, 2017; Pingret, Tixier e Chemat, 2013).

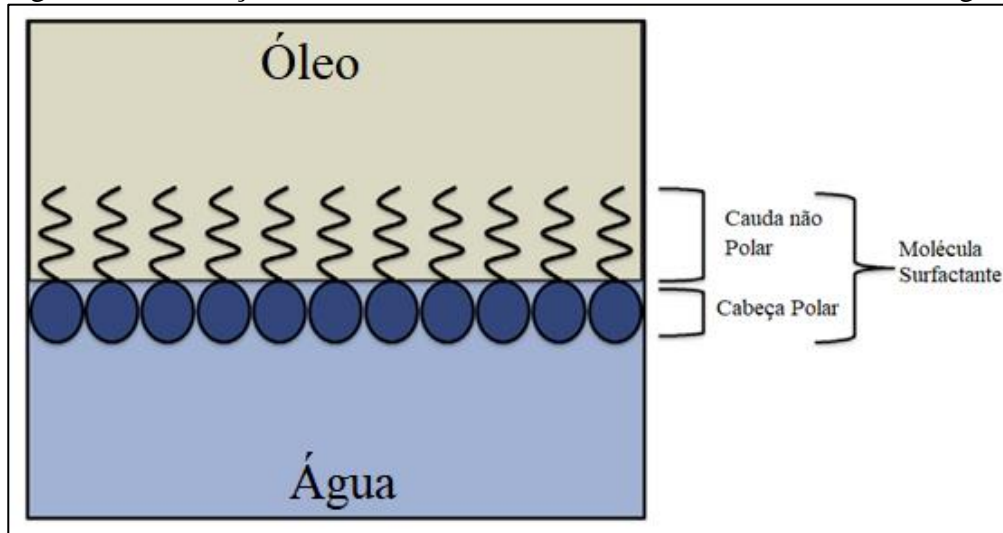
3.6 Emulsões

Emulsões são sistemas coloidais resultantes da combinação de dois líquidos que naturalmente não se misturam, nos quais pequenas gotículas de um líquido, conhecido como fase dispersa, são distribuídas na fase líquida predominante (fase contínua). Devido à ausência de atração molecular entre esses líquidos, uma tensão interfacial surge, criando uma separação entre as fases (Callender *et al.*, 2017; Goodarzi e Zendehboudi, 2019). No entanto, essa tensão pode ser reduzida com a adição de um agente emulsificante, que é conhecido por diversos nomes, como emulsionante, surfactante ou tensoativo. A função primordial desse composto é minimizar a tensão na interface entre os dois líquidos, resultando na formação de gotículas somente em uma das fases por um período determinado. Essa fase recebe diversas denominações, como fase interna, dispersa ou descontínua, e encontra-se envolta pela fase externa, denominada dispersante ou contínua (Kupikowska-Stobba, Domagała e Kasprzak, 2024; Mohamed e Shahira, 2019).

Os tensoativos são constituídos por moléculas anfifílicas, ou seja, apresentam regiões hidrofóbicas e hidrofílicas em uma única estrutura molecular (Figura 8). Essa característica permite que desempenhem um papel fundamental na redução da tensão interfacial entre as fases contínua e dispersa. Há uma ampla gama de emulsificantes disponíveis, sejam de origem sintética ou natural. A escolha do emulsificante adequado é de extrema importância, uma vez que influencia tanto a facilidade de formação da emulsão quanto as características do produto final (McClements e Jafari, 2018).

Entre os emulsificantes sintéticos aprovados para aplicações em alimentos, destacam-se compostos como ésteres de poligliceróis, ésteres de sorbitana, polissorbitatos, monoacilgliceróis (MAG) e diacilgliceróis (DAG). Estes incluem o monooleato de sorbitana etoxilado (*Tween* 80) e o monoestearato de sorbitana (*Span* 60). Devido à limitação do número de emulsificantes aprovados para uso alimentar, uma alternativa viável é a utilização de emulsificantes de origem natural. Estes podem ser emulsificantes obtidos a partir de fontes vegetais, como a lecitina de soja e isolados proteicos, bem como emulsificantes derivados de fontes animais, como as proteínas do leite (Lüdtke, 2021).

Figura 8 - Orientação de moléculas de surfactante em uma interface óleo-água.

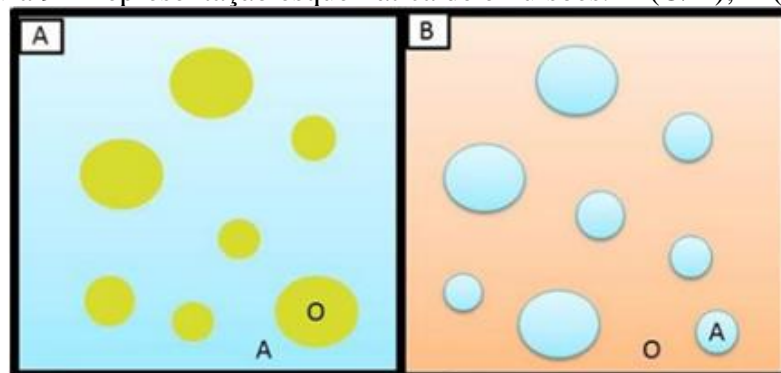


Legenda: Os grupos de cabeças polares do surfactante (regiões hidrofílicas) se orientam para a fase aquosa polar, enquanto os grupos de caudas não polares do surfactante (regiões hidrofóbicas) se orientam para a fase oleosa não polar. Este tipo de orientação reduz a tensão entre as duas interfaces promovendo a miscibilidade.

Fonte: Adaptado de Callender *et al.* (2017).

As emulsões podem ser classificadas em dois tipos principais: emulsões óleo em água (O/A), onde o óleo é a fase dispersa e a água é a fase contínua, encontradas em produtos como leite, iogurte, maionese e sorvete; e emulsões água em óleo (A/O), onde ocorre o oposto, com a água sendo a fase dispersa e o óleo constituindo a fase contínua, por exemplo, a margarina e a manteiga (Yamashita, Miyahara e Sakamoto, 2017). A Figura 9 apresenta um esquema dos dois tipos básicos de emulsões.

Figura 9 - Representação esquemática de emulsões. **A** (O/A); **B** (A/O).



Fonte: Adaptado de Bouyer *et al.* (2012)

No processo de emulsificação, ocorre um aumento na área interfacial. De acordo com a segunda lei da termodinâmica, todos os sistemas buscam retornar ao seu estado de energia mínima inicial. Portanto, caso não haja estabilização, as emulsões tendem a separar suas fases,

a fim de minimizar a área de contato interfacial e reduzir a energia livre do sistema. As instabilidades comuns em emulsões são descritas na Quadro 2.

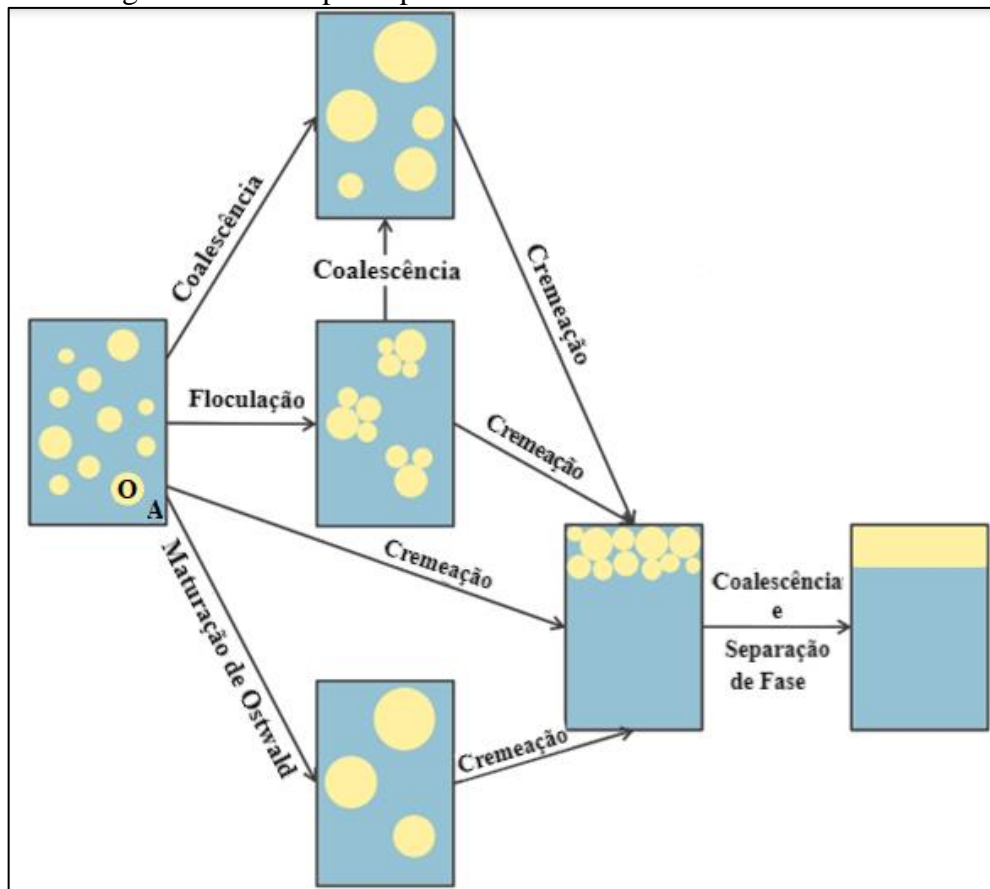
Quadro 2 – Instabilidades comuns em emulsões.

Instabilidade	Descrição	Referências
Floculação	Gotas dispersas se atraem devido a forças atrativas, formando flocos, sem serem destruídas. Pode anteceder a cremeação e a coalescência.	Blijdenstein <i>et al.</i> , 2004
Separação gravitacional	Processo reversível que inclui cremeação (em emulsões O/A, gotículas do líquido mais denso se movem para o topo) e sedimentação (em emulsões A/O, gotículas migram para o fundo).	Bouyer <i>et al.</i> , 2012; Hill, 1996
Maturação de <i>Ostwald</i>	Processo irreversível de difusão das gotas da fase dispersa para a fase contínua, sem entrar em contato umas com as outras. Isso faz com que as gotas aumentem de tamanho.	Damodaran, 2006
Coalescência	É um processo irreversível, que envolve o aumento das gotas dispersas quando as suas paredes são rompidas.	Fennema, 2017

Fonte: A autora, 2024.

A Figura 10 apresenta esquematicamente, os principais tipos de instabilidade em emulsões O/A.

Figura 10 - Principais tipos de instabilidades em emulsões O/A.



Legenda: O: Óleo; A: Água.

Fonte: Adaptado de Bouyer *et al.* (2012).

Emulsões A/O contendo extratos vegetais na fase aquosa podem ser aplicadas em diferentes indústrias, como alimentos, produtos farmacêuticos e cosméticos. Na indústria alimentícia, por exemplo, essas emulsões, contendo extratos vegetais, são utilizadas para melhorar a estabilidade de óleos (Liu *et al.*, 2018; Mohammadi *et al.*, 2016). Assim, essa abordagem facilita a compatibilidade entre fases aquosas e oleosas, superando as limitações de aplicação de extratos vegetais diretamente em sistemas lipídicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Reagentes

- Álcool etílico P.A. (Neon®, 99%);
- DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (Alfa Aesar®, 95%);
- Álcool metílico P.A.-A.C.S. (CRQ®);
- Ácido gálico (Êxodo Científica®, 99%);
- Reagente Folin-Ciocalteu (Êxodo Científica®, 99%);
- Carbonato de sódio (Dinâmica®, 99%);
- Ácido acético glacial P.A.-A.C.S. (Synth®);
- Clorofórmio P.A. (Alphatec®);
- Iodeto de potássio P.A.-A.C.S. (Neon®);
- Amido solúvel P.A.-A.C.S. (Dinâmica®);
- Tiosulfato de sódio P.A.-A.C.S. (Dinâmica®).

4.2 Óleos Vegetais

- Óleo de soja degomado, isento de antioxidantes, fornecido pela empresa Olfar S/A - Alimento e Energia, de Erechim-RS;
- Óleo de soja refinado, contendo antioxidantes TBHQ e ácido cítrico, da marca Vitaliv.

4.3 Obtenção e Preparo da Matéria-Prima

A matéria-prima, constituída por folhas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss), foi obtida diretamente no município de São José do Ouro, Rio Grande do Sul, Brasil (Latitude: 27° 45' 36" Sul, Longitude: 51° 34' 42" Oeste) e após obtenção, foram secas em estufa (LUCA-82/480, marca LUCADEMA) com circulação de ar à 60 °C durante 7 dias (Figura 11), trituradas em liquidificador doméstico (marca Cadence), classificadas em peneira com abertura de 1,40 mm (*mesh* 12, marca Bertel), embaladas em recipiente protegido da luz e congeladas até a utilização.

Figura 11 - A: Estufa utilizada para secagem da matéria-prima; B: Folhas de espinheira-santa submetidas à secagem.



Fonte: A Autora, 2024.

4.4 Ensaios de Extração

4.4.1 Planejamento de Experimentos

Para a condução dos experimentos de extração assistida por ultrassom foi realizado planejamento experimental por meio de um delineamento composto central rotacional (DCCR) com 4 variáveis independentes (2^4), totalizando 27 ensaios. As variáveis independentes a serem investigadas foram a potência do ultrassom, a temperatura de extração, a porcentagem de etanol (na solução extratora) e a razão sólido-líquido (RSL), que representa a relação entre a massa de folhas e o volume do solvente. A Tabela 3 apresenta os níveis propostos para cada variável e o Apêndice A apresenta os ensaios estudados nesse trabalho.

Tabela 3 - Variáveis e níveis a serem estudados no delineamento completo.

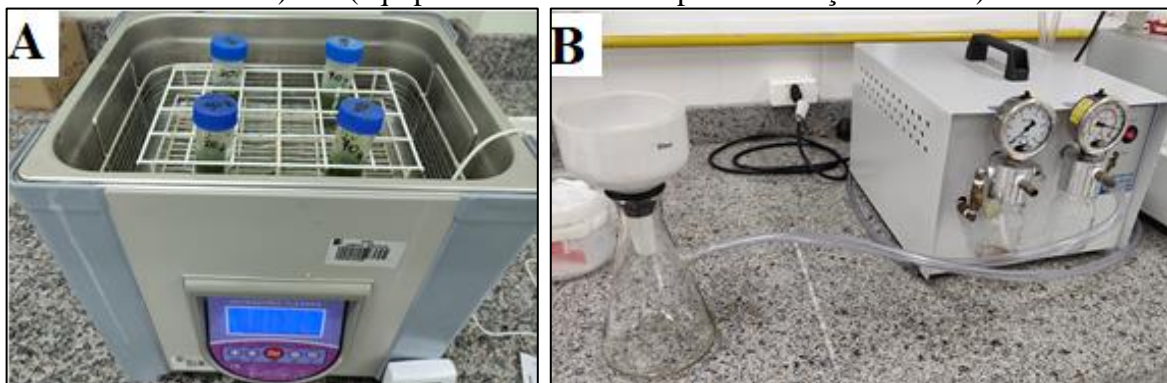
-	Níveis				
	-2	-1	0	1	2
Potência (%)	10	30	50	70	90
Temperatura (°C)	25	30	35	40	45
Etanol (%)	10	30	50	70	90
RSL (g/mL)	0,025	0,05	0,075	0,1	0,125

Fonte: A Autora, 2024.

4.4.2 Extração Assistida por Ultrassom

Primeiramente, um volume de 30 mL do solvente na concentração de etanol desejada foi adicionado à um tubo *Falcon* (protegido da evaporação) e após colocado em banho ultrassônico (SB-5200DTD). Na sequência, ajustou-se a temperatura e a potência de sonicação diretamente no equipamento (ambas definidas pelo planejamento de experimentos). Após alcançar o equilíbrio térmico, uma determinada massa de espinheira-santa foi adicionada ao tubo *Falcon* (respeitando a concentração a ser investigada) e imediatamente foi iniciada a sonicação, que permaneceu por um tempo de 1h (Gambin, 2020). Após o término do período de extração, as amostras contidas nos tubos de ensaio foram submetidas à filtração a vácuo utilizando um frasco *Kitassato* equipado com um funil de *Büchner*, conectado a uma bomba de vácuo (SL-60, SOLAB), empregando papel filtro de 90 mm de diâmetro e posteriormente, foram encaminhadas para análise. A Figura 12 demonstra como essa etapa foi conduzida.

Figura 12 - Extração assistida por ultrassom: A (banho ultrassom utilizado para obtenção do extrato) e B (equipamentos utilizados para a filtração à vácuo).



Fonte: A Autora, 2024.

4.4.3 Caracterização dos Extratos

4.4.3.1 Determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH•)

A atividade antioxidante foi avaliada pela capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras de sequestrar o radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•), assim fornecendo o percentual de inibição de oxidação. O método seguiu a metodologia proposta por Roesler *et al.*, (2007) e baseia-se na capacidade dos antioxidantes presentes na amostra se ligarem ao DPPH•, um radical orgânico estável, resultando em sua redução na presença de um antioxidante.

Inicialmente foi preparada uma solução de DPPH• em metanol (0,004% m/v), de forma a apresentar absorvância em 517 nm entre 0,8 e 1,2. Em seguida, as determinações foram conduzidas pela adição de 200 µL dos extratos em tubos de ensaio, juntamente com 1000 µL da solução de DPPH•. Para o controle negativo, 200 µL de metanol foram adicionados à mesma quantidade da solução de DPPH•. Os tubos foram então incubados por 30 minutos, protegidos da luz e mantidos à temperatura ambiente, seguido pela leitura das absorvâncias utilizando um espectrofotômetro (Nova 6100UV) a 517 nm. Todas as leituras foram realizadas em duplicata. A capacidade de sequestrar radicais livres, expressa como percentual de inibição de oxidação, foi calculada com base no decaimento da absorvância das amostras em relação ao controle, conforme a Equação 1.

$$\%Inibição = \left(\frac{(A_{DPPH} - A_{am})}{A_{DPPH}} \right) \times 100 \quad (1)$$

Onde:

A_{DPPH} = Absorvância da solução de DPPH (controle negativo);

A_{am} = Absorvância da amostra.

4.4.3.2 Quantificação dos Compostos Fenólicos Totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais no extrato selecionado para a emulsão, escolhido com base em sua atividade antioxidante, foi realizada utilizando o reagente *Folin-Ciocalteu*, seguindo a metodologia de Lazzarotto *et al.* (2020). As análises foram conduzidas em duplicata e na ausência de luz. As leituras de absorvância foram realizadas a 765 nm e os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por mililitro de extrato de folhas de espinheira-santa.

Basicamente, alíquotas de 20 µL do extrato foram transferidas para tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 1,58 mL de água destilada, 100 µL do reagente *Folin-Ciocalteu* e 300 µL de solução de carbonato de sódio. Paralelamente, um tubo contendo uma solução de 10% de etanol foi preparado como branco. Os tubos foram então acondicionados em local escuro por 2 horas. Posteriormente, a absorvância foi medida em um espectrofotômetro (UV-6300PC) a um comprimento de onda de 765 nm. A quantidade de polifenóis totais foi determinada como equivalentes de ácido gálico utilizando a curva de calibração deste composto.

4.4.4 Obtenção da Emulsão Contendo o Extrato com Capacidade Antioxidante

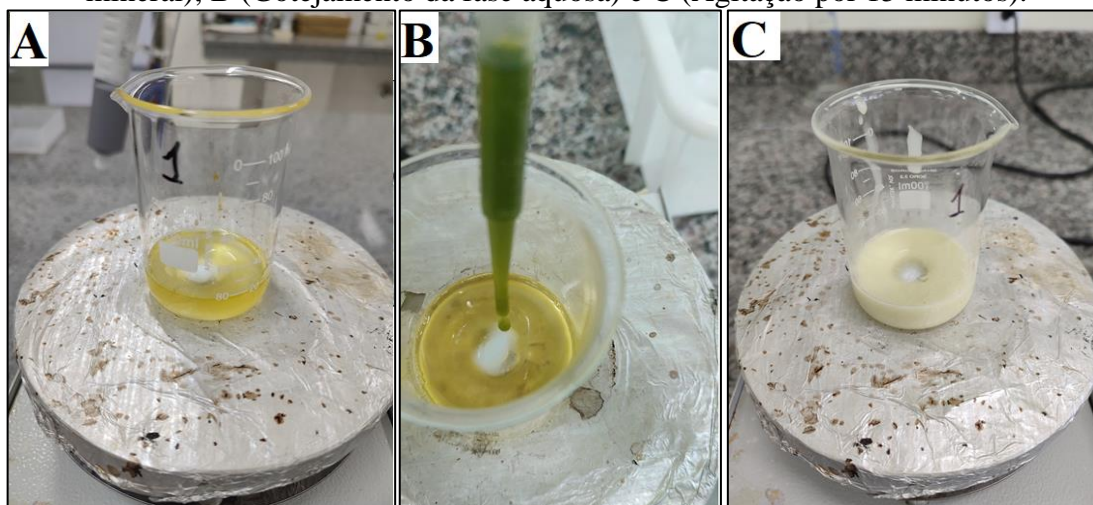
Foram avaliadas diferentes formulações de emulsão do tipo água em óleo (A/O) a partir de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR 2²), variando a quantidade de extrato (fase aquosa) e do tensoativo (lecitina de soja, marca FAB®), enquanto a quantidade de óleo mineral (fase oleosa) foi mantida constante em 16 mL. Os níveis propostos para cada variável estão descritos na Tabela 4, enquanto os ensaios realizados neste estudo são apresentados no Apêndice B. O tensoativo e a fase oleosa foram aquecidos a 40 °C, e a fase aquosa foi gotejada enquanto eram agitados em um agitador magnético com aquecimento (modelo SL-91 da marca SOLAB). Após o término do gotejamento, a mistura foi mantida em agitação por 15 minutos. As formulações preparadas foram então transferidas para tubos de ensaio e armazenadas à temperatura ambiente. A formulação que manteve estabilidade macroscópica (sem separação de fases por 7 dias) foi selecionada como a formulação ótima para aplicação no óleo de soja. A Figura 13 apresenta a etapa de preparo da emulsão (Poloni *et al.*, 2018).

Tabela 4 - Variáveis e níveis a serem estudados no Delineamento Composto Central Rotacional.

	Níveis				
	-1,41	-1	0	+1	+1,41
Lecitina de Soja (mg)	179,5	200	250	300	320,5
Volume de Extrato (mL)	0,6	1	2	3	3,4

Fonte: A Autora, 2024.

Figura 13 - Obtenção da emulsão: A(Aquecimento a 40°C da lecitina de soja e do óleo mineral); B (Gotejamento da fase aquosa) e C (Agitação por 15 minutos).



Fonte: A Autora, 2024.

4.4.5 Avaliação da Atividade Antioxidante da Emulsão em Óleo Vegetal

A emulsão enriquecida com compostos fenólicos foi empregada como antioxidante para avaliar a estabilidade de dois tipos de óleo de soja: o óleo de soja degomado, fornecido pela empresa Olfar S/A- Alimento e Energia, de Erechim, RS, isento de antioxidantes, e o óleo de soja refinado comercial, contendo antioxidantes TBHQ e ácido cítrico, da marca Vitaliv. As amostras foram acondicionadas em recipientes, estes contendo 50 mL do óleo de soja e 20% da emulsão (Poloni *et al.*, 2018). Para fins de comparação, foram preparadas amostras de controle contendo apenas os óleos.

4.4.5.1 Índice de Peróxidos

Para realização da análise de índice de peróxidos todos os recipientes com as amostras, preparados em duplicata, foram mantidos à temperatura ambiente e expostos à luz para acelerar a oxidação. Em intervalos de 3, 6, 10, 17 e 25 dias de armazenamento, amostras foram coletadas para a análise do índice de peróxidos, que serve como um indicador do grau de oxidação do óleo ou gordura. Este método determina todas as substâncias, em termos de miliequivalentes de peróxido por quilograma de amostra (meq.kg^{-1} de amostra), que oxidam o iodeto de potássio nas condições do teste. Estas substâncias são geralmente consideradas como peróxidos ou outros produtos similares resultantes da oxidação da gordura (Santos e Taham, 2016).

Basicamente, foram pesados 5 g da amostra e colocados em um *erlenmeyer* de 250 mL, ao qual foi adicionado um volume de 30 mL de uma mistura de ácido acético e clorofórmio

(3:2). A mistura foi agitada até que a amostra se dissolvesse completamente. Em seguida, foi adicionado 0,5 mL de uma solução saturada de iodeto de potássio, mantendo a agitação por um minuto. Após isso, foram adicionados 30 mL de água destilada e 1 mL de solução de amido a 1%. A titulação foi realizada com solução de tiosulfato de sódio ($\text{NA}_2\text{SO}_2\text{O}_3$) 0,1 N, com agitação constante, até que a coloração azul desaparecesse por completo. Uma prova em branco foi realizada nas mesmas condições, sem a presença da amostra. O cálculo do índice de peróxido foi realizado de acordo com a Equação 2 (IUPAC, 1987).

$$IP \left(\frac{m_{eq}}{1000g \text{ de amostra}} \right) = \frac{(A - B) \cdot N \cdot f \cdot 1000}{P} \quad (2)$$

onde:

IP = Índice de peróxidos (meq/1000g de amostra);

A = Volume da solução de $\text{NA}_2\text{SO}_2\text{O}_3$ gasta para a amostra (mL);

B = Volume da solução de $\text{NA}_2\text{SO}_2\text{O}_3$ gasta para o branco (mL);

N = Normalidade da solução de $\text{NA}_2\text{SO}_2\text{O}_3$ (meq/mL);

P = Peso da amostra (g);

f = Fator de correção da solução de tiosulfato de sódio 0,1N ou 0,01N.

4.4.5.2 Estabilidade à oxidação a 110°C

A estabilidade oxidativa do óleo de soja degomado e do óleo de soja refinado, com e sem a adição da emulsão antioxidante, foi avaliada utilizando o método descrito pela AOCS Cd 12b-92 (2009) com o equipamento Rancimat (modelo 873, marca Metrohm®). As condições experimentais incluíram uma temperatura constante de 110 °C e uma taxa de insuflação de ar de 10 L/h. No procedimento, foram pesados 4 g de cada amostra e inseridos no tubo do Rancimat. A oxidação foi induzida pela passagem de ar através da amostra, mantida a temperatura constante. Os produtos voláteis gerados durante a oxidação foram coletados em água deionizada, com a mudança na condutividade elétrica da água indicando a presença desses compostos voláteis. Os dados foram registrados por um *software*, gerando uma curva que representa o período de indução, o qual indica a estabilidade da amostra frente à oxidação acelerada.

Nosso método Rancimat estabelecido baseia-se na aceleração do processo de envelhecimento da amostra, aumentando sua temperatura e passando um fluxo contínuo de ar

através dela. O fluxo de ar transporta produtos de oxidação voláteis do recipiente da amostra para um recipiente contendo água destilada. O instrumento mede a condutividade da água. Um aumento forte e repentino na condutividade marca o tempo de indução.

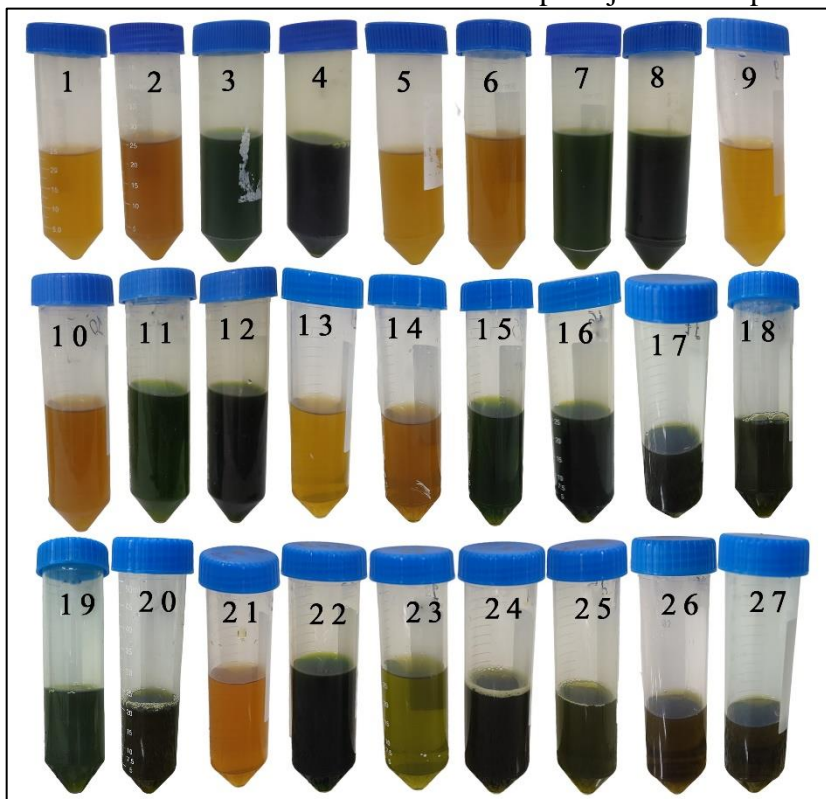
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção e Caracterização do Extrato

O planejamento experimental foi realizado para investigar o impacto das variáveis - potência de ultrassom, temperatura, porcentagem de etanol e razão sólido-líquido (RSL) - na capacidade antioxidante. Os extratos obtidos sob diferentes condições apresentaram coloração distinta, conforme apresentados na Figura 14. Observou-se que os ensaios com uma maior porcentagem de etanol exibiram uma coloração verde mais intensa. Portanto, conforme as expectativas, esperava-se que a concentração de etanol demonstrasse uma influência significativa no processo de extração.

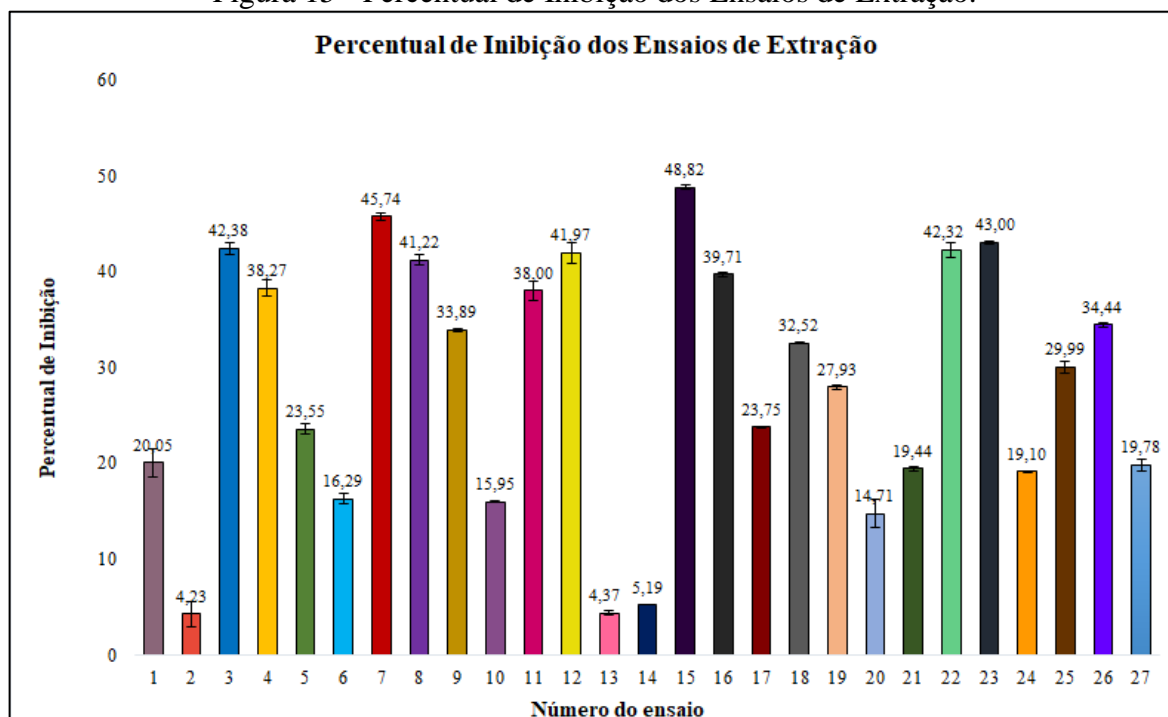
Para caracterização dos extratos, a influência das variáveis foi avaliada através da resposta obtida na análise da atividade antioxidante pelo método de redução do radical DPPH•. A solução de DPPH• em metanol preparada apresentou uma absorbância de 0,897 em 517 nm. Os resultados referentes ao percentual de inibição da oxidação, calculados conforme a Equação 1, estão apresentados na Figura 15. As informações detalhadas são apresentadas no Apêndice C.

Figura 14 - Extratos obtidos de acordo com o planejamento experimental.



Fonte: A Autora, 2024.

Figura 15 - Percentual de Inibição dos Ensaio de Extração.



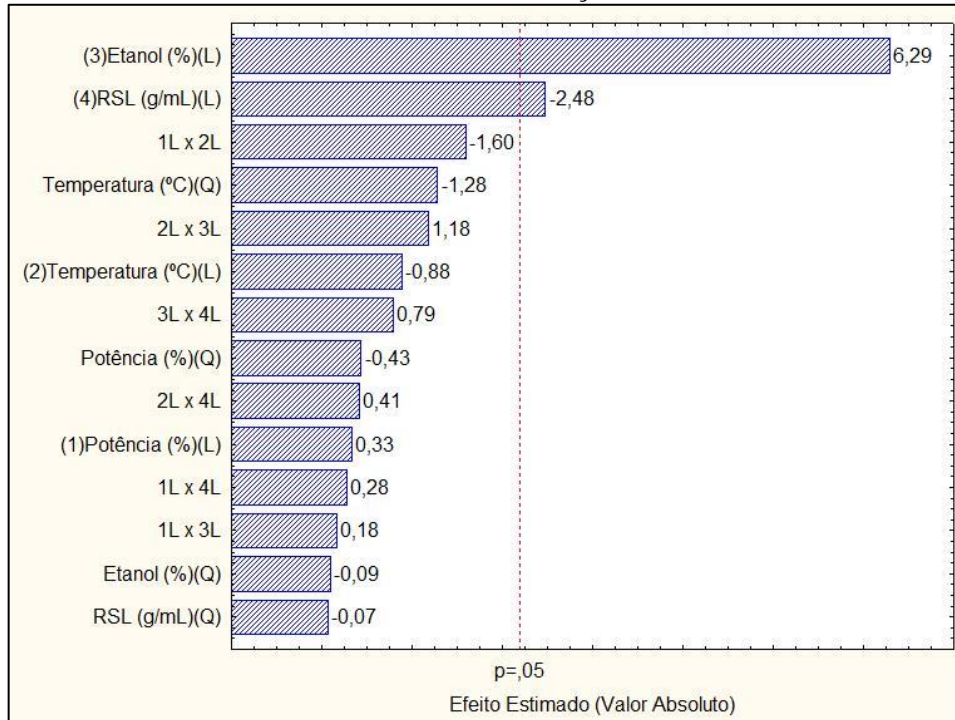
Fonte: A Autora, 2024.

Com base na análise estatística dos resultados, que incluiu a aplicação de ANOVA, observou-se um desvio padrão de $\pm 3,14$ nas duplicatas 25 e 26, possivelmente devido à distribuição não uniforme da energia ultrassônica dentro do banho de ultrassom (Korn *et al.*, 2020). Além disso, é possível que tenha ocorrido uma redução na capacidade antioxidante das amostras devido a fatores ambientais (Maqsoudlou *et al.*, 2020).

A Figura 16 exibe o diagrama de Pareto com um intervalo de confiança de 95%, onde se observou um efeito significativo positivo da porcentagem de etanol (6,29), indicando que um aumento nessa variável está associado a um aumento na capacidade antioxidante. Tal correlação era esperada, uma vez que amostras com uma coloração mais intensa, obtidas com maiores concentrações de etanol, sugerem uma extração mais eficiente dos compostos fenólicos. Esta relação é evidenciada ao comparar ensaios que aumentaram a porcentagem de etanol enquanto mantiveram as outras variáveis constantes, por exemplo, os ensaios 1 e 3 ou 2 e 4. De acordo com Barros *et al.* (2019), essa influência positiva ocorre porque porcentagens mais elevadas de etanol podem aumentar a capacidade de solubilização, facilitando a extração da matriz. Adicionalmente, a razão sólido-líquido (RSL) demonstrou uma influência negativa (-2,48), indicando que uma redução na RSL está associada a uma maior capacidade antioxidante. Esta tendência é corroborada ao comparar ensaios que diminuiram a RSL mantendo as outras variáveis constantes, por exemplo, os ensaios 1 e 2 ou 3 e 4. Segundo Bohn,

Mibielli e Teleken (2022) essa condição pode ser atribuída ao aumento da disponibilidade do solvente, favorecendo a solubilização e evitando a saturação do meio.

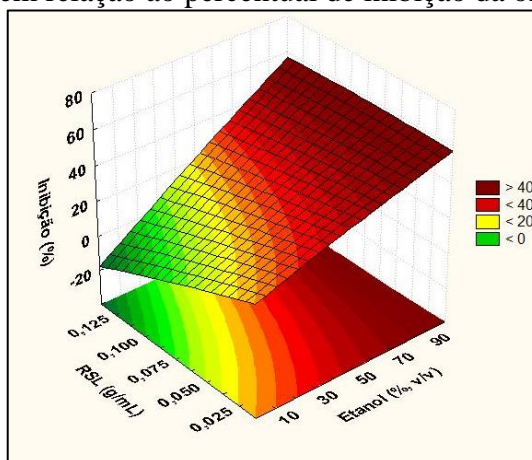
Figura 16 - Diagrama de Pareto com intervalo de 95% de confiança para as variáveis avaliadas na extração.



Fonte: A Autora, 2024.

Na Figura 17, apresenta-se a superfície de resposta para as variáveis razão sólido-líquido e porcentagem de etanol em relação ao percentual de inibição da oxidação. A análise dessas superfícies revela que o percentual de inibição aumenta à medida que a porcentagem de etanol na extração é aumentada. Por outro lado, em relação à razão sólido-líquido, observa-se o efeito inverso.

Figura 17 - Superfície de resposta para as variáveis razão sólido-líquido e porcentagem de etanol em relação ao percentual de inibição da oxidação.



Fonte: A Autora, 2024.

Portanto, a partir dessas informações, identificou-se que o ensaio 15 apresentou as melhores condições de extração, pois apresentou uma maior capacidade antioxidante (48,82%). Além disso, outros ensaios também se destacaram, como os ensaios 3, 7, 8, 12, 22 e 23, que apresentaram um percentual de inibição acima de 40%.

Valores aproximados foram encontrados no estudo realizado por Negri, Possamai e Nakashima (2009), onde foi mensurada a atividade antioxidante pelo método do DPPH• com o extrato etanólico de espinheira-santa, encontrando um percentual de inibição de $36,86\% \pm 0,79$. Também, na pesquisa conduzida por Velloso *et al.* (2008), o processo de secagem da matéria-prima foi realizado a 40°C , seguido pela trituração. Posteriormente, 200 g do pó resultante foi submetido à extração por ultrassom, utilizando 1000 mL de etanol 70% por 20 minutos (0,2 g/mL), resultando em uma porcentagem de inibição de $40,00\% \pm 2,8$.

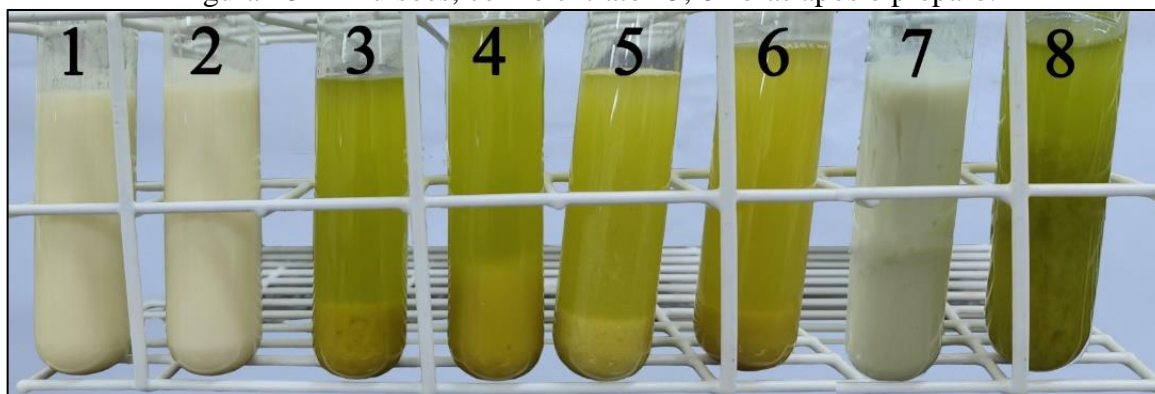
Ainda, Perleberg *et al.* (2017) obteve valores mais elevados ao avaliar a atividade antioxidante dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-riograndense. Utilizando 0,01 g de folhas secas em estufa com circulação de ar forçada a 38°C e moídas, adicionadas a 10 mL de etanol 70% (0,001g/mL), foram obtidos valores variando de 72,26% até 84,70%. Assim, os estudos mencionados oferecem evidências importantes de que diferentes parâmetros durante o processo de extração, assim como fatores ambientais, exercem uma influência significativa sobre a capacidade antioxidante da espinheira-santa.

5.2 Obtenção da Emulsão Contendo o Extrato com Capacidade Antioxidante

As emulsões do tipo água em óleo foram preparadas conforme o planejamento experimental (Tabela 4 e Apêndice B), com variação na quantidade de lecitina de soja e na concentração da fase aquosa. Essa abordagem permitiu investigar como diferentes quantidades de lecitina e concentrações do extrato afetaram as propriedades da emulsão.

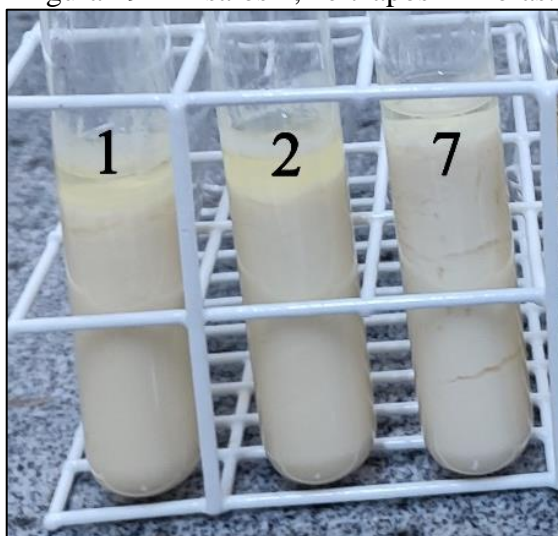
Inicialmente, o ensaio 15, que apresentou a maior capacidade antioxidante, foi selecionado para a preparação das emulsões. Para obter uma fase aquosa de 4 mL em cada formulação, diferentes proporções de extrato foram diluídas em água destilada. Notavelmente, formulações contendo 1 mL ou menos de extrato (ensaios 1, 2 e 7) mostraram-se mais estáveis, enquanto proporções mais elevadas de extrato resultaram em desestabilização mais rápida. Esta observação sugeriu que a presença de etanol no extrato poderia contribuir para a instabilidade das emulsões. A Figura 18 apresenta as emulsões 6 horas após o preparo. Já a Figura 19 demonstra que mesmo os ensaios 1, 2 e 7, que mantiveram a estabilidade por mais tempo, apresentaram separação após 24 horas.

Figura 18 - Emulsões, com o extrato 15, 6 horas após o preparo.



Fonte: A Autora, 2024.

Figura 19 - Ensaio 1,2 e 7 após 24 horas.



Fonte: A Autora, 2024.

Devido à instabilidade causada pelo etanol nas emulsões, optou-se pela sua redução pelo processo de evaporação. Para isso, o extrato do ensaio 15 foi submetido a um processo de evaporação em estufa com circulação de ar a 60°C por aproximadamente dois dias. Após essa etapa, foram preparadas novas formulações de emulsão. No entanto, as emulsões ainda apresentaram desestabilização após 24 horas (Figura 20).

Figura 20 - Ensaio com o extrato 15, após a evaporação do etanol.



Fonte: A Autora, 2024.

Diante da necessidade de obter uma emulsão com estabilidade adequada, foram conduzidos testes adicionais antes de prosseguir com o planejamento experimental. Além do ensaio 15 com uma proporção aumentada de lecitina de soja, os ensaios 23 e 9, do planejamento

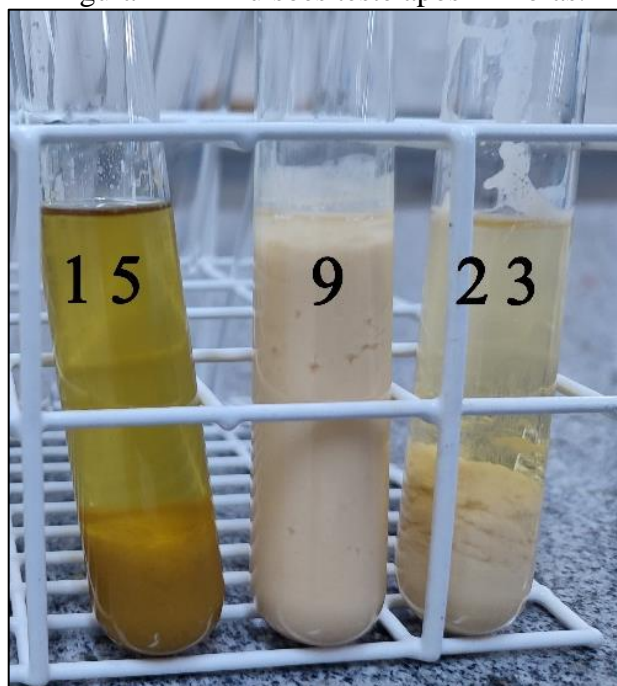
experimental de extração (Apêndice A), foram selecionados para testes, uma vez que demonstraram boa capacidade antioxidante com concentrações de etanol menores (50% e 30%, respectivamente). As formulações das emulsões desses testes estão detalhadas na Tabela 5. Após análise, verificou-se que apenas a formulação com etanol 30% manteve a estabilidade em 24 horas (Figura 21).

Tabela 5 – Formulações emulsões testes.

Ensaio de Extração	Fase Aquosa		Fase Oleosa (mL)	Lecitina de Soja (mg)
	Extrato (mL)	Aguá destilada (mL)		
15	3,4	0,6	16	1000
23	3,4	0,6	16	250
9	3,4	0,6	16	250

Fonte: A Autora, 2024.

Figura 21 - Emulsões teste após 24 horas.



Fonte: A Autora, 2024.

Como apenas a formulação com 30% de etanol manteve a estabilidade, o planejamento experimental da emulsão foi repetido, utilizando o extrato proveniente do ensaio 9. Após um período de observação de 7 dias, constatou-se que a formulação do ensaio 6, conforme descrito no planejamento experimental da emulsão (Apêndice B), apresentou uma estabilidade superior. Portanto, optou-se por selecionar essa formulação para ser aplicada ao óleo de soja degomado

e comercial. As emulsões resultantes estão representadas na Figura 22 e exibiram uma coloração bege claro que permaneceu inalterada ao longo do período observado.

A pesquisa realizada por Motoyama *et al.* (2022) evidenciou que maiores concentrações de etanol tendem a diminuir a estabilidade das emulsões. Este fenômeno se deve à natureza bifílica do etanol, ou seja, apresenta uma região polar e outra apolar, conferindo-lhe afinidade tanto com a fase aquosa quanto com a fase oleosa da emulsão. Assim, ao ser incorporado à emulsão, o etanol concorre diretamente com o tensoativo ou agente emulsificante pela interface entre as fases, reduzindo a quantidade de emulsificante absorvido, promovendo processos de desestabilização. Essa explicação fundamenta a dificuldade em alcançar a estabilidade da emulsão que empregou o extrato proveniente do ensaio 15, o qual continha 70% de etanol, uma vez que este solvente estava interferindo na absorção adequada da lecitina de soja. Por outro lado, o extrato contendo 30% de etanol demonstrou uma estabilidade superior, sugerindo que a presença reduzida de etanol permitiu uma absorção mais eficaz do emulsificante.

Figura 22 - Emulsões obtidas a partir das formulações do planejamento experimental.



Fonte: A Autora, 2024.

A emulsão mais estável foi aquela que continha a maior quantidade de lecitina de soja, conforme estabelecido no planejamento (320,5 mg). Segundo Jusoh e Othman (2017) em concentrações reduzidas de tensoativo ou surfactante, a emulsão se torna instável devido à alta

tensão interfacial entre as fases oleosa e aquosa. Aumentar a concentração de surfactante melhora a estabilidade da emulsão; no entanto, em concentrações muito elevadas, pode ocorrer uma desestabilização devido à rápida coalescência das gotículas. Além disso, concentrações muito altas de surfactante aumentam a viscosidade da emulsão.

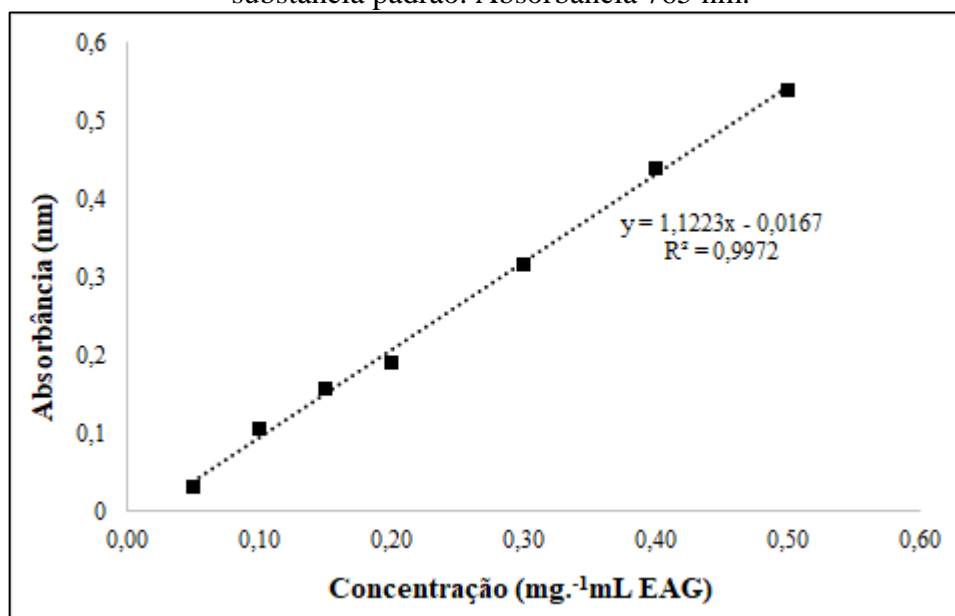
Ainda, o tipo de instabilidade identificada nas emulsões deste estudo foi a sedimentação, um fenômeno característico de emulsões A/O (água em óleo). Nesse processo, ocorre a deposição de uma das fases, geralmente a mais densa, no fundo do recipiente, resultando na formação de uma camada densa na parte inferior. Visualmente, a sedimentação se manifesta como uma separação de fases, com uma camada clara no topo e uma camada mais densa na parte inferior (Bouyer *et al.*, 2012).

Machado (2019) explorou uma abordagem para aprimorar a estabilidade da emulsão, investigando o efeito do pH variando de níveis ácidos a neutros, por meio da adição de soluções de ácido cítrico. Seus resultados revelaram que a acidificação contribuiu positivamente para a estabilidade. Embora as emulsões deste estudo não tenham sido acidificadas, as descobertas de Machado (2019) ressaltam a possibilidade dessa estratégia para controlar e melhorar a estabilidade de emulsões em pesquisas futuras.

5.2.1.1 Quantificação dos Compostos Fenólicos Totais

A curva padrão de ácido gálico, utilizada para determinar a quantidade de compostos fenólicos no extrato de espinheira-santa proveniente do ensaio 9 (conforme descrito no Apêndice A), está representada na Figura 23. A equação da curva obtida foi $y = 1,1223x - 0,0167$, em que y representa a absorvância (nm) e x indica a concentração da amostra (mg.mL^{-1} EAG). O coeficiente de determinação (R^2) alcançado foi de 0,9972. De acordo com Hendges, Follador e Andres (2020), valores acima de 0,99 sugerem um ajuste ideal entre os dados experimentais, indicando uma correlação significativa entre as variáveis. As informações detalhadas das leituras de absorvância estão disponíveis no Apêndice D.

Figura 23 - Curva de calibração da quantificação de fenóis totais com o ácido gálico como substância padrão. Absorbância 765 nm.



Fonte: A Autora, 2024.

Para assegurar que os resultados estivessem dentro do intervalo da curva padrão, o extrato precisou ser diluído em uma proporção de 1:50. Os valores da absorbância e da concentração do extrato diluído estão no Apêndice E, enquanto os valores calculados ajustados para o extrato são detalhados na Tabela 6.

Tabela 6 – Concentração de compostos fenólicos (EAG) no extrato de espinheira-santa.

Amostra	Concentração em mg.mL ⁻¹ EAG	Concentração em mg EAG.g ⁻¹ de espinheira-santa
1	6,2	124,0
2	5,8	116,0
Média	6,0 ± 0,268	120,0 ± 5,657

Fonte: A Autora, 2024.

O conteúdo de polifenóis pode variar devido a uma série de fatores, como a região geográfica de cultivo, exposição solar, métodos de cultivo e fertilização, assim como os processos de secagem e extração (Haida *et al.*, 2012).

Bittar *et al.* (2024) encontraram valores próximos ao avaliar o potencial antioxidante do extrato etanólico de *Maytenus ilicifolia*, relatando $187,33 \pm 11,50$ mg EAG.g⁻¹ de amostra. Os valores de compostos fenólicos descritos pelos autores são maiores do que os encontrados neste estudo, possivelmente devido ao método de extração utilizado e à região geográfica de cultivo. Enquanto Perleberg *et al.* (2017) identificaram um teor de 194,94 mg equivalente de ácido

fênico.g⁻¹ de amostra. O resultado elevado pode estar associado ao método de secagem das folhas, realizado em estufa com circulação de ar a 38°C, uma temperatura mais baixa que pode resultar em menor degradação dos compostos fenólicos.

Em outro estudo, Haida *et al.* (2012) relataram um teor de 2,8313 mg de equivalente de rutina.g⁻¹ de amostra, enquanto Chimin *et al.* (2008) encontraram valores variando entre 1,34 mg de equivalente de pirocatecol (EP).g⁻¹ de amostra e 4,90 mg EP.g⁻¹ de amostra. Neste último estudo, como as amostras eram comerciais, os autores sugeriram que os resultados poderiam ser atribuídos à degradação dos compostos ativos, influenciada por diversos fatores, incluindo variações nos métodos de secagem e condições inadequadas durante o processamento e armazenamento da planta.

Os resultados obtidos indicam que o método de extração da espinheira-santa avaliada neste estudo produziu um extrato com uma quantidade significativa de compostos fenólicos. Conforme explicado por Foti e Amorati (2016), os compostos fenólicos atuam como antioxidantes, sugerindo que os polifenóis identificados estão associados à atividade antioxidante observada na *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. Esses achados confirmam a eficácia do método de extração utilizado, destacando o potencial do extrato de espinheira-santa como um antioxidante natural.

5.2.1.2 Avaliação da Atividade Antioxidante da Emulsão em Óleo Vegetal

A Figura 24 apresenta o óleo de soja degomado e o óleo de soja comercial (marca Vitaliv), ambos contendo 20% de adição da emulsão antioxidante, além dos respectivos controles sem nenhuma adição. Em termos de compostos fenólicos, essa quantidade de emulsão adicionada aos óleos representa uma concentração de 0,1 mg.mL⁻¹ EAG ou 1,2 mg EAG.g⁻¹ de espinheira-santa. Todas as amostras foram preparadas em duplicata. Observou-se que, no óleo degomado, não houve alteração perceptível na coloração, devido à sua tonalidade amarela mais intensa. Em contrapartida, o óleo de soja comercial, caracterizado por uma coloração amarela menos intensa e mais translúcida, apresentou uma coloração mais clara e opaca após a adição, resultado da coloração da própria emulsão. As amostras foram mantidas em recipientes abertos à temperatura ambiente e expostas à luz para acelerar o processo de oxidação (Figura 25).

Figura 24 - Emulsão adicionada em óleo de soja degomado e óleo de soja comercial e seus respectivos controles.



Legenda: CD1 e CD2 são as amostras controle de óleo de soja degomado; D120% e D220% são as amostras de óleo de soja degomado com 20% da emulsão antioxidante; CO120% e CO220% são as amostras de óleo de soja comercial com 20% da emulsão antioxidante; CO1 e CO2 são as amostras controle de óleo de soja comercial.
Fonte: A Autora, 2024.

Figura 25 - Amostras armazenadas em condições para acelerar a oxidação.



Fonte: A Autora, 2024.

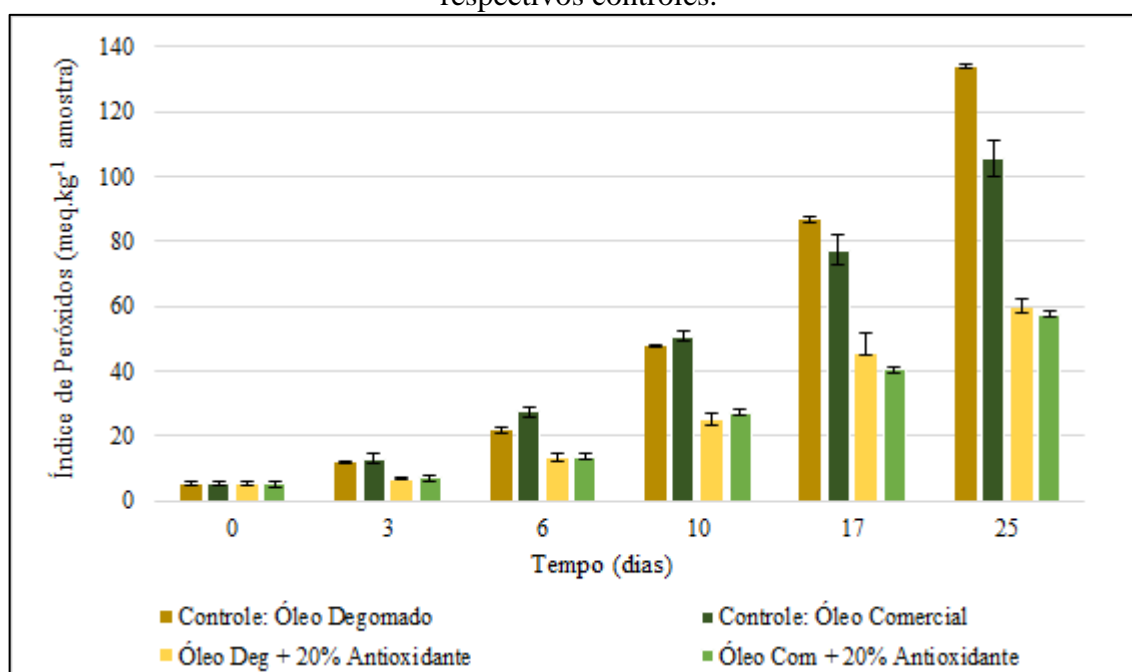
A Tabela 7 apresenta os valores encontrados para o Índice de Peróxidos (IP), enquanto a Figura 26 ilustra graficamente seu comportamento ao longo do período de armazenamento. Verifica-se que a formação de peróxidos aumentou em todas as amostras com o passar do tempo. Contudo, tanto o óleo de soja degomado quanto o óleo de soja comercial que receberam a adição do antioxidante exibiram valores menores de IP, indicando que o extrato contribuiu para a proteção dos óleos contra a oxidação. Ao final do período de armazenamento de 25 dias, os óleos sem a adição do extrato de espinheira-santa apresentaram valores de peróxidos duas vezes maiores do que aqueles enriquecidos com o extrato.

Tabela 7 – Índice de peróxidos (meq.kg^{-1} de amostra) para diferentes tempos de armazenamento dos óleos.

Tempo (dias)	Índice Peróxidos (meq.kg^{-1} de amostra)			
	Controle: Óleo Degomado	Controle: Óleo Refinado	Óleo Deg + 20% Antioxidante	Óleo Refinado + 20% Antioxidante
0	5,27 \pm 0,69	5,26 \pm 0,72	5,27 \pm 0,69	5,26 \pm 0,72
3	11,94 \pm 0,07	13,15 \pm 1,69	6,54 \pm 0,92	7,04 \pm 0,07
6	22,05 \pm 0,96	27,52 \pm 1,69	12,99 \pm 1,45	13,74 \pm 0,84
10	47,89 \pm 0,07	50,79 \pm 1,67	25,08 \pm 1,72	27,37 \pm 1,79
17	86,67 \pm 0,75	77,27 \pm 4,75	45,60 \pm 6,00	40,52 \pm 0,32
25	133,82 \pm 0,58	105,72 \pm 5,58	59,26 \pm 2,90	57,58 \pm 0,98

Fonte: A Autora, 2024.

Figura 26 - Oxidação do óleo de soja degomado e óleo de soja comercial com extrato e seus respectivos controles.



Fonte: A Autora, 2024.

O óleo de soja degomado não é adequado para o consumo humano, pois ainda não passou por todas as etapas de refinação necessárias. A degomagem, que remove proteínas e gomas (fosfatídeos e substâncias coloidais), é apenas a primeira etapa no processo de refinação. (Embrapa, 2015). Apesar disso, o óleo degomado serviu como um parâmetro útil para avaliar a capacidade antioxidante do extrato.

No estudo conduzido por Suckeveris *et al.* (2020), foi utilizado óleo de soja degomado na dieta de frangos de corte. Segundo os autores, o índice de peróxidos (IP) para o óleo de soja degomado deve ser de até 10 meq.kg^{-1} . A legislação brasileira, por sua vez, estabelece que os

limites máximos permitidos para o IP em óleos e gorduras vegetais refinados sejam de 10 meq.kg⁻¹ (Brasil, 2021).

Considerando esses parâmetros, observou-se que os óleos sem a adição do extrato antioxidante excederam esse limite a partir do terceiro dia de armazenamento, em condições que favorecem a oxidação. Por outro lado, os óleos enriquecidos com o extrato demonstraram uma maior resistência à oxidação, mantendo-se ligeiramente acima do limite apenas no sexto dia. Esse resultado sugere que a aplicação do extrato prolonga a estabilidade oxidativa do óleo de soja e, conseqüentemente, sua adequação aos padrões regulatórios estabelecidos.

Ainda, as amostras foram submetidas ao teste de estabilidade oxidativa em Rancimat, onde o fluxo intenso de oxigênio e a temperatura elevada de 110°C aceleraram a oxidação do óleo, levando à formação de compostos (ácidos voláteis) ao final do período de indução. Este período, expresso em horas, indica a estabilidade da amostra frente à oxidação acelerada, sendo que quanto maior o período de indução, maior é a estabilidade (Velasco *et al.*, 2023). Os resultados do período de indução, apresentados na Tabela 8, revelam uma maior estabilidade nos óleos que receberam adição do extrato antioxidante em comparação aos seus controles, evidenciado pelo prolongamento do período de indução.

Tabela 8 – Período de indução dos óleos controle e adicionado do antioxidante.

Amostra	Período de Indução(h)
Controle: Óleo Degomado	7,26
Controle: Óleo Comercial	7,78
Óleo Degomado + 20% Antioxidante	10,68
Óleo Comercial + 20% Antioxidante	12,62

Fonte: A Autora, 2024.

Em análise realizada por Ravelli (2011) sobre a estabilidade oxidativa a 110°C em óleo de soja refinado isento de antioxidantes sintéticos, foi observado um período de indução de 7,18 horas. De maneira semelhante, a Embrapa (2019) avaliou a estabilidade oxidativa em óleo de soja comercial e encontrou um valor de 7,97 horas. Além disso, conforme descrito por Miranda (2018), o período de indução para o óleo de soja degomado alcançou 6,92 horas, e para Rauen-Miguel, Esteves e Barrera-Arellano (1992) foi de 6,90 horas. Esses resultados se aproximam dos obtidos para os controles, corroborando os valores encontrados e destacando a eficácia da inclusão do extrato de espinheira-santa na proteção contra a oxidação dos óleos, evidenciando sua habilidade em prevenir a degradação oxidativa.

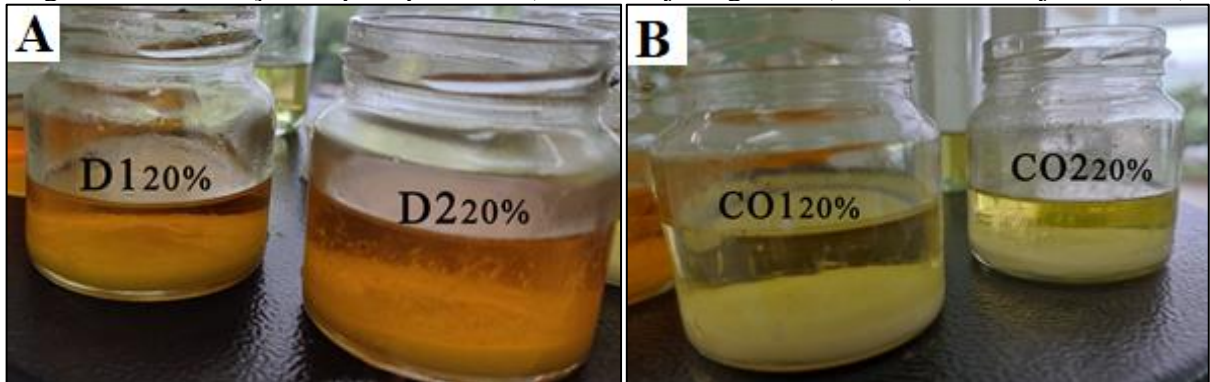
Durante o processo de refinamento, o óleo passa por etapas nas quais são removidos ácidos graxos, fosfolipídeos, metais, peróxidos e clorofila, que atuam como pró-oxidantes, acelerando a oxidação. Portanto, o óleo refinado tende a apresentar valores mais altos de estabilidade oxidativa em comparação ao óleo degomado (Miranda, 2018).

Adicionalmente, é relevante comentar que o óleo de soja comercial utilizado no estudo já continha o antioxidante sintético TBHQ (terc-butil-hidroquinona), mas a adição do extrato natural melhorou ainda mais sua estabilidade. De acordo com Ibsch *et al.* (2020), o uso de TBHQ está associado à redução do nível de hemoglobina e à hiperplasia de células basais. Portanto, o extrato de espinheira-santa pode servir tanto como uma alternativa aos antioxidantes sintéticos quanto ser usado em combinação com eles, possibilitando a redução das quantidades de antioxidantes sintéticos empregadas na indústria alimentícia.

Durante o período de armazenamento, além da mudança na coloração do óleo de soja comercial, foi observada a formação de um precipitado tanto no óleo de soja comercial quanto no óleo de soja degomado, conforme apresentado na Figura 27. Este precipitado se formava quando o óleo estava em repouso e desaparecia quando agitado, indicando uma certa instabilidade física. Esse comportamento pode ser atribuído à incompatibilidade entre alguns componentes da emulsão e o óleo, ou à presença de partículas insolúveis que se sedimentavam ao longo do tempo (Gentili Nunes *et al.*, 2022). Embora a emulsão antioxidante tenha demonstrado eficácia na proteção contra a oxidação, sua incorporação completa e uniforme no óleo não foi alcançada. A necessidade de agitação para dispersar o precipitado sugere que, para aplicações práticas, seria necessário considerar métodos de estabilização ou reformulação da emulsão para evitar a sedimentação e garantir a homogeneidade do produto final. Estudos futuros podem explorar maneiras de melhorar a miscibilidade e a estabilidade física das emulsões antioxidantes em óleos vegetais, assegurando um produto final de alta qualidade em termos de estabilidade oxidativa e aspecto visual.

Embora tenham sido observados desafios em relação à estabilidade física da emulsão antioxidante ao ser incorporada nos óleos de soja, os resultados destacaram a capacidade antioxidante da espinheira-santa e sua eficácia na proteção tanto do óleo de soja degomado quanto do comercial. Portanto, apesar dos desafios técnicos identificados, os achados deste estudo estabelecem uma base sólida para investigações posteriores e para o aprimoramento de formulações antioxidantes mais eficazes e estáveis.

Figura 27 - Formação de precipitado: A(óleo de soja degomado) e B (óleo de soja refinado).



Legenda: D120% e D220% são as amostras de óleo de soja degomado com 20% da emulsão antioxidante; CO120% e CO220% são as amostras de óleo de soja comercial com 20% da emulsão antioxidante.

Fonte: A Autora, 2024.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, foi evidenciada a notável capacidade antioxidante do extrato de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss). O método de extração assistida por ultrassom se mostrou eficiente na obtenção desse extrato, destacando-se o impacto positivo significativo do percentual de etanol e negativo da razão sólido-líquido. Além disso, a quantificação dos compostos fenólicos totais revelou uma alta concentração dessas substâncias, reconhecidas por suas propriedades antioxidantes em diversas fontes vegetais.

Quanto à aplicação do extrato tanto no óleo de soja degomado quanto no comercial, observou-se que proporcionou proteção contra a oxidação, conforme evidenciado pelos resultados do índice de peróxidos e pela estabilidade à oxidação a 110°C. No entanto, foram identificados desafios quanto à estabilidade da emulsão antioxidante ao ser incorporada ao óleo de soja, sugerindo a necessidade de futuras pesquisas para explorar métodos que melhorem a miscibilidade e a estabilidade física dessa emulsão. Uma alternativa viável seria a sua acidificação, conforme citado neste estudo, que pode contribuir para sua estabilidade.

De maneira geral, o extrato de espinheira-santa mostra-se promissor para aplicações em alimentos com alto teor lipídico, oferecendo uma alternativa natural para conservação dos alimentos, podendo substituir total ou parcialmente antioxidantes sintéticos.

REFERÊNCIAS

- ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; UKAEGBU, C. I. Soxhlet extraction of phenolic compounds from Vernonia cinerea leaves and its antioxidant activity. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 11, p. 12–17, dez. 2018.
- ALBUQUERQUE, T. G.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; COSTA, H. S. 4-Hydroxy-2-Alkenals: A Potential Toxicological Concern of Vegetable Oils? *Em: Reference Module in Food Science*. [s.l.] Elsevier, 2018.
- ALTEMIMI, A. *et al.* Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. **Plants**, v. 6, n. 4, p. 42, 22 set. 2017.
- AMARAL, A. B.; SILVA, M. V. DA; LANNES, S. C. DA S. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors – a review. **Food Science and Technology**, v. 38, n. suppl 1, p. 1–15, dez. 2018.
- AOCS CD 12B-92, A. O. C. S. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society**. 6. ed. Washington.: [s.n.].
- ARAÚJO, M. R. DE *et al.* Qualidade de hambúrguer misto com alecrim como substituto de antioxidante sintético: caracterização físico-química. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e27011931708, 9 jul. 2022.
- BAAKILI, A. EL; FADIL, M.; ES-SAFI, N. E. Ultrasonic-assisted extraction for phenolic compounds and antioxidant activity of Moroccan Retama sphaerocarpa L. leaves: Simultaneous optimization by response surface methodology and characterization by HPLC/ESI-MS analysis. **Heliyon**, v. 9, n. 6, p. e17168, jun. 2023.
- BACELLAR, I. O. L.; BAPTISTA, M. S. Mechanisms of Photosensitized Lipid Oxidation and Membrane Permeabilization. **ACS Omega**, v. 4, n. 26, p. 21636–21646, 24 dez. 2019.
- BAKER, B. P.; GRANT, J. A.; MALAKAR-KUENEN, R. Soybean Oil Profile. **New York State IPM Program**, 2018.
- BAO, J.; CHEN, L.; LIU, T. Dandelion polysaccharide suppresses lipid oxidation in Antarctic krill (*Euphausia superba*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p. 1164–1167, jul. 2019.
- BARBA, F. J. *et al.* Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 49, p. 96–109, mar. 2016.
- BARROS, H. D. F. Q. *et al.* Influence of different types of acids and pH in the recovery of bioactive compounds in Jabuticaba peel (*Plinia cauliflora*). **Food Research International**, v. 124, p. 16–26, out. 2019.
- BAYRAM, I.; DECKER, E. A. Underlying mechanisms of synergistic antioxidant interactions during lipid oxidation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 133, p. 219–230, mar. 2023.
- BENEDETTI, E. L. *et al.* Crescimento e sintomas em mudas de espinheira-santa com omissão de nitrogênio, fósforo e potássio. **Floresta**, v. 39, n. 2, 16 jun. 2009.

BITTAR, V. P. *et al.* Bioactive compounds from the leaves of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek: Inhibition of LDL oxidation, glycation, lipid peroxidation, target enzymes, and microbial growth. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 319, p. 117315, jan. 2024.

BLIJDENSTEIN, T. B. J. *et al.* Scaling Behavior of Delayed Demixing, Rheology, and Microstructure of Emulsions Flocculated by Depletion and Bridging. **Langmuir**, v. 20, n. 26, p. 11321–11328, 1 dez. 2004.

BOHN, L. R.; MIBIELLI, G. M.; TELEKEN, J. G. Otimização da extração assistida por ultrassom de compostos fenólicos do resíduo da produção de vinho. *Em: Open Science Research VIII*. [s.l.] Editora Científica Digital, 2022. p. 1082–1095.

BOLOGNESE, M. A. *et al.* Fatty acid composition and lipid nutritional quality of adult and pediatric enteral diets. **Observatório de la economía latinoamericana**, v. 22, n. 1, p. 1568–1587, 18 jan. 2024.

BOTTOLI, A. H. DA S. V. **Avaliação da capacidade antioxidante de extratos naturais no controle da oxidação de linguças frescas**. Toledo: Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dissertação, 2022.

BOUYER, E. *et al.* Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 436, n. 1–2, p. 359–378, out. 2012.

BRASIL. Portaria n. 795, de 15 de dezembro de 1993. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Norma de identidade, qualidade, embalagem, marcação e apresentação do óleo de soja**. Brasília, 15 dez. 1993.

BRASIL Ministério da Saúde. Agência Nacional de vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada RDC n° 481, de 15 de março de 2021. **Dispoe sobre os requisitos sanitários para óleos e gorduras vegetais**. Brasília: ANVISA; 2021.

BRASIL Ministério da Saúde. Agência Nacional de vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada RDC n° 740, de 9 de agosto de 2022. **Autoriza o uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia em diversas categorias de alimentos**. Brasília: ANVISA; 2022.

BRASIL. Instrução Normativa n. 211 de 1 de março de 2023. **Estabelece as funções tecnológicas, os limites máximos e as condições de uso para os aditivos alimentares e os coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso em alimentos**. Brasília, 1 mar. 2023. Seção 1, p.110.

CAETANO, M. DE O. N. **Ação antioxidante de extratos de louro (*Laurus nobilis*) em óleo de girassol sob estocagem acelerada em estufa**. São José do Rio Preto: Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho. Dissertação, 2022.

CALLENDER, S. P. *et al.* Microemulsion utility in pharmaceuticals: Implications for multi-drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 526, n. 1–2, p. 425–442, jun. 2017.

CARVALHO, C. R. S. **Potencial antioxidante e teor de compostos fenólicos dos chás de hortelã (*Mentha spicata*), camomila (*Matricaria chamomilla*) e capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*)**. Patos de Minas: Universidade Federal de Uberlândia. Trabalho de Conclusão de Curso, 2 jul. 2019.

CASTRO, H. F. DE *et al.* Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 146–156, 2004.

CHAIJAN M.; PANPIPAT W. Mechanism of oxidation in foods of animal origin. . *Em: Natural Antioxidants. Applications in Foods of Animal Origin.* Apple Academic Press, Inc.; Boca Raton, FL, USA: 1. ed. EUA: Apple Academic Press, 2017. p. 1–38.

CHAVES NETO, J. R. *et al.* Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em frutos de cajá-manga. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 36, n. 1, 9 maio 2019.

CHEW, S. C.; NYAM, K. L. Refining of edible oils. *Em: Lipids and Edible Oils.* [s.l.] Elsevier, 2020. p. 213–241.

CHIAPETTI, T. P. **Atividade antioxidante e antifúngica de extratos foliares de Maytenus spp. sobre *Cylindrocladium clavatum*.** MARECHAL CÂNDIDO RONDON: Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Dissertação, 28 fev. 2018.

CHIMIN, A. *et al.* Avaliação da Qualidade de Amostras Comerciais de Maytenus ilicifolia (espinheira-santa) Comercializadas no Estado do Paraná . **Latin America Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 2, p. 591–597, 2008.

CHOW, F. *et al.* Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas. **Instituto de Biociências**, set. 2017.

CHUN, S.-S. *et al.* Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 809–816, fev. 2005.

CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. **Food Research International**, v. 105, p. 76–93, mar. 2018.

DAMODARAN, S. Protein Stabilization of Emulsions and Foams. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 3, p. R54–R66, 31 maio 2006.

DIJKSTRA, A. J. Vegetable Oils: Composition and Analysis. *Em: Encyclopedia of Food and Health.* [s.l.] Elsevier, 2016. p. 357–364.

DO, T. H.; TRUONG, H. B.; NGUYEN, H. C. Optimization of Extraction of Phenolic Compounds from *Ocimum Basilicum* Leaves and Evaluation of Their Antioxidant Activity. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 54, n. 2, p. 162–169, 30 maio 2020.

DOMÍNGUEZ, R. *et al.* A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. **Antioxidants**, v. 8, n. 10, p. 429, 25 set. 2019.

EMBRAPA. Tecnologia para produção de óleo de soja: descrição das etapas, equipamentos, produtos e subprodutos. **Embrapa Soja**, n. 2, jun. 2015.

EMBRAPA. Estabilidade oxidativa de óleos de sementes de cucurbitáceas. **Embrapa Hortaliças**, n. 1, ago. 2019.

FARINAZZI MACHADO, F. M. V. *et al.* Compostos fenólicos e atividade antioxidante in vitro dos frutos e folhas da garcinia cochinchinensis choisy. **Energia na agricultura**, v. 32, n. 4, p. 393, 30 dez. 2017.

FDA. **CFR—Code of Federal Regulations**. Disponível em: <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=50.25>>. Acesso em: 27 maio. 2024.

FELTER, S. P.; ZHANG, X.; THOMPSON, C. Butylated hydroxyanisole: Carcinogenic food additive to be avoided or harmless antioxidant important to protect food supply? **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 121, p. 104887, abr. 2021.

FENNEMA, O. R. **Fennema's Food Chemistry**. 5. ed. Florida: CRC Press, 2017.

FILHO, J.; MODESTO, K. R. Alcaçuz e Espinheira-santa no Tratamento de Gastrite. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**, v. 2, p. 268–273, 2019.

FLIEGER, J. *et al.* Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. **Materials**, v. 14, n. 15, p. 4135, 25 jul. 2021.

FOTI, M.; AMORATI, R. ROS and Phenolic Compounds. *Em*: **Reactive Oxygen Species in Biology and Human Health**. [s.l.] CRC Press, 2016. p. 49–65.

FRANKEL, E. N. **Lipid Oxidation**. 2. ed. [s.l.] Woodhead Publishing, 2012.

GALANTE, F.; ARAÚJO, M. V. F. DE. **Princípios da bioquímica**. 1. ed. São Paulo: Rideel, 2019.

GALLO, M.; FERRARA, L.; NAVIGLIO, D. Application of Ultrasound in Food Science and Technology: A Perspective. **Foods**, v. 7, n. 10, p. 164, 4 out. 2018.

GAN, R.-Y. *et al.* Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains. *Em*: **Sprouted Grains**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 191–246.

GAMBIN, L. B. **Avaliação do potencial antitumoral de compostos fenólicos extraídos da goiaba-serrana (Acca sellowiana) em células de melanoma cutâneo SK-Mel-28**. Laranjeiras do Sul: Universidade Federal da Fronteira Sul, 2020.

GATADE, A. A. **A handbook on oil and fat technology**. Kolhapur : Dr. Abhijeet Arun Gatade, 2020.

GAVAHIAN, M. *et al.* A critical analysis of the cold plasma induced lipid oxidation in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 77, p. 32–41, jul. 2018.

GENTILI NUNES, D. *et al.* Crude oils mixtures: compatibility and kinetics of water-in-oil emulsions separation. **DYNA**, v. 89, n. 223, p. 67–74, 9 set. 2022.

GÓMEZ-CORTÉS, P.; CAMIÑA, J. M. Oxidomics on the omega-3 volatile degradation pattern to determine differences between vegetable and marine oils. **Food Research International**, v. 122, p. 10–15, ago. 2019.

GONÇALVES-FILHO, D.; SOUZA, D. DE. Detection of Synthetic Antioxidants: What Factors Affect the Efficiency in the Chromatographic Analysis and in the Electrochemical Analysis? **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 7137, 21 out. 2022.

GOODARZI, F.; ZENDEHBOUDI, S. A Comprehensive Review on Emulsions and Emulsion Stability in Chemical and Energy Industries. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 97, n. 1, p. 281–309, 11 jan. 2019.

GROSSHAGAUER, S.; STEINSCHADEN, R.; PIGNITTER, M. Strategies to increase the oxidative stability of cold pressed oils. **LWT**, v. 106, p. 72–77, jun. 2019.

GUTIÉRREZ-DEL-RÍO, I. *et al.* Terpenoids and Polyphenols as Natural Antioxidant Agents in Food Preservation. **Antioxidants**, v. 10, n. 8, p. 1264, 8 ago. 2021.

Haida, K. S. *et al.* Atividade Antioxidante e Compostos Fenólicos de *Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium*. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 5, n. 2, p. 360–368, ago. 2012.

HENDGES, E. R.; FOLLADOR, F. A. C.; ANDRES, J. Estudo de correlação entre o uso e cobertura da terra com a temperatura de superfície registrada pelo satélite Landsat 8. **Sociedade & Natureza**, v. 32, p. 357–366, 5 jun. 2020.

HILL, S. E. Emulsion. *Em: Methods of testing protein functionality*. . London: Blackie Academic & Professional, 1996. p. 153–185.

HUANG, W. Y.; CAI, Y. Z.; ZHANG, Y. Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: Potential use for cancer prevention. **Nutrition and Cancer**, v. 62, n. 1, p. 1–20, jan. 2010.

HUYAN, Z. *et al.* Effects of packaging materials on oxidative product formation in vegetable oils: Hydroperoxides and volatiles. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 21, p. 100328, set. 2019.

IBSCH, R. B. M. *et al.* Study of pure and combined antioxidants for replacing TBHQ in soybean oil packed in pet bottles. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 3, p. 821–831, 2 mar. 2020.

IRAKLI, M.; CHATZOPOULOU, P.; EKATERINIADOU, L. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities. **Industrial Crops and Products**, v. 124, p. 382–388, nov. 2018.

IUPAC, C. Paquot, et al. Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives. **International union of pure and applied chemistry**, 1987, 99-102.

JUSOH, N.; OTHMAN, N. Stability of water-in-oil emulsion in liquid membrane prospect. **Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences**, v. 12, n. 3, 9 jan. 2017.

KESARWANI, S. *et al.* Oil and Fats as Raw Materials for Industry. *Em: Oils and Fats as Raw Materials for Industry*. [s.l.] Wiley, 2024. p. 1–32.

KORN, M. *et al.* Ultrassons para o preparo de amostras. p. 185–207, 2020.

KOZŁOWSKA, M.; GRUCZYŃSKA, E. Comparison of the oxidative stability of soybean and sunflower oils enriched with herbal plant extracts. **Chemical Papers**, v. 72, n. 10, p. 2607–2615, 28 out. 2018.

KUMAR, S. *et al.* Role of Phenolic Compounds in Plant-Defensive Mechanisms. *Em: Plant Phenolics in Sustainable Agriculture*. Singapore: Springer Singapore, 2020. p. 517–532.

KUPIKOWSKA-STOBBA, B.; DOMAGAŁA, J.; KASPRZAK, M. M. Critical Review of Techniques for Food Emulsion Characterization. **Applied Sciences**, v. 14, n. 3, p. 1069, 26 jan. 2024.

LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Fundamentals of Ultrasound-Assisted Extraction. *Em: Water Extraction of Bioactive Compounds*. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 291–316.

LAZZAROTTO, S. R. S. *et al.* Método de Folin Ciocalteu adaptado para quantificar polifenóis em extratos de erva-mate. . **Revista Movimenta**, p. 419–426, 2020.

LERAY, C. Contribution of Chevreul to lipid chemistry. **OCL**, v. 30, p. 9, 31 maio 2023.

LI, X. *et al.* Low-density solvent-based dispersive liquid–liquid microextraction coupled with hydrophobic magnetic nanoparticles for determination of synthetic phenolic antioxidants in vegetable oils by high-performance liquid chromatography. **Separation Science and Technology**, v. 53, n. 14, p. 2224–2231, 22 set. 2018.

LINARES, G.; ROJAS, M. L. Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Pigments From Food Processing By-Products: A Review. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, 24 maio 2022.

LIU, LINGYI *et al.* W/O Nano-Emulsions with Olive Leaf Phenolics Improved Oxidative Stability of *Sacha Inchi* Oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 120, n. 5, 7 maio 2018.

LOPEDA-CORREA, M.; VALDÉS-DUQUE, B. E.; OSORIO-TOBÓN, J. F. Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from *Adenaria floribunda* Stem: Economic Assessment. **Foods**, v. 11, n. 18, p. 2904, 19 set. 2022.

LORENZO, J. M. *et al.* Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. **Food Research International**, v. 106, p. 1095–1104, abr. 2018.

LOURENÇO, S. C.; MOLDÃO-MARTINS, M.; ALVES, V. D. Antioxidants of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications. **Molecules**, v. 24, n. 22, p. 4132, 15 nov. 2019.

LÜDTKE, F. L. **Desenvolvimento e caracterização de carreadores lipídicos nanoestruturados para incorporação de beta-caroteno**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas. Dissertação, 2021.

LUZIA, D. M. M. **Estabilidade oxidativa do óleo de soja adicionado de extrato de sementes de limão (*Citrus limon*)**. São José do Rio Preto. Dissertação, 2008. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/88416>>. Acesso em: 3 mar. 2024.

MACHADO, T. M. **Estabilização de Emulsões Concentradas de Óleo de Laranja com Isolado Proteico de Ervilha**. Rio de Janeiro: Instituto Alberto Luiz Coimbra. Dissertação, set. 2019.

MANESSIS, G. *et al.* Plant-Derived Natural Antioxidants in Meat and Meat Products. **Antioxidants**, v. 9, n. 12, p. 1215, 2 dez. 2020.

MAQSOUDELOU, A. *et al.* Improving the efficiency of natural antioxidant compounds via different nanocarriers. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 278, p. 102122, abr. 2020.

MAZZA, K. E. L. **Extração assistida por ultrassom e microencapsulação por spray drying de compostos fenólicos do bagaço de uva**. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro. Dissertação, 2017.

MCCLEMENTS, D. J.; JAFARI, S. M. Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 251, p. 55–79, jan. 2018.

MEHTA, N. *et al.* Ultrasound-Assisted Extraction and the Encapsulation of Bioactive Components for Food Applications. **Foods**, v. 11, n. 19, p. 2973, 23 set. 2022.

MIRANDA, E. L. **Óleo degomado de grãos de soja sem defeitos e partidos para produção de biocombustível**. Ponta Grossa : Universidade Estadual de Ponta Grossa. Dissertação, 2018.

MISHRA, S. K.; BELUR, P. D.; IYYASWAMI, R. Use of antioxidants for enhancing oxidative stability of bulk edible oils: a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 56, n. 1, p. 1–12, jan. 2021.

MOHAMED, F. *et al.* Antioxidant effect of vitamins C and E on the camel meat during refrigerated storage. **ISOCARD 2018**, p. 336–337, nov. 2018.

MOHAMMADI, A. *et al.* Application of nano-encapsulated olive leaf extract in controlling the oxidative stability of soybean oil. **Food Chemistry**, v. 190, p. 513–519, jan. 2016.

MOTOYAMA, T. *et al.* Preparation of Highly Stable Oil-in-Water Emulsions with High Ethanol Content Using Polyglycerol Monofatty Acid Esters as Emulsifiers. **Journal of Oleo Science**, v. 71, n. 6, p. 21430, 2022.

MOYANO, D. B.; PARAISO, D. A.; GONZÁLEZ-LEZCANO, R. A. Possible Effects on Health of Ultrasound Exposure, Risk Factors in the Work Environment and Occupational Safety Review. **Healthcare**, v. 10, n. 3, p. 423, 24 fev. 2022.

MUTHA, R. E.; TATIYA, A. U.; SURANA, S. J. Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: an overview. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 1, p. 25, 20 jan. 2021.

NEGRI, M. L. S. **Secagem das folhas de espinheira-santa – *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss. sob diferentes temperaturas e influência nos teores de polifenóis, na atividade antioxidante e nos aspectos microbiológicos**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. Dissertação, 2007.

NEGRI, M. L. S.; POSSAMAI, J. C.; NAKASHIMA, T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa - *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2b, p. 553–556, jun. 2009.

NUNES, C. A. **Tecnologia de óleos e gorduras para engenharia de alimentos**. LAVRAS - MG: UFLA, 2013.

OLIVEIRA, A. S. C. **Qualidade da espinheira-santa comercializada no mercado formal na cidade de pelotas**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas. Dissertação, 2016.

OLUWOLE, O. *et al.* Role of phenolic acid, tannins, stilbenes, lignans and flavonoids in human health – a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 57, n. 10, p. 6326–6335, 18 out. 2022.

OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10–36, ago. 2015.

OSWELL, N. J.; THIPPAREDDI, H.; PEGG, R. B. Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: A review. **Meat Science**, v. 145, p. 469–479, nov. 2018.

PARK, S. *et al.* Butylated Hydroxyanisole Exerts Neurotoxic Effects by Promoting Cytosolic Calcium Accumulation and Endoplasmic Reticulum Stress in Astrocytes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 34, p. 9618–9629, 28 ago. 2019.

PÉREZ, M.; DOMINGUEZ-LÓPEZ, I.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. The Chemistry Behind the Folin–Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 71, n. 46, p. 17543–17553, 22 nov. 2023.

PERLEBERG, T. D. *et al.* Atividade antioxidante, fenóis totais e flavonoides em espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Celastraceae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 19, n. 4, p. 577–583, 2017.

PESSUTO, M. B. **Atividade antioxidante e compostos fenólicos de *Maytenus ilicifolia* E *Maytenus aquifolium***. Maringá: Universidade Estadual de Maringá. Dissertação, out. 2006.

PIMENTEL, H. DA S. **Óleos e gorduras: Características sensoriais, físico-químicas e seu papel na técnica dietética**. Porto Alegre : Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Dissertação, 2018.

PINGRET, D.; TIXIER, A. S. F.; CHEMAT, F. Natural product extraction: principles and applications. *Em: Ultrasound-assisted extraction*. v. 21, 2013.

POKORNY, J. *et al.* **Antioxidants in food**. [s.l.] Woodhead Publishing Ltd, 2010.

POLONI, C. A. *et al.* Avaliação da estabilidade de emulsão A/O de antocianinas extraídas de arará vermelho. **SICT Res.**, v. 7, n. ISSN 2594-7893, nov. 2018.

QUARATO, C. M. I. *et al.* A Review on Biological Effects of Ultrasounds: Key Messages for Clinicians. **Diagnostics**, v. 13, n. 5, p. 855, 23 fev. 2023.

RAUEN-MIGUEL, A. M. O.; ESTEVES, W.; BARRERA-ARELLANO, D. Determinación del período de inducción de aceite de soja - Correlación entre el Rancimat y otros índices. **Grasas y Aceites**, v. 43, n. 3, p. 119–122, 30 jun. 1992.

RAVELLI, D. **Estabilidade oxidativa de óleo de soja adicionado de extratos de especiarias: correlação entre parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial**. Piracicaba : Universidade de São Paulo. Dissertação, 2011.

ROCHA, J. DE C. G. *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from jussara (*Euterpe edulis* M.) and blueberry (*Vaccinium myrtillus*) fruits. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 1, p. 45–53, 25 maio 2017.

RODRIGUES, I. DE M. **Estudo da composição lipídica e compostos voláteis formados pela termoxidação de óleos vegetais**. Campo Mourão: Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dissertação, 2018.

ROESLER, R. *et al.* Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53–60, mar. 2007.

SALCEDO, MA. L. D. *et al.* Production of Bio-based Polyol from Coconut Fatty Acid Distillate (CFAD) and Crude Glycerol for Rigid Polyurethane Foam Applications. **Preprints**, jun. 2023.

SAMARA, M.; NASSER, A.; MINGELGRIN, U. Critical Examination of the Suitability of the Folin-Ciocalteu Reagent Assay for Quantitative Analysis of Polyphenols—The Case of Olive-Mill Wastewater. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 13, n. 11, p. 476–493, 2022.

SANOU, A. *et al.* Modelling and optimisation of ultrasound-assisted extraction of roselle phenolic compounds using the surface response method. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 358, 7 jan. 2023.

SANTOS, S. M.; TAHAM, T. Avaliação da qualidade de óleo de girassol comercial submetido a processos de fritura. **XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. Dissertação, 25 set. 2016.

SASAKI, Y. F. *et al.* The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 519, n. 1–2, p. 103–119, ago. 2002.

SCHAFRANSKI, K. **Extração e caracterização de compostos fenólicos de folhas de amoreira preta (*Morus nigra* L.) e encapsulamento em esferas de alginato**. Ponta Grossa: Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dissertação, 2019.

SHESTAKOVA, M.; SILLANPÄÄ, M. Ultrasound-assisted electrochemical treatment of wastewaters containing organic pollutants by using novel Ti/Ta₂O₅-SnO₂ electrodes. *Em: Advanced Water Treatment*. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 79–161.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—A review of current status. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 53, p. 10–23, mar. 2012.

SHRESTHA, N. *et al.* Essential Fatty Acid Deficiency in Cystic Fibrosis Disease Progression: Role of Genotype and Sex. **Nutrients**, v. 14, n. 21, p. 4666, 4 nov. 2022.

SILVA, G. F. A. DA *et al.* Clitoria ternatea: Avaliação do tempo de extração de compostos fenólicos obtidos pela técnica assistida por ultrassom. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 11, n. 2, p. 990–994, 23 maio 2021.

SILVA, J. B. DA. **Estudo da estabilidade termo-oxidativa de óleos comestíveis ricos em ácidos graxos insaturados e blends**. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba. Dissertação, 2018.

SILVA, M. F. DA. **Avaliação da performance do óleo essencial de Cymbopogon flexuosus (DC.) microencapsulado como antioxidante em formulações**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. Dissertação, 26 jun. 2023.

SILVA, T. F. DA. **Aplicação de extrato da planta pitomba (Talisia esculenta) em linguiça frescal em substituição ao antioxidante sintético**. Campo Mourão: Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dissertação, 20 jul. 2023.

SINKIEWICZ, I. Lipids and Food Quality. *Em: Chemical and Functional Properties of Food Components*. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2023. p. 224–264.

SOARES GARCIA, J.; OLIVEIRA, C. J. F. Espinheira-santa: do extrativismo à produção sustentável. **Nativa**, v. 9, n. 4, p. 401–412, 23 set. 2021.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71–81, jan. 2002.

SOCRIER, L. *et al.* Flax phenolic compounds as inhibitors of lipid oxidation: Elucidation of their mechanisms of action. **Food Chemistry**, v. 274, p. 651–658, fev. 2019.

SOUZA, D. G.; BRAGHIROLI, D. I.; SCHNEIDER, A. P. H. **Bioquímica aplicada. [Digite o Local da Editora]: Grupo A, [Inserir ano de publicação]. E-book. ISBN 9788595026544. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595026544/>. Acesso em: 27 mai. 2024.** Porto Alegre: SAGAH, 2018.

STILLER, A. *et al.* From Fighting Critters to Saving Lives: Polyphenols in Plant Defense and Human Health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 16, p. 8995, 20 ago. 2021.

SUCKEVERIS, D. *et al.* Supra-nutritional Levels of Selected B Vitamins in Animal or Vegetable Diets for Broiler Chicken. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 22, n. 3, 2020.

TALBOT, G. The stability and shelf life of fats and oils. *Em: Food and Beverage Stability and Shelf Life*. [s.l.] Elsevier, 2011. p. 683–715.

TENA, N. *et al.* Storage and Preservation of Fats and Oils. *Em: Encyclopedia of Food Security and Sustainability*. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 605–618.

TOZO, I. A. **Tocobiol e extrato de acerola como antioxidantes naturais em salame tipo milano**. Medianeira: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 14 jun. 2022.

USDA. **OilseedsWorld Markets and Trade**, mar. 2024. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf>>. Acesso em: 25 maio. 2024

VAISALI, C.; BELUR, P. D.; IYYASWAMI, R. Effectiveness of rutin and its lipophilic ester in improving oxidative stability of sardine oil containing trace water. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 53, n. 2, p. 541–548, fev. 2018.

VASCONCELOS, E. C.; SANTOS, M. H. P. DOS. Uso de medicamento fitoterápico espinheira santa no tratamento da doença gastrointestinal gastrite. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 4, p. e9412441023, 31 mar. 2023.

VELASCO, J. *et al.* New Insights into the Loss of Antioxidant Effectiveness of Phenolic Compounds in Vegetable Oils in the Presence of Phosphatidylcholine. **Antioxidants**, v. 12, n. 11, p. 1993, 11 nov. 2023.

VELLOSA, J. C. R. *et al.* Maytenus ilicifolia as source of antioxidants and antiradicals agents and its action on neutrophils peroxidase (myeloperoxidase). **African Journal of Biochemistry Research**, v. 2, p. 232–239, dez. 2008.

VENZEL, A. H. DA S. **Avaliação da capacidade antioxidante de extratos naturais no controle da oxidação de linguças frescas**. Toledo: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 19 dez. 2022.

WANG, C. *et al.* Emulsion structure design for improving the oxidative stability of polyunsaturated fatty acids. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 6, p. 2955–2971, 5 nov. 2020.

WU, L. *et al.* Deep eutectic solvent-based ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from Moringa oleifera L. leaves: Optimization, comparison and antioxidant activity. **Separation and Purification Technology**, v. 247, p. 117014, set. 2020.

YAHYA, N. A.; ATTAN, N.; WAHAB, R. A. An overview of cosmeceutically relevant plant extracts and strategies for extraction of plant-based bioactive compounds. **Food and Bioproducts Processing**, v. 112, p. 69–85, nov. 2018.

YAMASHITA, Y.; MIYAHARA, R.; SAKAMOTO, K. Emulsion and Emulsification Technology. *Em: Cosmetic Science and Technology*. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 489–506.

ZAMUZ, S. *et al.* Fat and fatty acids. *Em: Food Lipids*. [s.l.] Elsevier, 2022. p. 155–172.

ZEFERINO, M.; RAMOS, S. DE F. Mercado Mundial de Óleos Vegetais: panorama e perspectivas. Análises e Indicadores do Agronegócio. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, v. 18, n. 5, p. 1–8, mar. 2023.

ZOPELLARO, S. R.; SILVA, S. Z. DA; LOVATO, F. R. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da farinha do resíduo da uva. **Fag journal of health (FJH)**, v. 1, n. 2, p. 154–163, 31 jul. 2019.

APÊNDICES

APÊNDICE A – PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS ADOTADO NO ESTUDO.

Ensaio	Potência (%)	Temperatura (°C)	Etanol (%)	RSL(g/mL)
1	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00
2	-1,00	-1,00	-1,00	1,00
3	-1,00	-1,00	1,00	-1,00
4	-1,00	-1,00	1,00	1,00
5	-1,00	1,00	-1,00	-1,00
6	-1,00	1,00	-1,00	1,00
7	-1,00	1,00	1,00	-1,00
8	-1,00	1,00	1,00	1,00
9	1,00	-1,00	-1,00	-1,00
10	1,00	-1,00	-1,00	1,00
11	1,00	-1,00	1,00	-1,00
12	1,00	-1,00	1,00	1,00
13	1,00	1,00	-1,00	-1,00
14	1,00	1,00	-1,00	1,00
15	1,00	1,00	1,00	-1,00
16	1,00	1,00	1,00	1,00
17	-2,00	0,00	0,00	0,00
18	2,00	0,00	0,00	0,00
19	0,00	-2,00	0,00	0,00
20	0,00	2,00	0,00	0,00
21	0,00	0,00	-2,00	0,00
22	0,00	0,00	2,00	0,00
23	0,00	0,00	0,00	-2,00
24	0,00	0,00	0,00	2,00
25	0,00	0,00	0,00	0,00
26	0,00	0,00	0,00	0,00
27	0,00	0,00	0,00	0,00

APÊNDICE B –PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA AS FORMULAÇÕES DA EMULSÃO.

Ensaio	Lecitina de Soja (mg)	Volume de Extrato (mL)
1	-1,00	-1,00
2	+1,00	-1,00
3	-1,00	+1,00
4	+1,00	+1,00
5	-1,41	0,00
6	+1,41	0,00
7	0,00	-1,41
8	0,00	+1,41
9	0,00	0,00
10	0,00	0,00
11	0,00	0,00

APÊNDICE C – RESULTADO DA ANÁLISE DE DPPH.

Ensaio	Absorbância 1 (nm)	Absorbância 2 (nm)	Média Absorbância (nm)	Inibição (%)
Controle	0,73	0,73	0,73	-
1	0,409	0,364	0,3865 ± 0,032	20,05
2	0,509	0,495	0,502 ± 0,010	4,23
3	0,220	0,227	0,2235 ± 0,005	42,38
4	0,249	0,258	0,2535 ± 0,006	38,27
5	0,358	0,364	0,361 ± 0,004	23,55
6	0,411	0,417	0,414 ± 0,004	16,29
7	0,197	0,201	0,199 ± 0,003	45,74
8	0,229	0,235	0,232 ± 0,004	41,22
9	0,285	0,286	0,2855 ± 0,001	33,89
10	0,417	0,416	0,4165 ± 0,001	15,95
11	0,250	0,261	0,2555 ± 0,008	38,00
12	0,221	0,232	0,2265 ± 0,008	41,97
13	0,500	0,502	0,501 ± 0,001	4,37
14	0,495	0,495	0,495 ± 0,000	5,19
15	0,175	0,178	0,1765 ± 0,002	48,82
16	0,242	0,244	0,243 ± 0,001	39,71
17	0,359	0,360	0,3595 ± 0,001	23,75
18	0,296	0,295	0,2955 ± 0,001	32,52
19	0,328	0,330	0,329 ± 0,001	27,93
20	0,412	0,439	0,4255 ± 0,019	14,71
21	0,390	0,392	0,391 ± 0,001	19,44
22	0,220	0,228	0,224 ± 0,006	42,32
23	0,218	0,220	0,219 ± 0,001	43,00
24	0,393	0,394	0,3935 ± 0,001	19,10
25	0,311	0,317	0,314 ± 0,004	29,99
26	0,280	0,283	0,2815 ± 0,002	34,44
27	0,385	0,392	0,3885 ± 0,005	19,78

APÊNDICE D – VALORES DA CURVA PADRÃO PARA O ÁCIDO GÁLICO

Concentração (mg/mL EAG)	Absorbância 1 (nm)	Absorbância 2 (nm)	Média Absorbância (nm)
0,05	0,026	0,04	0,033
0,10	0,105	0,111	0,108
0,15	0,159	0,156	0,1575
0,20	0,179	0,205	0,192
0,30	0,314	0,323	0,3185
0,40	0,407	0,475	0,441
0,50	0,557	0,525	0,541

APÊNDICE E – CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS (EAG) NO EXTRATO DE ESPINHEIRA-SANTA COM DILUIÇÃO 1:50.

Absorbância (nm)	Concentração (mg.mL⁻¹EAG)
0,122	0,124
0,115	0,117
Média	0,12 ± 0,004