

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTU SENSU*
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

MATEUS FLÓRIDO CUBO

**ESTUDO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS
DE *Pereskia aculeata* (ORA-PRO-NOBIS), *Camellia sinensis* (CHÁ VERDE E CHÁ
BRANCO) E SUAS MISTURAS EM MATRIZ LIPÍDICA**

**PONTA GROSSA
2021**

MATEUS FLÓRIDO CUBO

ESTUDO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE *Pereskia aculeata* (ORA-PRO-NOBIS), *Camellia sinensis* (CHÁ VERDE E CHÁ BRANCO) E SUAS MISTURAS EM MATRIZ LIPÍDICA

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito para obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, no Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Dinnies Santos Salem

**PONTA GROSSA
2021**

Cubo, Mateus Flório

C962 Estudo do potencial antioxidante de extratos hidroalcoólicos de *Pereskia aculeata* (Ora-pro-nobis), *Camellia sinensis* (chá verde e chá branco) e suas misturas em matriz lipídica / Mateus Flório Cubo. Ponta Grossa, 2022.
72 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Dinnies Santos Salém.

1. Sinergia. 2. Rancimat. 3. Interação. 4. Oxidação. 5. Compostos fenólicos.
I. Salém, Renata Dinnies Santos. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. III.T.

CDD: 641

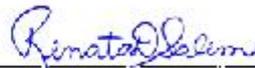
TERMO DE APROVAÇÃO

MATEUS FLÓRIDO CUBO

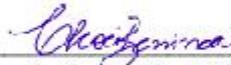
“Estudo do potencial antioxidante de extratos hidroalcoólicos de *Pereskia aculeata* (Ora-pro-nobis), *Camellia sinensis* (chá verde e chá branco) e suas misturas em matriz lipídica”

Dissertação aprovada como requisito para obtenção do grau de Mestre(a) no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador:



Prof. Dr. Renata Dinnes Santos Salem



Prof. Dr. Cleoci Beninca



Prof. Dr. Aline Alberti

Ponta Grossa, 30 de novembro de 2021.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à instituição Universidade Estadual de Ponta Grossa pelo espaço cedido para realização do trabalho, assim como ao C-Labmu e ao Lacbio.

Ao órgão CAPES, pela bolsa concedida durante meu período de mestrado.

A todos os professores que passaram pela minha vida e me incentivaram sempre a estudar e buscar o melhor de mim, em particular minha orientadora Renata Dinnies Santos Salem, por ter me aceitado como seu orientado e ser para mim um exemplo de profissional a ser seguido.

A toda minha família, por sempre me motivar a seguir em frente, em especial minha mãe, Mariane, minha avó, Neuza e minha tia Carol, que sempre acreditaram em mim, mesmo quando eu não acreditava.

As minhas amigas e colegas de profissão, Taynara e Daniele, por me apoiarem nesse momento e por dividirem comigo essa jornada desafiadora, nem caberia aqui os meus verdadeiros agradecimentos a vocês.

Aos meus amigos Brendo e Thiago, por dividirem comigo seus conhecimentos de quem já passou pela pós-graduação e ao meu amigo Gutemberg, pelos momentos de descontração.

Aos meus novos colegas e amigos do trabalho, em destaque a minha gerente Kellen, por sempre me dar espaço e a liberdade necessária para dar continuidade a esse trabalho, mesmo em horário comercial.

A minha psicóloga, Mariane, por literalmente cuidar da minha saúde mental nesse momento e em tantos outros.

Agradecer a qualquer força superior ou religião que quem estiver lendo isso acredite, porque acredito que não estamos espiritualmente sozinhos nesse plano e sou imensamente grato pela minha vida.

RESUMO

Processos de oxidação produzem espécies químicas altamente reativas chamadas de radicais livres que degradam os ácidos graxos presentes nos alimentos. Compostos antioxidantes encontrados em diversas plantas conseguem retardar esse processo. Neste trabalho foi realizada a extração dos compostos fenólicos das plantas *Camellia sinensis* (chá verde e chá branco) e *Pereskia aculeata* (Ora-pro-Nóbis) com solvente misto de água:etanol, variando suas proporções em 75:25, 50:50 e 25:75 (v/v), acrescida ou não de banho ultrassônico. O extrato de chá verde apresentou os maiores teores de fenólicos totais e atividade antioxidante no teste de DPPH, enquanto a Ora-pro-nóbis apresentou os menores resultados. O uso do banho ultrassônico não se mostrou efetivo no aumento do teor de compostos bioativos. Um extrato de cada planta foi selecionado para um planejamento de misturas, onde foram aplicados em óleo de soja e azeite de oliva sob teste de oxidação acelerada Rancimat. Todos os extratos e suas misturas demonstraram atividade antioxidante em ambos os óleos, aumentando seus tempos de indução a oxidação. O chá verde apresentou o maior efeito antioxidante no óleo de soja, enquanto o chá branco no azeite de oliva. No teste de desejabilidade, verificou-se que o maior tempo de indução para o óleo de soja seria obtido utilizando-se 100% de extrato de chá verde e para o azeite de oliva a proporção ideal seria 75% de chá branco e 25% de chá verde. A presença de ora-pro-nóbis nas misturas resultou em efeito antagônico, entretanto seu extrato puro apresentou potencial antioxidante significativo. Assim, os extratos apresentaram potencial antioxidante para possível substituição de antioxidante sintético em óleo de soja e azeite de oliva.

Palavras-chave: Sinergismo. Interação. Oxidação. Compostos fenólicos. Rancimat.

ABSTRACT

Oxidation processes produce highly reactive chemical species called free radicals that degrade the food fatty acids. Antioxidant compounds found in various plants can slow down this process. In this work the extraction of phenolic compounds from *Camellia sinensis* (green tea and white tea) and *Pereskia aculeata* (Ora-pro-Nóbis) plants was performed with mixed solvent of water:ethanol, varying its proportions in 75:25, 50:50 and 25:75 (v/v), with or without the ultrasound method. The green tea extract showed the highest contents of total phenolics and antioxidant activity in the DPPH test, while Ora-pro-nobis showed the lowest results. Ultrasound bath was not effective in increasing the content of bioactive compounds. One extract from each plant was selected for a mixture planning, where they were applied in soybean oil and olive oil under Rancimat accelerated oxidation test. All extracts and their mixtures showed antioxidant activity in both oils, increasing their oxidation induction times. Green tea had a greater positive influence on soybean oil, while white tea had a greater positive influence on olive oil. In the desirability test, it was obtained that the mixture to obtain the highest result in the induction time for soybean oil was 100% green tea extract, and for olive oil the ideal proportion would be 75% white tea and 25% green tea. The presence of ora-pro-nobis in the mixtures resulted in antagonistic effect, however its pure extract showed significant antioxidant potential. Thus, the extracts presented antioxidant potential for possible replacement of synthetic antioxidant in soybean oil and olive oil.

Keywords: Synergism. Interaction. Oxidation. Phenolic compounds. Rancimat.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Epicatequinas majoritárias encontradas na <i>Camellia sinensis</i>	16
Figura 2: Mecanismo da oxidação lipídica	20
Figura 3: Hidrogênio localizado no carbono metilênico.	21
Figura 4: Mecanismo de oxidação por íons metálicos.....	22
Figura 5: Esquema Rancimat.....	24
Figura 6: Gráfico representativo de uma curva de tempo de indução pelo equipamento Rancimat.....	25
Figura 7: Estrutura química básica dos flavonoides	28
Figura 8: Equipamento Soxhlet	29
Figura 9: Representações gráficas de planejamento de (a) uma mistura binária, (b) uma mistura terciária e (c) uma mistura quaternária	33
Figura 10: Representação de modelos experimentais de misturas terciárias: (a) linear, (b) quadrático, (c) cúbico especial e (d) cúbico completo	34
Figura 11: Representação de um modelo experimental simplex centroide expandido de uma mistura terciária.....	34
Figura 12: Fluxograma do processo de extração	36
Figura 13: Gráfico de Pareto para tempo de indução do azeite de oliva.....	48
Figura 14: Resposta para os efeitos das proporções dos extratos de Chá Verde (CV), Chá Branco (CB) e Ora-pro-Nóbis (OPN) no aumento do tempo de indução do azeite de oliva de acordo com metodologia de superfície de resposta R^2	49
Figura 15: Gráfico de Pareto para tempo de indução do óleo de soja	51
Figura 16: Resposta para os efeitos das proporções dos extratos de Chá Verde (CV), Chá Branco (CB) e Ora-pro-Nóbis (OPN) no aumento do tempo de indução do óleo de soja de acordo com metodologia de superfície de resposta.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Delineamento experimental para avaliação da estabilidade oxidativa da matriz lipídica adicionada de extratos hidroalcoólicos de chá verde, chá branco e ora-pro-nóbis.	38
Tabela 2. Resultados de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos de chá verde sem ultrassom (CV) e com ultrassom (CVU) e chá branco sem ultrassom (CB) e com ultrassom (CBU) em diferentes proporções dos solventes etOH:H ₂ O (1 = 75:25, 2= 50:50 e 3 = 25:75).	41
Tabela 3. Resultados de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos de ora-pro-nóbis sem ultrassom (OPN) e com ultrassom (ONPU) em diferentes proporções dos solventes etOH:H ₂ O (1 = 75:25, 2= 50:50 e 3 = 25:75). .	43
Tabela 4. Resultados do tempo de indução pelo teste de oxidação acelerada Rancimat nas amostras de azeite de oliva extravirgem dos extratos puros (CV, CB e OPN), misturas binárias (CVCB, CVOPN, CBOPN), terciária (CVCBOPN), antioxidante sintético (BHT) e amostra sem adição de antioxidante (Controle)	45
Tabela 5. Tempo de indução pelo teste de oxidação acelerada Rancimat nas amostras de óleo de soja dos extratos puros (CV, CB e OPN), misturas binárias (CVCB, CVON, CBOPN), terciária (CVCBOPN), antioxidante sintético (BHT) e amostra sem adição de antioxidante (Controle).	46
Tabela 6. Fatores experimentais e variável resposta do planejamento de misturas para azeite de oliva	47
Tabela 7. Efeitos dos extratos puros e misturas para o azeite de oliva.....	47
Tabela 8. Fatores experimentais e variável resposta do planejamento de misturas para azeite de oliva	50
Tabela 9. Efeitos dos extratos puros e misturas para o óleo de soja.	50
Tabela 10. Materiais utilizados na obtenção dos extratos vegetais utilizados no teste de oxidação acelerada do Rancimat e seus respectivos valores.	53
Tabela 11. Valores monetários dos extratos finais, aplicações a 4% e aplicação de antioxidante sintético BHT em 1 kg de matriz vegetal.....	54

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

$^1\text{O}_2$	Oxigênio singlete
$^3\text{O}_2$	Oxigênio triplete
•OH	Radical hidroxil
ABTS ⁺ •	ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico
AGE	Ácido graxo essencial
ANOVA	Análise de variância
BHA	Butil-hidróxi anisol
BHT	Butil-hidróxi tolueno
CB	Chá Branco
CBU	Extrato de chá branco com ultrassom
CV	Chá Verde
CVU	Extrato de chá verde com ultrassom
D	Desejabilidade Global
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH•	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EC	Epicatequina
ECG	Galato de epicatequina
EGC	Epigalocatequina
EGCG	Galato de epigalocatequina
H ⁺	Cátion
HCl	Ácido clorídrico
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
IEO	Índice de Estabilidade Oxidativa
IP	Índice de peróxido
K ₂ S ₂ O ₈	Persulfato de Potássio
M ⁽ⁿ⁺¹⁾	Íon metálico
MSR	Metodologia de superfície de resposta
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sódio
O ₂ ^{•-}	Ânion superóxido
OPN	Ora-pro-Nóbis
OPNU	Extrato de ora-pro-nóbis com ultrassom

PG	Propil-galato
RO•	Radical alcoxil
ROO•	Radical peroxil
ROOH	Peróxido
T	t-student
TBHQ	Terc-butil hidroquinona
TROLOX	Ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico
UV	Ultravioleta
UV-VIS	Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 CHÁ VERDE E CHÁ BRANCO (<i>Camellia sinensis</i>).....	15
3.2 ORA-PRO-NÓBIS (<i>Pereskia aculeata</i>)	17
3.3 AZEITE DE OLIVA (<i>Olea europaea L.</i>)	17
3.4 ÓLEO DE SOJA	19
3.5 OXIDAÇÃO EM ALIMENTOS	19
3.5.1 Autoxidação.....	20
3.5.2 Fotoxidação.....	22
3.5.3 Métodos de Aceleração Oxidativa em Alimentos	22
3.6 ANTIOXIDANTES	25
3.7 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS	28
3.8 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DE MISTURAS	32
4 MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1 MATÉRIA PRIMA	35
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	35
4.2.1 Obtenção dos extratos vegetais	35
4.3 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	36
4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	37
4.4.1 Inibição do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).....	37
4.4.2 Teste do radical ABTS ⁺ • (ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)	37
4.5 ESTABILIDADE OXIDATIVA.....	38

4.5.1 Planejamento de misturas	38
4.5.2 Ensaio Rancimat	38
4.6 ANÁLISE DE CUSTO ESTIMADO	39
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	40
5.2 TESTE DE OXIDAÇÃO ACELERADA RANCIMAT	44
5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
5.3.1 Azeite de Oliva	47
5.3.2 Óleo de Soja	49
5.4 ANÁLISE DE CUSTO ESTIMADO	52
6 CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

Os radicais livres são espécies químicas altamente reativas, podendo ser produzidos em reações oxidativas de processos metabólicos, assim como em produtos alimentícios. Sua produção torna-se mais evidente em lipídios, principalmente os que são compostos em sua maioria por ácidos graxos poliinsaturados. No organismo humano, assumem o papel de intermediários na transferência de elétrons em diversas reações bioquímicas importantes. O corpo humano conta com antioxidantes endógenos, enzimáticos e não enzimáticos, que regulam os radicais livres. Entretanto, fatores externos como por exemplo o consumo de bebidas alcoólicas, exposição excessiva a luz UV e poluição, geram um desequilíbrio na síntese desses compostos, ocasionando o estresse oxidativo. Essa condição caracteriza-se pelo ataque dos radicais livres a estrutura de lipídios presentes nas membranas celulares, assim como de outras macromoléculas, degradando-as e interferindo na sua funcionalidade. Dessa forma, o estresse oxidativo está relacionado com o maior risco do surgimento de doenças neurodegenerativas como o mal de Alzheimer e o Parkinson, doenças coronarianas e desordens inflamatórias.

Em alimentos, os radicais livres provêm principalmente de reações oxidativas de lipídios em presença de oxigênio e radiação da luz visível/UV, podendo ser catalisadas pela presença de íons metálicos e substâncias fotossensibilizadoras. A degradação dos lipídios gera produtos orgânicos como cetonas, aldeídos e álcoois, que são responsáveis pelos *off-flavors*. Como consequência, características sensoriais como cor, sabor e odor são alteradas, diminuindo a aceitabilidade do produto pelos consumidores. Há na composição de óleos vegetais os chamados ácidos graxos essenciais (AGE), que apresentam benefícios a saúde como efeito anti-inflamatório, reduzem o risco do desenvolvimento de cânceres e doenças cardiovasculares. Entre eles encontram-se o ômega 3 e ômega 6, ambos insaturados, o que facilita a degradação por oxidação, assim ocasionando perda nutricional importante do produto.

O consumo de antioxidantes pode auxiliar na redução do risco do estresse oxidativo, assim como sua aplicação em matrizes alimentícias pode retardar o processo de oxidação dos lipídios. Estudos sobre antioxidantes encontrados naturalmente em alimentos têm aumentado consideravelmente nos últimos anos. As

principais fontes são de origem vegetal, entre elas, frutas, ervas, temperos e seus derivados, como chás, sucos e vinhos. A maioria são compostos fenólicos, como flavonoides e ácidos fenólicos, e a atividade antioxidante dessas substâncias está intimamente relacionada às suas estruturas químicas. Podem neutralizar radicais livres, doando átomos de hidrogênio e elétrons, quelando íons metálicos e reagindo com o oxigênio presente.

Diversas plantas são estudadas com o intuito da investigação de sua capacidade antioxidante e aplicações. Da família *Theaceae*, há a *Camellia sinensis*, matéria prima do chá verde, uma das bebidas mais consumidas do mundo, do chá branco, chá preto e do Oolong. É conhecida por sua capacidade antioxidante e antimicrobiana em diversas matrizes alimentares, assim como em sistemas biológicos. Na família *Cactaceae*, a *Pereskia aculeata* (Ora-pro-Nóbis), destaca-se mais pelo seu teor de aminoácidos e presença de mucilagem, não havendo muitos estudos na literatura sobre sua composição fenólica.

A interação entre compostos fenólicos provenientes de diferentes fontes botânicas pode apresentar um resultado sinérgico ou antagônico. Logo, o estudo dessa interação de extratos de plantas já conhecidos pela literatura, torna-se um tópico a ser pesquisado e discutido. Dessa forma, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar o potencial antioxidante de extratos hidroalcoólicos de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*), chá verde, chá branco (*Camellia sinensis*) e suas misturas em matriz lipídica.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial antioxidante de extratos hidroalcoólicos de *Pereskia aculeata* (Ora-pro-Nóbis) e *Camellia sinensis* (chá verde e chá branco) e suas misturas em matriz lipídica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Obter extratos hidroalcoólicos de *Pereskia aculeata* (Ora-pro-Nóbis) e *Camellia sinensis* (chá verde e chá branco), por meio de agitação combinada ou não com banho ultrassônico.

Quantificar os compostos fenólicos totais dos extratos obtidos.

Avaliar a atividade antioxidante dos extratos pelos métodos de inibição do radical DPPH \cdot e descoloração do cátion ABTS \cdot^+ .

Avaliar o efeito dos extratos hidroalcoólicos, com base em um planejamento de misturas, na estabilidade oxidativa de matrizes lipídicas (óleo de soja e azeite de oliva), através de técnica de oxidação acelerada (Rancimat).

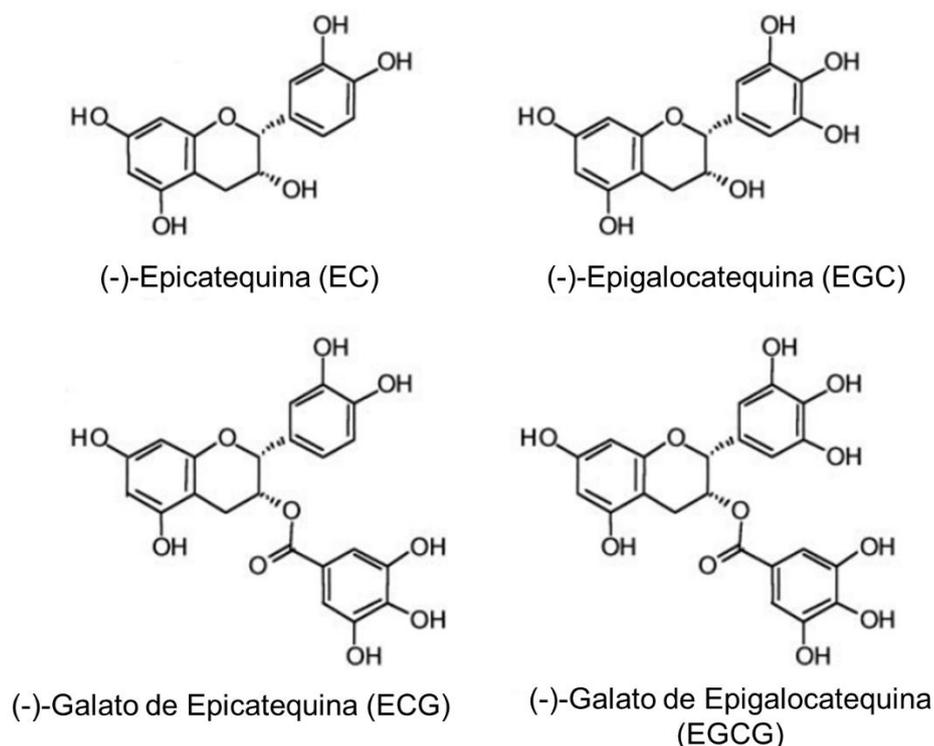
Realizar análise de custo estimada para obtenção e aplicação de extratos de *Pereskia aculeata* (Ora-pro-Nóbis) e *Camellia sinensis* (chá verde e chá branco).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CHÁ VERDE E CHÁ BRANCO (*Camellia sinensis*)

A *Camellia sinensis* é uma planta da família *Theaceae*, cultivada originalmente na região sul da Ásia, desenvolve-se em climas com temperaturas amenas, alta umidade e solo ácido (MAHMOOD; AKHTAR; KHAN, 2010). É a matéria prima de uma das bebidas mais consumidas do mundo, o chá (KRISHNATREYA, 2021). Quatro principais tipos de chá derivam dessa mesma planta: o chá verde, chá branco, chá preto e o Oolong (MUNIANDY; SHORI; BABA, 2016). A principal diferença entre esses produtos é se há ação oxidativa ou não no seu processo de fabricação. O chá Oolong é obtido a partir de folhas parcialmente oxidadas, enquanto no chá preto ocorre oxidação completa, e ambos os chás verde e branco não são oxidados (SHARANGI, 2009). O chá verde é composto de folhas maduras, que são vaporizadas, laminadas, trituradas e secas (SANTANA-RIOS et al.; 2001). O chá branco provém de folhas jovens e botões da *Camellia sinensis* que são apenas vaporizadas e secas (KARORI et al.; 2007). O uso de vapor no processo desses chás tem como objetivo a inativação da enzima polifenol oxidase, impedindo oxidação dos compostos fenólicos das folhas, evitando seu escurecimento (MCKAY; BLUMBERG, 2002). O grupo de compostos fenólicos mais abundantes nas folhas de *Camellia sinensis* são os flavan-3-ols, mais especificamente as catequinas e seus derivados (HORŽIĆ et al.; 2009). As catequinas mais encontradas são: epigalocatequina (EGC), epicatequina (EC), galato de epigalocatequina (EGCG) e galato de epicatequina (ECG) (Figura 1) (ROBERTS; WOOD, 1953; HILAL; ENGELHARDT, 2007; MIZUKAMI; SAWAI; YAMAGUCHI, 2007). O potencial antioxidante dessas substâncias encontra-se usualmente na seguinte ordem: EGCG≈ECG>EGC>EC (SHAHIDI, 2000).

Figura 1: Epicatequinas majoritárias encontradas na *Camellia sinensis*



Fonte: Adcocks, Collin, Buttle (2002).

Extratos de *Camellia sinensis* são amplamente estudados para aplicação em produtos alimentícios, devido às suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (ALMAJANO *et al.*; 2008). Diversas matrizes alimentícias apresentam estudos com a aplicação de seus extratos. Em produtos cárneos observa-se em alguns estudos a maior estabilidade oxidativa de carnes de vaca, cordeiro e porco adicionadas de algum extrato de *Camellia sinensis* (BÉLLES *et al.*; 2017; JAYAWARDANA *et al.*; 2019; KIRMIZIKAYA *et al.*; 2021). Em estudo realizado por Kmiecik *et al.* (2017) e Jahanfar *et al.* (2020), observou-se que o chá verde tem efeitos antioxidantes quando aplicado ao óleo de canola, prevenindo as oxidações primária e secundárias, e diminuindo o processo de polimerização durante aquecimento. Thakaeng *et al.* (2020) relatou a diminuição de peróxidos, colônias de bactérias, e fungos e leveduras em manteiga adicionada de extrato de chá verde se comparada à manteiga padrão, assim como não influência do extrato nas características sensoriais do produto a uma concentração de 6%.

3.2 ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata*)

A Ora-pro-Nóbis (OPN), conhecida popularmente como “carne dos pobres”, pertence à família *Cactaceae*, gênero *Pereskia*, e é vastamente distribuída entre as regiões da América Central e do Sul, sendo consumida pelo seu alto teor de proteínas e minerais (SATO et al.; 2019; SOUZA et al.; 2016). Sua composição química destaca-se pela presença dos aminoácidos essenciais triptofano e lisina, assim como os minerais cálcio, ferro, zinco e magnésio, sendo muitos desses compostos nutricionais em concentrações superiores a outros vegetais comestíveis (PINTO; SCIO, 2014). As pesquisas envolvendo OPN normalmente focam na aplicação e produção de conteúdo mucilaginoso, visto que essa é uma característica presente nas plantas da família *Cactaceae* (MARTIN et al.; 2017). A mucilagem é um complexo de carboidratos com alta retenção de água e seu uso na tecnologia de alimentos visa o melhoramento das características reológicas dos produtos, assim como sua estabilidade (AMARAL et al.; 2018; JUNIOR et al.; 2013; LISE et al.; 2021). Sua mucilagem também apresenta propriedades cicatrizantes, tanto em estudos *in vitro* (CARVALHO et al.; 2014) quanto na aceleração da recuperação de ferimentos em ratos (Pinto et al.; 2016). Outros estudos têm aplicado a farinha de OPN em alimentos, com o intuito de aumentar o teor de proteínas e minerais do produto final (SATO et al.; 2019; CREMASCO et al.; 2016; SOBRINHO et al.; 2015). O seu perfil fenólico e potencial antioxidante ainda foi pouco explorado, entretanto Souza (2014) identificou ácidos fenólicos como cafeico, clorogênico, p-coumárico e ferúlico através de extrações das folhas em água e HCl. Em estudo realizado por Garcia et al. (2019) conseguiram identificar em extratos hidroalcoólicos também o ácido caféico e seus derivados, assim como flavonoides como quercetina e kaempferol. Em suas folhas e frutos ainda há a presença de carotenoides, destacando-se xantofilas, luteína e zeaxantina. Seu óleo essencial conta com a presença de monoterpenos e diterpenos, sendo os ácidos graxos principais, o palmítico (16:0) e o linoleico (18:1, ω -6) (EGEA; PIERCE, 2020).

3.3 AZEITE DE OLIVA (*Olea europaea* L.)

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma árvore perene nativa da bacia do Mediterrâneo, pertencente à família *Oleaceae*. Seus frutos são as azeitonas, os quais são a fonte de extração do azeite de oliva (ŞAHIN; BILGIN, 2018; ALSHAMMARI et

al.; 2019). Os frutos da oliveira podem ser classificados em 3 grupos majoritários, sendo seu tamanho crescente e o teor de óleo decrescente na seguinte ordem: azeitonas para extração de óleo, com duplo uso e azeitonas de mesa (BEVILACQUA et al.; 2015).

De acordo com a Instrução Normativa nº 1, de 30 de janeiro de 2012, os produtos oleosos derivados da oliveira (*Olea europaea L.*) podem ser: azeite de oliva extravirgem, virgem, lampante, azeite de oliva, azeite de oliva refinado, óleo de bagaço de oliva e óleo de bagaço de oliva refinado (BRASIL, 2012). Os azeites de oliva extravirgem e virgem, são obtidos apenas por processos físicos, sem uso de solvente, calor, reesterificação ou mistura de outros óleos. A diferença entre extravirgem e virgem é o seu limite de acidez livre tolerável, máximo de 0,8% e 2,0% respectivamente, expressos em equivalente de ácido oleico (EUROPEAN COMMISSION, 2015).

A produção de azeite de oliva extravirgem começa na colheita, manual ou mecanizada, de frutos maduros e sãos. Após a colheita, sujidades maiores são removidas e os frutos são lavados (NASINI; PROIETTI, 2014). Em seguida, ocorre a moagem das azeitonas, até a formação de uma pasta; logo, forma-se uma mistura de água, óleo e resíduos sólidos. Para facilitar a separação desses três componentes posteriormente, ocorre a malaxação, ou seja, essa pasta é agitada lentamente, para que o óleo se separe por coalescência (TAMBORRINO; CATALANO; LEONE, 2014). Na centrifugação as 3 fases são separadas; a fase lipídica necessita de uma segunda centrifugação por ainda estarem presentes gotículas de água e resíduos sólidos. Mesmo após as centrifugações, o óleo pode apresentar sólidos suspensos, que são removidos por filtração, deixando-o com aparência mais clarificada (BACCIONI; PERI, 2014). Após a filtração, ele é armazenado em recipiente com barreira ao oxigênio e luz, visto que a oxidação é o principal fator de deterioração do azeite de oliva extravirgem; deve-se evitar altas temperaturas e armazenagem em recipientes metálicos, que podem desencadear reações oxidativas (SANMARTIN et al.; 2018).

Os azeites de oliva extravirgem e virgem, estão mais sujeitos a oxidação lipídica devido à sua composição. Os ácidos graxos mais abundantes encontrados nesses dois óleos são o oleico (C18:1), o linoleico (C18:2) e o palmítico (C16:0), tendo suas proporções variadas dependendo de fatores exógenos das plantas (YUBERO-SERRANO et al.; 2019). Ácidos graxos com duplas ligações são mais sujeitos a oxidação lipídica, devido a energia de dissociação dos hidrogênios adjacentes a elas

ser mais fraca, logo são removidos com mais facilidade (JOHNSON; DECKER, 2015). A presença do pigmento fotossensibilizador, clorofila, também facilita a oxidação dos ácidos graxos presentes, esse que por sua vez não é retirado durante o processo de sua obtenção (RUKIMINI; RAHARJO, 2010).

3.4 ÓLEO DE SOJA

O óleo de soja provém dos grãos de *Glycine max*, uma planta oleaginosa, amplamente difundida na indústria de alimentos, devido aos seus teores de proteínas e lipídios (MOSES, 2014). A extração da fração lipídica normalmente acontece através de extração com solvente hexano. Previamente à extração, os grãos de soja são tratados, sendo limpos, quebrados e moídos para facilitar a extração (CHENG, et al.; 2018). Após o contato com o solvente, é feita a dessolventização do mesmo, e o óleo extraído passa posteriormente por refino. A etapa de refino abrange a degomagem, neutralização, branqueamento e desodorização. O refinamento objetiva a retirada de compostos aromáticos, espessantes, pigmentos e a neutralização de ácidos graxos livres, que podem dar características indesejáveis ao produto (FARHOOSH; EINAFSHAR; SHARAYEI, 2009). A fração lipídica da soja corresponde de 15 a 20% de seu peso total (TODA; SAWADA; RODRIGUES, 2016). Em sua composição destacam-se os ácidos graxos saturados palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0), e insaturados na seguinte ordem: linoleico (C18:2), oleico (C18:1) e linolênico (C18:3) (PATIL, et al.; 2010).

3.5 OXIDAÇÃO EM ALIMENTOS

Óleos vegetais têm diversas finalidades na indústria de alimentos, podendo ser usados em processos de fritura, emulsões, composição de produtos de panificação, molhos e sopas (KAMAL-ELDIN, 2006). Por serem amplamente aplicados, sua estabilidade frente a oxidação lipídica é muito importante sensorialmente e nutricionalmente (FRANKEL, 1996). Essa oxidação está normalmente relacionada a degradação dos ácidos graxos de suas frações lipídicas.

Dessa forma, compostos voláteis como cetonas, aldeídos e álcoois são formados, ocasionando o surgimento de *off-flavors* (ROSS; SMITH, 2006). Esses produtos da reação podem ser percebidos olfativamente mesmo em baixas

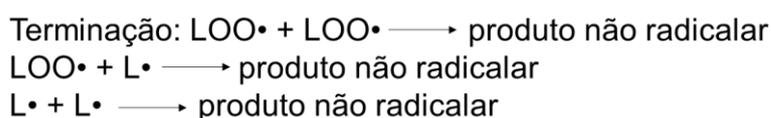
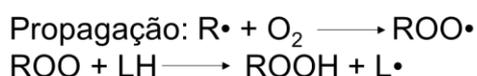
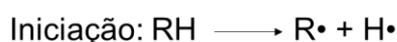
concentrações, caracterizando a rancidez, que diminui a aceitabilidade pelo consumidor (BÖTTCHER; STEINHÄUSER; DRUSCH, 2015). Entre os ácidos graxos encontram-se os ácidos graxos essenciais (AGE) que recebem esse nome porque precisam ser providos por fontes alimentícias, visto que não são sintetizados pelo metabolismo humano (KAUR; CHUGH; GUPTA, 2014). Pertencem a esse grupo os ácidos graxos da família ômega 3 e ômega 6. O consumo dessas substâncias beneficia a saúde, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares, cânceres e apresentando efeito anti-inflamatório (SAINI; KEUM, 2018; KAUR; CHUGH; GUPTA, 2014; RUBIO-RODRÍGUEZ et al.; 2009). Logo, a oxidação desses componentes demonstra uma perda nutricional importante nos alimentos.

Em óleos vegetais também ocorre a alteração de características físico-químicas, como o sabor e viscosidade (SANTOS; SANTOS; SOUZA, 2005). Diversos fatores influenciam a velocidade da reação de oxidação, entre eles: temperatura, exposição a luz UV, presença de íon metálicos, fotossensibilizadores e antioxidantes (CHOE; MIN, 2006; FRANKEL, 1991). Ela pode ocorrer por dois principais mecanismos: autooxidação e/ou fotooxidação.

3.5.1 Autooxidação

A autooxidação dos lipídios caracteriza-se por ser uma reação dividida em três fases: iniciação, propagação e terminação (Figura 2) (GARDNER, 1989).

Figura 2: Mecanismo da oxidação lipídica

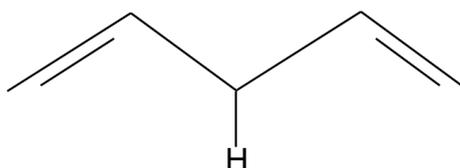


RH: ácido graxo; R·: radical alquil; H·: hidrogênio livre; ROO·: radical peroxil; ROOH: peróxido.
Fonte: Ahmed et al. (2016).

Na iniciação um átomo de hidrogênio é abstraído da estrutura de um ácido graxo (CHOE; MIN, 2006). Essa abstração irá depender da energia de dissociação da ligação entre carbono e hidrogênio presente na cadeia do ácido graxo (JOHNSON;

DECKER, 2015). Essa energia é enfraquecida por ligações duplas adjacentes a ela, logo ácidos graxos polinsaturados são mais susceptíveis a serem oxidados (BARDEN; DECKER, 2016). O hidrogênio do carbono metilênico é o mais facilmente abstraído, apresentando menor energia de dissociação (Figura 3) (SHAHIDI; ZHONG, 2010).

Figura 3: Hidrogênio localizado no carbono metilênico.

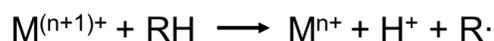


Fonte: O autor.

Após o hidrogênio ser retirado da cadeia, um radical alquil ($R\cdot$) é formado. Na propagação, o oxigênio triplet (3O_2) atmosférico liga-se ao radical alquil, formando um radical peróxil, $ROO\cdot$ (BERTON-CARABIN; ROPERS; GENOT, 2014). A molécula de ácido graxo estabiliza-se por ressonância, formando dienos e trienos conjugados. A formação de dienos e trienos é utilizada como método para verificação da degradação de óleos e gorduras (BARRIUSO; ASTIASARÁN; ANSORENA, 2013). O radical peróxil remove um átomo de hidrogênio de outro ácido graxo formando um hidroperóxido ($ROOH$) que se decompõe em radicais alcóxil ($RO\cdot$) e hidroxil ($\cdot OH$) (SHAHIDI; ZHONG, 2010). Dessa forma, os diferentes radicais formados continuam o processo de degradação das moléculas lipídicas. A terminação é o momento em que os radicais formados reagem entre si, gerando compostos estáveis e não radicalares, como cetonas e aldeídos, precursores de *off-flavors* (KOLANOWSKI; JAWORSKA; WEIßBRODT, 2007).

Outro fator influenciador na velocidade da reação de oxidação lipídica é a presença de íons metálicos, como o ferro e o cobre, comumente presentes em óleos brutos (DE LEONARDIS; MACCIOLA, 2002). Esses elementos aceleram as reações oxidativas por mecanismo de troca de elétrons (Figura 4), reagindo diretamente com os lipídios, gerando radicais livres e degradando hidroperóxidos (CHAIYASIT et al.; 2007).

Figura 4: Mecanismo de oxidação por íons metálicos



Fonte: Shahidi, Zhong, (2010).

Notas: $M^{(n+1)}$: metal de transição; $R\cdot$: radical alquil; H^+ : cátion; $ROO\cdot$: radical peróxil; $RO\cdot$: radical alcóxil; $\cdot OH$: ânion

3.5.2 Fotoxidação

A fotoxidação ocorre por meio da exposição do lipídio à luz visível ou UV na presença de substâncias fotossensibilizadoras. Essas substâncias absorvem energia luminosa podendo transferí-la para outro composto químico, como por exemplo a clorofila e riboflavina (YI et al.; 2015). Essa reação pode ser do tipo 1 ou 2. No tipo 1 o fotossensibilizador obtém energia suficiente para abstrair um hidrogênio da cadeia lipídica, formando um radical que reagirá com o oxigênio formando um hidroperóxido, ROOH (BRADLEY; MIN, 1992). Na reação do tipo 2 a energia do fotossensibilizador é transferida para o oxigênio triplet (3O_2) atmosférico, convertendo-o a seu estado eletronicamente excitado, o oxigênio singlet, 1O_2 (PATTISON; RAHMANTO; DAVIES, 2012). O oxigênio no seu estado fundamental apresenta dois elétrons desemparelhados nos seus orbitais de mais alta energia, já o oxigênio singlet não apresenta elétrons desemparelhados (MIN; LEE, 1999). Dessa forma, ele se torna uma molécula altamente reativa que adentra diretamente na cadeia do ácido graxo sem formar intermediários radiculares, também formando hidroperóxidos (MIN; BOFF, 2002). Em ambos os tipos de fotoxidação após a formação de hidroperóxidos, a degradação desses compostos ocorre pelo mesmo mecanismo que na autoxidação (CHOE; MIN, 2006).

3.5.3 Métodos de Aceleração Oxidativa em Alimentos

Acompanhar e avaliar o processo oxidativo de uma matriz alimentícia em condições ambiente normais levaria um longo período. Logo, diversos processos que

aceleram a oxidação são aplicados a fim de estimar a *shelf life* de um determinado produto, economizando tempo. Eles têm como objetivo simular as condições as quais o alimento comumente irá passar (ANTOLOVICH et al.; 2001). Entre esses métodos encontram-se, oxidação acelerada por irradiação de luz, micro-ondas, *Schaal Oven Test* e o uso do Rancimat.

Na oxidação acelerada por irradiação de luz, usualmente o alimento é acondicionado em uma câmara com uma fonte de luz UV (ERKAN; WANG; WANG, 2008; LUNA; MORALES; APARICIO, 2006). A irradiação de luz UV acelera o processo de foto-oxidação em lipídios, tendo sua energia absorvida por fotossensibilizadores presentes no alimento (YI et al.; 2015). Dessa forma, simula-se a oxidação que a luz irradiada provocaria ao longo da vida de prateleira de um determinado produto.

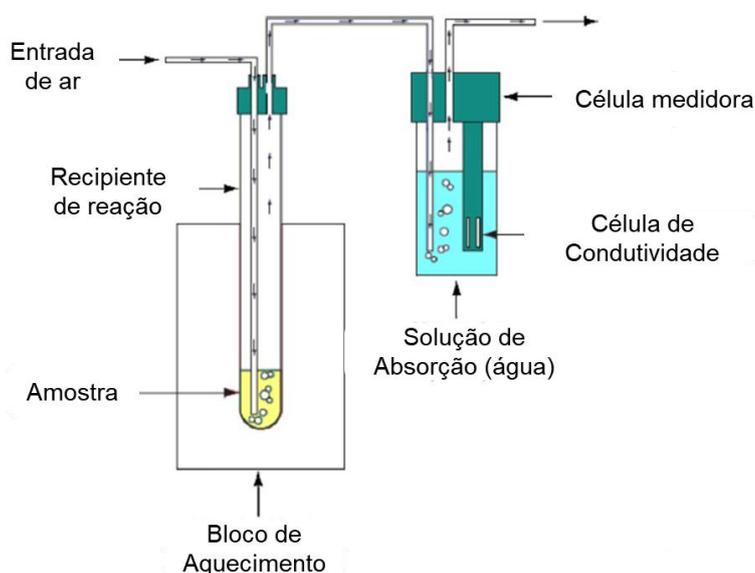
As micro-ondas são muito utilizadas no aquecimento doméstico de alimentos, assim como na secagem, pasteurização e assamento dos mesmos em processos industriais (OLIVEIRA; FRANCA, 2002). O aumento de temperatura em produtos alimentícios acelera o processo de oxidação lipídica (CHOE; MIN, 2006), logo no teste de oxidação acelerada em forno de micro-ondas amostras podem ser aquecidas variando-se o tempo de processo e potência do equipamento (VADIVAMBAL; JAYAS, 2007). O aumento da temperatura proporcionado por esse método deve-se a dois mecanismos: condução iônica e rotação de dipolo (MENÉNDEZ et al.; 2010). Na condução iônica os íons carregados positivamente rotacionarão na direção do campo elétrico gerado pelo forno de micro-ondas, enquanto íons negativos se moverão na direção oposta (INCHINGOLO; CARDENIA; RODRIGUEZ-ESTRADA, 2013). Na rotação de dipolo, moléculas com características dipolares, como a água, irão tentar se orientar em direção ao campo elétrico gerado (DATTA; DAVIDSON, 2000). Em ambos os casos, ocorre a colisão das moléculas e dessa forma a fricção entre elas produz calor, elevando a temperatura do produto (INCHINGOLO; CARDENIA; RODRIGUEZ-ESTRADA, 2013). A elevação de temperatura depende de fatores como a quantidade de água livre presente, forma geométrica do alimento e rotação do prato do forno de micro-ondas (CHANDRASEKARAN; RAMANATHAN; BASAK, 2013).

O *Schaal Oven Test* consiste no aquecimento da amostra em um forno ou estufa de maneira controlada em temperatura de 63 ± 5 °C ou 70 °C até que a rancidez do produto seja constatada (BANDYOPADHYAY; CHAKRABORTY; RAYCHAUDHURI, 2008). Para isso, o processo oxidativo é verificado por meio de

parâmetros como o índice de peróxido, condutividade e dienos e trienos conjugados (ANTOLOVICH et al.; 2001). É reportado que a cada dia em que um óleo permanece em *Schaal Oven Test* a 65 °C equivale a 1 mês de estoque a temperatura ambiente de 22 °C (ABOU-GHARBIA et al.; 1996).

Um método instrumental para estudo de estabilidade oxidativa de óleos e gorduras é o uso do Rancimat (Figura 5). O processo oxidativo é acelerado através do aquecimento da amostra sob fluxo de ar constante. Dessa forma, os ácidos graxos presentes são oxidados, formando produtos primários como os hidroperóxidos. Com o decorrer do tempo, a degradação desses ácidos graxos torna-se mais acentuada, gerando produtos secundários da oxidação, como ácidos orgânicos voláteis, entre eles o ácido fórmico (GARCÍA-MORENO et al.; 2013; JAIN; SHARMA, 2010). Esses compostos voláteis são arrastados pelo fluxo de ar até um recipiente com água destilada. A dissociação desses ácidos aumenta a condutividade elétrica da água, a qual é mensurada continuamente por um eletrodo acoplado (FARHOOSH; MOOSAVI, 2007).

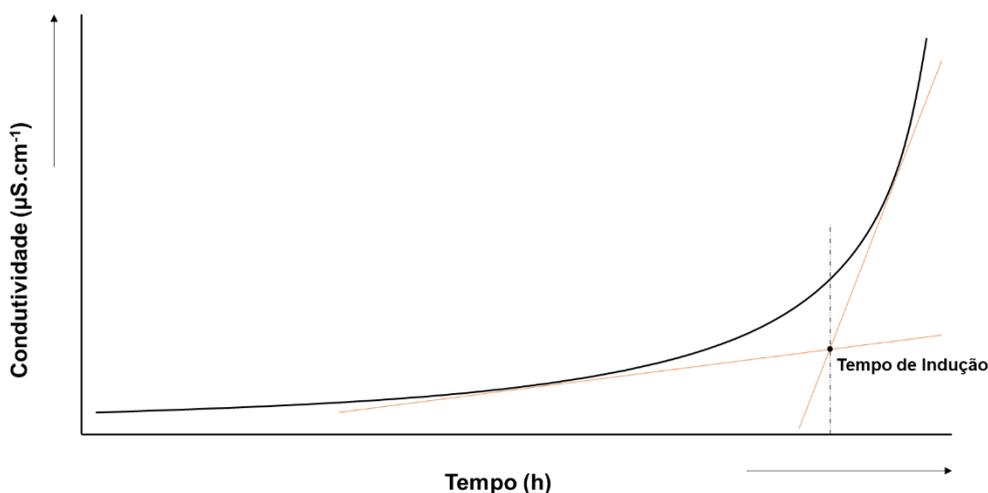
Figura 5: Esquema Rancimat



Fonte: Jain; Sharma. (2010)

O tempo em que a condutividade aumenta de forma rápida determina o índice de estabilidade oxidativa (IEO), ou seja, uma medida de resistência da amostra a oxidar (JAIN; SHARMA, 2010) (Figura 6). A taxa de fluxo de ar, massa da amostra e temperatura, são parâmetros de processo que podem influenciar na determinação do IEO (FARHOOSH, 2007).

Figura 6: Gráfico representativo de uma curva de tempo de indução pelo equipamento Rancimat



Fonte: O autor

3.6 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são substâncias capazes de inibir ou retardar o processo oxidativo em sistemas biológicos ou em alimentos (HALLIWELL et al.; 1995). Podem ser classificados em: primários, secundários, endógenos, exógenos, naturais e sintéticos. Os antioxidantes primários agem diretamente na estabilização de radicais livres, que são precursores do processo oxidativo, gerando espécies químicas menos reativas (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992). Os secundários têm ação em rotas alternativas contra a oxidação, podendo quelar íons metálicos, absorver radiação UV, decompor hidroperóxidos e recuperar a estabilidade dos antioxidantes primários, por meio da doação de prótons ou elétrons (GALANO et al.; 2016). Os antioxidantes exógenos provêm de uma fonte externa, podendo ter origem da ingestão de fontes alimentares como frutas, hortaliças, chás e sucos (BALASUNDRAM et al.; 2006). O organismo humano apresenta um sistema antioxidante endógeno para controle da formação de espécies reativas, sendo constituído por enzimas como a catalase e a superóxido dismutase, que previnem a formação do radical hidroxil ($\text{HO}\cdot$) e metabolizam outros compostos como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o ânion superóxido, $\text{O}_2^{\cdot-}$ (PIETTA, 2000; KARADAG; OZCELIK; SANER, 2009). Esse sistema endógeno também envolve mecanismos não enzimáticos, como a transferrina e ferritina, que são proteínas quelantes de íons de ferro (RIZZO et al.; 2010).

Em alimentos, a oxidação de lipídios é responsável pela diminuição da vida de prateleira de diversos produtos (BÖTTCHER; STEINHÄUSER; DRUSCH, 2015) como carnes (GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996), óleos vegetais e alimentos emulsionados (COUPLAND; MCCLEMENTS, 1996). Os óleos vegetais apresentam em sua composição substâncias com atividade antioxidante, entre elas os tococromanóis, fitoesteróis e carotenoides, fazendo parte de sua fração insaponificável (ABUZAYTOUN; SHAHIDI, 2006). Entretanto os carotenoides são geralmente removidos durante o processo de refino dos óleos (ROSSI et al.; 2001) e os tococromanóis são termolábeis e evaporam a altas temperaturas, logo são perdidos durante a fritura (MARMESAT et al.; 2010). Dessa forma, antioxidantes são adicionados aos alimentos para aumentar sua estabilidade durante o armazenamento e uso.

O antioxidante usado não deve ter alto custo, ser tóxico, alterar característica sensorial do produto e precisa ser efetivo a baixas concentrações e ser estável (SCHULER, 1990). Os antioxidantes sintéticos BHT, BHA, PG e TBHQ são os mais comumente utilizados para esse fim (SHAHIDI; ZHONG, 2010), apresentando bom desempenho no armazenamento de óleos vegetais (ALADEDUNYE; PRZYBYLSKI; MATTHAUS, 2017). Porém, essas substâncias são voláteis e podem perder sua estabilidade a temperaturas de frituras, sendo o TBQH o mais termorresistente (SANHUEZA; NIETO; VALENZUELA, 2000; MARMESAT et al.; 2010; SANTOS et al.; 2012). Além disso, estudos *in vivo* com animais sugerem que esses compostos podem apresentar efeitos carcinogênicos e danos ao DNA (OKUBO et al.; 1997; BOTTERWECK et al.; 2000). Dessa forma, buscam-se alternativas para substituir esses antioxidantes sintéticos, sendo uma delas o uso de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos derivados de plantas.

Os compostos fenólicos são derivados do metabolismo secundário das plantas (SEIGLER, 2012), sendo sintetizados pelas vias metabólicas da pentose fosfato, chiquimato e fenilpropanóide (ALASALVAR, 2001). São responsáveis muitas vezes por suas características sensoriais, como: cor, sabor e aroma (BENNET; WALLSGROVE, 1994), e atuam na defesa contra patógenos e predadores (AKULA; RAVISHANKAR, 2011). Quimicamente são definidos como substâncias que possuem ao menos um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas (OH), incluindo outros grupos funcionais (KIM; JEONG; LEE, 2003), podendo apresentar cadeias simples a estruturas mais complexas e polimerizadas (BRAVO, 1998). São encontrados

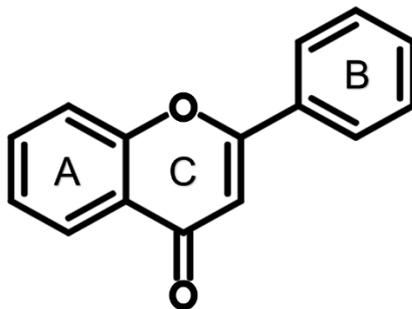
normalmente conjugados a mono ou polissacarídeos, também podendo estar presentes ésteres e ésteres metílicos (NARDINI; GHISELLI, 2004; BAXTER; HARBORNE; MOSS, 1998). Podem ser classificados em três diferentes classes de acordo com suas estruturas químicas: ácidos fenólicos, flavonoides e taninos (MANACH et al.; 2005; KING; YOUNG, 1999).

Os ácidos fenólicos são divididos em duas classes, os derivados do ácido cinâmico e os derivados do ácido benzoico (CLIFFORD, 2004). Os ácidos hidroxibenzoicos tem como estrutura básica um anel benzênico ligado a um grupo carboxílico e os ácidos gálico e elágico são os mais recorrentes em alimentos desse grupo (LAFAY; GIL-IZQUIERDO, 2008). Os ácidos hidroxicinâmicos apresentam um ácido propenóico ligado ao anel benzênico como estrutura base (CLIFFORD, 2000) e destacam-se em alimentos os ácidos cafeico e ferúlico dessa classe, sendo este último muito abundante em cereais (ANSON et al.; 2009).

Os taninos apresentam alto peso molecular, podendo ser divididos em hidrolisáveis e condensados (DEAVILLE et al.; 2007). Os hidrolisáveis apresentam um núcleo com um álcool polihídrico, como a glicose, e grupos hidroxilas (CHUNG et al.; 1998). São galotaninos quando esterificados parcialmente ou totalmente com ácido gálico e elagitaninos quando esterificados com ácido hexahidroxi-difênico (LARROSA et al.; 2010), e podem ter sua estrutura quebrada por ácidos, bases e enzimas (BUTLER, 1992; CHUNG et al.; 1998). Os taninos condensados são estruturalmente mais complexos que os hidrolisáveis, compostos principalmente por flavan-3-ols e flavan-4,3-diols polimerizados, são amplamente distribuídos em produtos como frutas, hortaliças e grãos (SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001).

O maior grupo dentre os compostos fenólicos são os flavonoides. Sua estrutura química padrão é uma fenilbenzopirona (Figura 7) ou seja, dois anéis aromáticos (A e B) ligados por uma cadeia de três carbonos em forma cíclica (C) (BALASUNDRAM et al.; 2006).

Figura 7: Estrutura química básica dos flavonoides



Fonte: O autor

O anel A é derivado da via do acetato/malonato e o B deriva-se da fenilalanina que provém da via do chiquimato (MERKEN; BEECHER, 2000). Variações na cadeia C e/ou na posição do anel B classificam os flavonoides em diversos subgrupos, entre eles encontram-se as flavonas, flavonóis, isoflavonas, flavanonas, antocianinas e antocianidinas (RAVISHANKAR et al.; 2013). Os compostos fenólicos exibem ação antioxidante que pode apresentar diferentes mecanismos associados à sua estrutura química (AMAROWICZ et al.; 2004). Quanto maior o número de hidroxilas na estrutura de um composto fenólico, maior sua ação antioxidante. Esse fato pode ser observado no ácido gálico trihidroxilado (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006) assim como em flavonoides de maneira geral (CAO et al.; 1997).

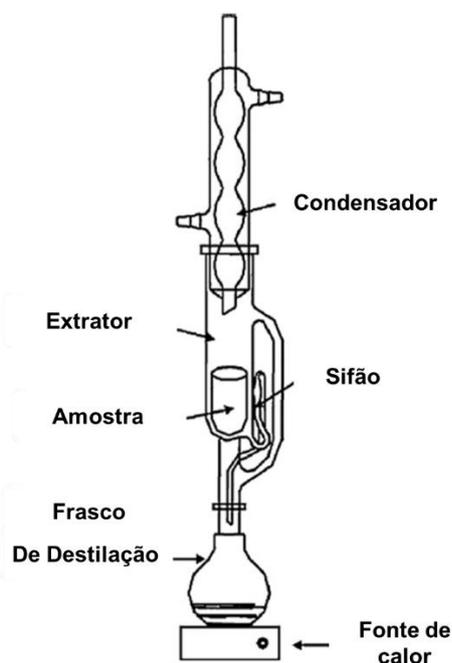
Em ácidos fenólicos, as posições das hidroxilas em relação ao grupo carboxila influenciam em seu potencial (ROBARDS et al.; 1999; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996). Por exemplo, quando a posição da hidroxila de um ácido mono hidroxibenzóico encontra-se em *orto* ou *para* em relação ao grupo carboxila no anel aromático, o composto não apresenta atividade antioxidante (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996). A concentração de compostos fenólicos em uma mesma espécie de planta pode variar devido a diversos fatores abióticos como a exposição a luz, composição do solo, disponibilidade de água e temperatura (COHEN; KENNEDY, 2010; PAVARINI et al.; 2012).

3.7 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

A extração é o primeiro passo para o estudo de compostos bioativos em matrizes vegetais, existindo diferentes métodos, podendo ser classificados em convencionais e não convencionais ou alternativos (ROCCHETTI et al.; 2019). O primeiro grupo normalmente tem como princípio a força de extração de um solvente,

aplicação ou não de calor e agitação, podendo encaixar-se nesse grupo as extrações por Soxhlet, hidrodestilação, maceração, infusão, digestão e decocção (AZMIR et al.; 2013, BELWAL et al.; 2018). O extrator de Soxhlet (Figura 8) consiste em um aparato, onde o solvente é aquecido até a ebulição no frasco de destilação. O vapor do solvente, por sua vez, chega ao condensador e goteja no extrator aonde a amostra se encontra. Quando o solvente chega a determinado volume, ele retorna ao frasco de destilação através de um sifão, ocorrendo a recirculação do processo, e ao final, o solvente deve ser separado dos compostos extraídos (DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Figura 8: Equipamento Soxhlet



Fonte: De Castro; Priego-Capote. (2010)

A hidrodestilação ocorre com o aquecimento de uma amostra com água em um balão. Os compostos voláteis chegam a um condensador e são separados em outro recipiente. Esse método de extração normalmente é utilizado para extração de óleos essenciais, que ao estarem cercados de água no momento do aquecimento, são protegidos de chegarem a temperaturas muito altas e para não se degradarem (AZIZ et al.; 2018). Ao extrair compostos por maceração, a amostra é fracionada em contato com solvente em recipiente fechado sob agitação constante, alguns exemplos desse processo: a infusão onde a agitação é feita em água quente ou fria, a digestão que é

a maceração com aquecimento brando e a decocção a qual a amostra é agitada em água em ebulição (SINGH, 2008; BELWAL et al.; 2018).

Os métodos alternativos de extração são considerados mais sustentáveis; tem como finalidade proporcionar o uso de um menor volume de solventes orgânicos, diminuir o tempo de processo, consumir menos energia, aumentar o rendimento e trabalhar em faixas menores de temperatura, aumentando a preservação de compostos bioativos (CHEMAT et al.; 2015). Entre eles encontram-se o uso de: campo elétrico pulsado, aquecimento por pulso ôhmico, extração auxiliada por micro-ondas, fluidos supercríticos e ultrassom (BARBA et al.; 2016).

Na extração com auxílio de campo elétrico pulsado, pulsos elétricos de moderada a alta intensidade são aplicados em uma amostra. Esses pulsos desestabilizam a membrana celular, de forma que as moléculas que a constituem separam-se de acordo com suas respectivas cargas, formando eletroporos que alteram a permeabilidade seletiva. Com a formação dessas aberturas, facilita-se a passagem de fluidos intracelulares para as regiões mais externas (GOETTEL et al.; 2013; GANEVA; GALUTZOV; TEISSIÉ, 2003). O aquecimento por pulso ôhmico, também consiste na passagem de corrente elétrica; entretanto, a amostra funciona como um resistor (CAPPATO et al.; 2017). Dessa forma, além da eletroporação (LEBOVKA et al.; 2005), ocorre a conversão de energia elétrica em energia térmica, ocasionando um aumento de temperatura que pode danificar a estrutura do material, facilitando a extração de compostos (EL DARRA et al.; 2013; CAPPATO et al.; 2017). A condutividade elétrica do material e a força do campo elétrico influenciam diretamente a performance do método; logo, materiais não condutores, como alimentos com alta proporção de gordura, são limitantes desse método (GAVAHIAN; FARAHNAKY, 2018).

A micro-ondas conseguem elevar a temperatura de um corpo por dois mecanismos: condução iônica e rotação de dipolo (MENÉNDEZ et al.; 2010). Na condução iônica os íons carregados positivamente rotacionarão na direção do campo elétrico gerado pelo forno de micro-ondas, enquanto íons negativos se moverão na direção oposta (INCHINGOLO; CARDENIA; RODRIGUEZ-ESTRADA, 2013). Na rotação de dipolo, moléculas com características dipolares, como a água, irão tentar se orientar em direção ao campo elétrico gerado (DATTA; DAVIDSON, 2000). Em ambos os casos, ocorre a colisão das moléculas, e dessa forma, a fricção entre elas produz calor, elevando a temperatura do produto (INCHINGOLO; CARDENIA;

RODRIGUEZ-ESTRADA, 2013). Para extrações, as micro-ondas normalmente são utilizadas em conjunto com outros métodos (VIAN et al.; 2005). Usa-se um solvente ou mistura de solventes que absorvam micro-ondas; dessa forma ele é aquecido, proporcionando uma transferência de massa dos compostos internos para o exterior junto com o aumento do gradiente da temperatura, otimizando a extração (VEGGI et al.; 2012). O uso de micro-ondas causa a evaporação a umidade de dentro de matrizes vegetais, ocasionando uma forte pressão a ser liberada. Dessa forma, parte da estrutura vegetal pode ser rompida, facilitando a transferência de massa dos solutos internos (AMEER; SHAHBAZ; KWON, 2017). Fatores como polaridade do solvente, tempo de processo, temperatura, potência das micro-ondas e interação da matriz da amostra com os compostos a serem extraídos influenciam diretamente no processo de extração (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000).

Quando uma substância atinge determinada temperatura ou pressão crítica, a qual perde-se a distinção entre um composto com características gasosas ou líquidas, ela recebe o nome de fluido supercrítico (YOUSEFI et al.; 2019). O fluido supercrítico possui viscosidade reduzida e maior difusividade, apresentando uma maior eficiência no transporte de solutos, conseguindo penetrar mais rapidamente em matrizes sólidas (DA SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016). Extrações utilizando esses fluidos acabam sendo mais rápidas, ocorrem em menores temperaturas, ausência de oxigênio e luz, favorecendo a preservação de compostos mais sensíveis a degradação (BELWAL et al.; 2018). O composto mais utilizado para esse fim é o dióxido de carbono (CO₂), por ser um gás de baixo custo, seguro, seus pontos críticos são moderados (31,2 °C e 73,8 bar) e é gasoso a temperatura ambiente, sendo facilmente separado dos compostos extraídos (SÁNCHEZ-CAMARGO et al.; 2019). O CO₂ é apolar, então cossolventes mais polares são usados em conjunto, em menor concentração, para extração de uma faixa maior de compostos (GALLEGO; BUENO; HERRERO, 2019).

O ultrassom compreende ondas de frequência acima da faixa de som audível ao ser humano (20-20.000 Hz) (LEIGHTON, 2007). Quando propagadas em meio líquido induzem as moléculas presentes a compressões e rarefação; as diversas mudanças de pressões formam bolhas de ar, que se expandem e implodem, caracterizando o fenômeno chamado de cavitação (TIWARI, 2015). Para que a cavitação ocorra é necessário um meio líquido, um gerador de energia e um transdutor para converter energia elétrica, cinética ou magnética em energia acústica (PICÓ,

2012). Essas bolhas colapsam de forma violenta, podendo gerar temperaturas e pressões muito altas a nível microscópico (5000 K e 1000 atm) (SORIA; VILLAMIEL, 2010). O ultrassom pode ser usado em processos de extração de compostos de fontes vegetais. A cavitação pode fragmentar e/ou danificar a estrutura de uma matriz vegetal. Além disso, os fenômenos de sonoporação e efeito sonocapilar podem ocorrer; no primeiro há uma mudança de permeabilidade das membranas celulares e o segundo facilita a passagem de líquidos através de canais e poros (CHEMAT et al.; 2017). Todos esses efeitos tendem a facilitar a difusividade de um determinado solvente através de uma amostra, aumentando o rendimento da extração e diminuindo o tempo de processo (CHEMAT et al.; 2017; AWAD et al.; 2012). Em estudo conduzido por Xu et al. (2016), comparou-se a extração de compostos bioativos de *Limonium sinuatum* pelos métodos de ultrassom, maceração e Soxhlet. A extração por ultrassom foi mais eficiente se comparado ao Soxhlet, devido a perda de compostos pela alta temperatura do processo. A maceração obteve um rendimento da extração ligeiramente maior que a conduzida pelo ultrassom, entretanto o tempo de processo realizado foi de 24 horas, contra 9,8 min do ultrassom. Em outra pesquisa, feita por He et al. (2016), quantificou-se fenólicos totais e antocianinas totais de mirtilo (*Vaccinium ashei*) por maceração e ultrassom. Ambos os métodos extraíram os mesmos compostos, entretanto o ultrassom apresentou melhores níveis de extração. Os autores Kumar e Beneriee (2019) extraíram conteúdo lipídico de biomassa de leveduras oleaginosas (*Trichosporon sp.*), utilizando ultrassom, solvente binário e Soxhlet. O ultrassom mostrou-se mais eficiente na quantidade de lipídio extraído e no tempo de processo. Uma das justificativas dos autores é que os outros métodos agem por difusão do solvente e não por desestabilização das células da levedura, que ocorre devido ao efeito da cavitação, liberando os lipídios retidos nas estruturas celulares mais facilmente.

3.8 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DE MISTURAS

O planejamento experimental é uma abordagem sistêmica para a aplicação de métodos estatísticos que visa melhorar parâmetros de processo (BURUK SAHIN; AKTAR DEMIRTAŞ; BURNAK, 2016). As variáveis que influenciam o desempenho de um experimento podem ser classificadas em: variáveis de processo ou de mistura. A variação nos níveis de ambos os tipos, influencia no resultado do experimento,

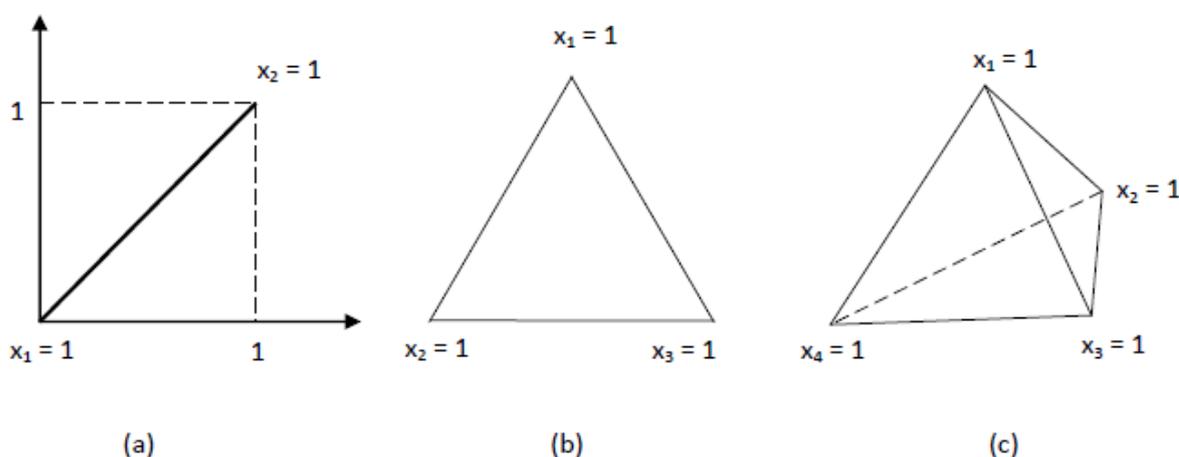
entretanto uma variável de processo exerce uma influência individual, podendo ter seu nível variado independente de outras variáveis de processo (COSCIONE; ANDRADE; MAY, 2005). Variáveis de mistura são interdependentes, pois seu efeito correlaciona-se com a proporção das demais variáveis de mistura. Dessa forma, o nível desse tipo de variável não pode ser alterado sem levar em consideração a proporção dos demais componentes do experimento (CORNELL, 2002). A interação dessas variáveis deve satisfazer a Equação 1 (PAL; MNADAL, 2008; COSCIONE; ANDRADE; MAY, 2005):

$$\sum_{i=1}^q X_i = X_1 + X_2 + \dots + X_q = 1 \quad (1)$$

Onde q é o número de componentes da mistura, X_i são os componentes e o somatório dos componentes deve ser igual a 1 ou 100%, demonstrando a interdependência entre eles.

Uma forma de representar o resultado desse tipo de experimento é por meio da superfície de resposta. E essa metodologia estatística é utilizada para analisar a influência das diferentes proporções dos componentes de uma mistura na resposta de um experimento, com o objetivo de otimização (DEJAEGHER; VANDER HEYDEN, 2011). Uma mistura pode ser composta por dois componentes (binária), três (terciária), quatro (quaternária) ou apresentar mais componentes (Figura 9).

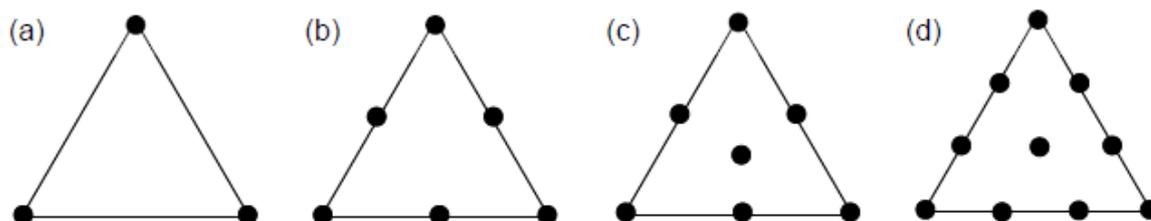
Figura 9: Representações gráficas de planejamento de (a) uma mistura binária, (b) uma mistura terciária e (c) uma mistura quaternária



Fonte: Novaes et al. (2018).

Um planejamento de misturas pode seguir diferentes modelos estruturais, que definem a quantidade mínima de experimentos a serem realizados; esses modelos são: linear, quadrático, cúbico especial e cúbico completo (ERIKSSON; JOHANSSON; WIKSTRÖM, 1998) demonstrados na Figura 10.

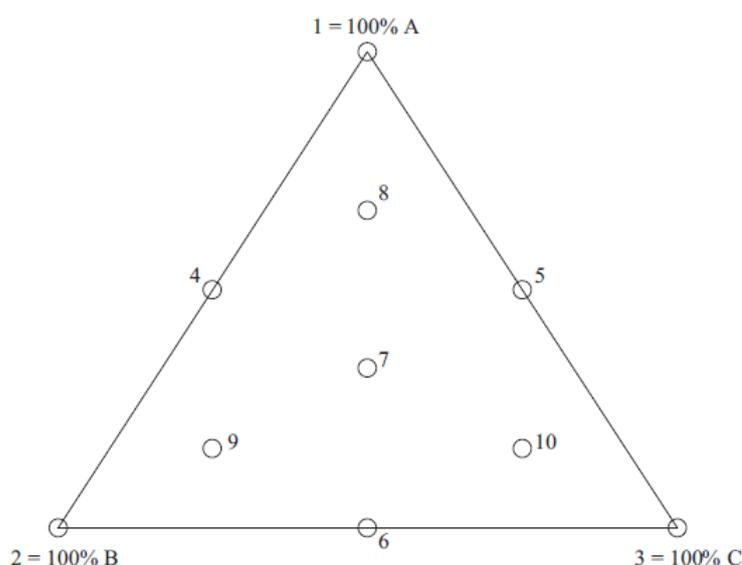
Figura 10: Representação de modelos experimentais de misturas terciárias: (a) linear, (b) quadrático, (c) cúbico especial e (d) cúbico completo



Fonte: Novaes et al.; (2018).

Os modelos experimentais podem ser do tipo simplex, simplex centroide e simplex centroide expandido (DEJAEGER; VANDER HEYDEN, 2011). Os experimentos realizados sob simplex centroide ou expandido apresentam pontos centrais onde misturas são compostas por proporções de todos os componentes estudados (Figura 11).

Figura 11: Representação de um modelo experimental simplex centroide expandido de uma mistura terciária



Fonte: Dejaegher, Vander Heyden (2011).

A escolha do planejamento depende do número de componentes da mistura, interações entre eles a serem analisadas, complexidade do modelo, validação estatística e viabilidade do procedimento (NOVAES et al.; 2018).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATÉRIA PRIMA

As folhas de *Pereskia aculeata* (Ora-pro-Nóbis) (OPN) foram obtidas de produtor rural da região dos Campos Gerais. Chá verde (CV) e chá branco (CB) (*Camellia sinensis*) foram obtidos desidratados no mercado local, em Ponta Grossa – PR, Brasil (umidade $8,07 \pm 0,25$ e $8,61 \pm 0,19$ g.100g⁻¹, respectivamente, por balança de infravermelho *Sartorius Moisture Analyzer Model MA35*, 110 °C.15 min⁻¹), assim como o azeite de oliva extravirgem (acidez máxima 0,5%; índice de peróxido ≤ 20 mEqO₂.kg⁻¹; extinção específica máxima no ultravioleta, $K_{270} \leq 0,22$, $K_{232} \leq 2,50$, $\Delta K \leq 0,01$, valores descritos na embalagem do produto) e o óleo de soja refinado tipo 1, sem adição de antioxidantes.

As folhas de *Pereskia aculeata* foram lavadas e sanitizadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio (200 mg.kg⁻¹) por 10 min. Em seguida foram secas em estufa de circulação e renovação de ar (Tecnal, TE 394/1) a 60 °C (Umidade = 5,12 g.100g⁻¹). Depois de secas, as folhas foram moídas em moinho de facas (Tecnal/Tecmill TE-633) e armazenadas em embalagem de vidro devidamente fechada e acondicionada à temperatura ambiente ao abrigo da luz.

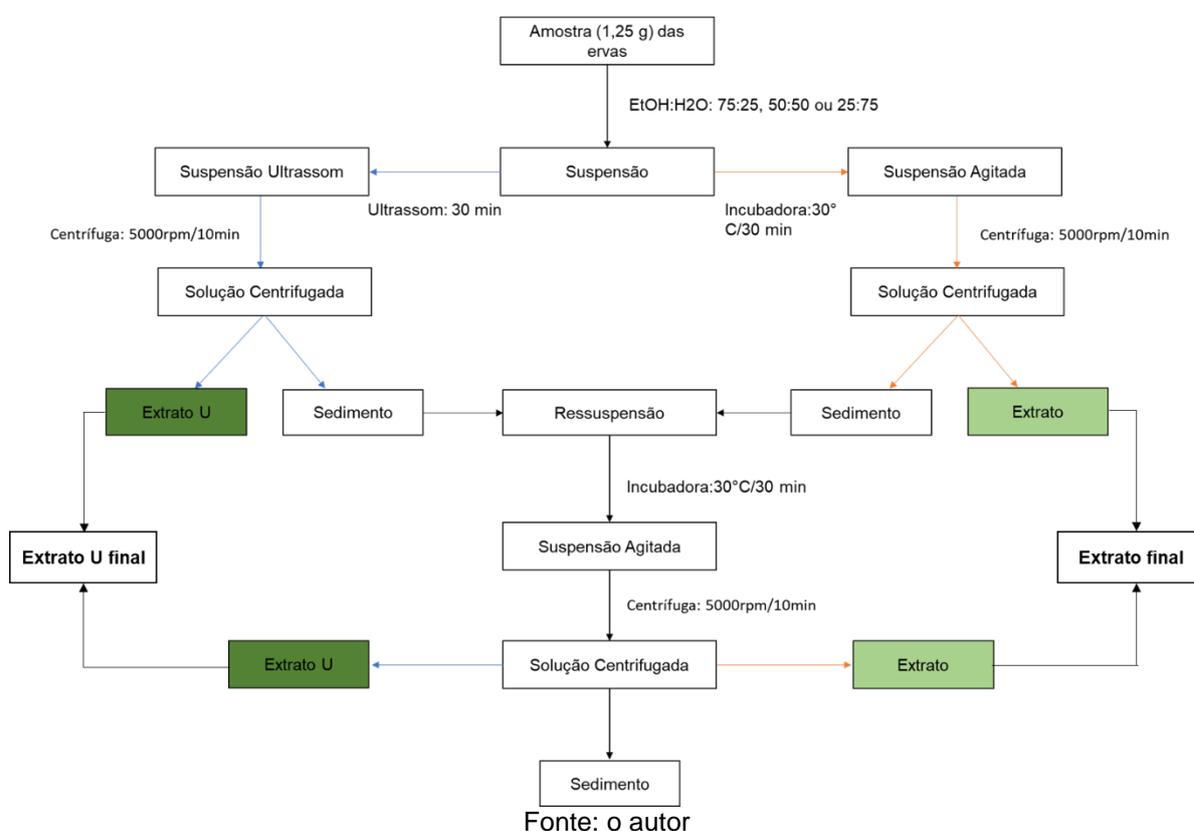
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

4.2.1 Obtenção dos extratos vegetais

Os extratos foram obtidos a partir dos métodos de extração modificados de Guandalini, Rodrigues e Marczak (2019) e Santos et al. (2012) com a combinação dos solventes etanol e água nas proporções de 75:25, 50:50 e 25:75 (v/v) (Figura 12). As plantas secas (OPN, CV e CB) foram trituradas, moídas em moinho analítico e peneiradas em peneira de 20 Mesh. Foram pesados 1,25 g dessas amostras, em erlenmeyer, e adicionou-se 25 mL dos solventes nas diferentes proporções. As extrações foram realizadas por dois métodos distintos. No primeiro, a amostra com solvente passou por um pré-tratamento em banho ultrassônico (Unique, USC 1400, 40 kHz) por 30 min a temperatura ambiente. Após 30 min, o extrato foi centrifugado por 10 min a 2795 x.g (5000 rpm) e o sobrenadante (S1) separado do precipitado. O

precipitado foi ressuspensão nas mesmas proporções dos solventes prévios e agitado por 30 min em incubadora (Shaker refrigerada NT 714, Nova Técnica) a 30 °C. Novamente, o extrato foi centrifugado e seu sobrenadante (S2) foi misturado com S1 e armazenados em tubo Falcon em freezer a -18 °C. O precipitado foi então descartado. No segundo método a etapa inicial do banho ultrassônico foi substituída por agitação em incubadora por 30 min a 30 °C e o restante do processo de extração seguiu conforme o primeiro método. Os extratos obtidos em ambos os métodos foram armazenados em freezer a -18 °C.

Figura 12: Fluxograma do processo de extração



*Nota: Extrato U refere-se à extração proveniente do banho ultrassônico

4.3 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada pelo método descrito por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós (1999). Um mililitro de extrato foi adicionado a 1 mL de etanol 95%, 5 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu 1N. Após 5 min, foi adicionado 1 mL de carbonato de sódio 5% (Na_2CO_3), permanecendo em repouso durante 60 min para reação, à temperatura ambiente. A

quantificação dos compostos fenólicos foi realizada a partir da leitura de absorbância em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1240, a 725 nm, utilizando curva padrão de ácido gálico ($10 - 100 \mu\text{g.mL}^{-1}$) em etanol 95%.

4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.4.1 Inibição do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

Para avaliar a capacidade dos extratos das ervas sequestrarem o radical DPPH• foi utilizada a metodologia modificada de Cervato et al. (2000), de acordo com Shetty et al. (2005). Três mililitros de DPPH 60 μM em etanol foram adicionados a 1 mL de extrato hidroalcoólico e incubados à temperatura ambiente por 15 min. Foi realizada leitura de absorbância em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1240, à 517 nm. A atividade antioxidante foi expressa em $\mu\text{mol Trolox.L}^{-1}$ (curva de calibração de Trolox de 2,5 a 100 $\mu\text{mol.L}^{-1}$).

4.4.2 Teste do radical ABTS•+ (ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico)

O método consiste em avaliar a capacidade que os compostos presentes nos extratos das ervas apresentam em capturar o radical ABTS•+ pelo método descrito por Re et al. (1999). Primeiramente foram preparadas soluções estoque ABTS (7mM) e $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (2,46 mol.L^{-1}), misturou-se ambas a uma proporção de 1:0,5, respectivamente. A solução permaneceu estocada em reação por 16 horas, para obtenção do radical ABTS•+. Após esse período, 4 mL de ABTS•+ foram diluídos em 200 mL de água destilada. Em seguida, 100 μL de amostra dos extratos hidroalcoólicos foram misturados com 1,4 mL de solução ABTS•+ diluída, reagindo por 6 min. Foi realizada leitura de absorbância em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1240, à 714 nm. A atividade antioxidante foi expressa em $\mu\text{mol Trolox.L}^{-1}$ (curva de calibração de Trolox de 2,5 a 100 $\mu\text{mol.L}^{-1}$).

4.5 ESTABILIDADE OXIDATIVA

4.5.1 Planejamento de misturas

Para avaliar o efeito antioxidante dos extratos hidroalcoólicos, foi realizado um planejamento de misturas simplex centroide, totalizando 7 experimentos (Tabela 1). Os extratos utilizados nesse planejamento, foram escolhidos de acordo com os resultados de teor de compostos fenólicos e solventes utilizados e liofilizados em liofilizador modelo LD 1500 (Terroni) previamente. Dessa forma, eles foram ressuspensos em 25 mL de etanol e adicionados puros ou em mistura, de acordo com o planejamento, a uma concentração de 4% sob o peso total das amostras lipídicas (azeite de oliva e óleo de soja).

Tabela 1. Delineamento experimental para avaliação da estabilidade oxidativa da matriz lipídica adicionada de extratos hidroalcoólicos de chá verde, chá branco e ora-pro-nóbis.

Ensaio	Variáveis codificadas*		
	X1	X2	X3
1	1	0	0
2	0	1	0
3	0	0	1
4	1/2	1/2	0
5	1/2	0	1/2
6	0	1/2	1/2
7	1/3	1/3	1/3

Notas: * X1: extrato hidroalcoólico de ora-pro-nóbis; X2: extrato hidroalcoólico de chá verde; X3: extrato hidroalcoólico de chá branco.

Os controles consistiram na matriz lipídica sem adição de antioxidantes e adicionada do antioxidante sintético BHT na concentração de 100 mg.kg⁻¹(BRASIL, 1988). Todas as amostras, adicionadas ou não de antioxidantes, foram submetidas ao teste de oxidação acelerada por Rancimat.

4.5.2 Ensaio Rancimat

A estabilidade oxidativa das matrizes lipídicas (óleo de soja e azeite de oliva) foi analisada através de equipamento Rancimat (893 Professional Biodiesel Rancimat, Metrohm). Duplicatas de 3,0±0,1 g de amostras de ambos os óleos, foram adicionadas

de 4% dos extratos vegetais de Chá verde, Chá Branco e/ou Ora-pro-Nóbis, assim como o controle e amostras adicionadas de antioxidante sintético BHT. As amostras foram inseridas nos tubos de reação e sujeitas à oxidação acelerada por aumento de temperatura até $110,0 \pm 0,9$ °C sob fluxo de ar de 10 L.h^{-1} . Os compostos voláteis provenientes da oxidação das amostras são transportados pelo fluxo de ar até a célula condutimétrica, previamente imersa em água ultrapura, a qual mede a condutividade elétrica da água continuamente. O resultado da análise é dado pelo tempo de indução, em forma de gráfico, sendo ele, o ponto de intersecção entre a tangente horizontal (condutividade, $\mu\text{S.cm}^{-1}$) e a vertical (tempo, h). Nessa intersecção, ocorre o início da propagação da reação de oxidação do óleo, devido ao aumento da condutividade elétrica da água, influenciada pelo aumento da concentração dos compostos voláteis provenientes da oxidação (TINELLO et al.; 2018).

4.6 ANÁLISE DE CUSTO ESTIMADO

O custo estimado na obtenção e aplicação dos extratos de *Pereskia aculeata* (ora-pro-nóbis) e *Camellia sinensis* (chá verde e chá branco) foi calculado levando em consideração o preço do quilo das plantas, preço do litro dos solventes utilizados e aplicação em 1 kg de amostra de matriz lipídica. Desconsiderou-se custo energético para obtenção dos extratos e foi feita comparação com o valor necessário para aplicação de antioxidante sintético BHT.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos neste trabalho foram expressos como média seguida do desvio padrão amostral. A homocedasticidade foi verificada pelo teste de Levene e as diferenças significativas das médias entre os tratamentos foram avaliadas utilizando análise de variância (ANOVA), seguido de teste de Fisher LSD ($p < 0,05$). O efeito das variáveis independentes (extratos hidroalcoólicos e suas misturas) na resposta dependente (tempo de indução) foi avaliado por metodologia de superfície de resposta (MSR). Os modelos matemáticos foram propostos a partir da regressão múltipla para cada resposta (Statistic® 8.0).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Foram testadas diferentes proporções e misturas de solvente etanol e água (75:25, 50:50 e 25:75), com ou sem uso de ultrassom, na extração de compostos fenólicos das matrizes vegetais, chá verde e chá branco (*Camellia sinensis*) e ora-pro-Nóbis (*Pereskia aculeata*).

Os extratos de chá verde (CV) apresentaram maior teor de fenólicos totais e melhores resultados nos testes de atividade antioxidante de forma geral, se comparados aos extratos de chá branco (CB) e ora-pro-nóbis (OPN) (Tabela 2). A *Camellia sinensis* é amplamente conhecida por seu elevado teor de compostos fenólicos e potencial antioxidante, segundo a literatura. Embora CV e CB provenham da mesma planta, o último provém de folhas e bulbos mais jovens. Em estudo realizado por Rusak et al. (2008), extrações de chá verde e branco foram realizadas variando-se tempo (5, 15 e 30 min) e solventes (água a 80 °C, água a 80 °C + 5 mL de suco de limão, etanol 10, 40 e 70%), observou-se o menor teor de compostos fenólicos totais e flavonóides do chá branco se comparado ao chá verde em todos os ensaios, exceto com a adição de suco de limão a água, o qual não houve diferença significativa. Entretanto, em estudo realizado por Zielinski et al. (2015), onde investigou-se a otimização da extração de chás verde, branco e preto e suas misturas binárias e ternárias, a formulação com 100% de chá branco apresentou o maior teor de compostos fenólicos e potencial antioxidante em extração com água destilada a 80 °C por 15 min.

Tabela 2. Resultados de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos de chá verde sem ultrassom (CV) e com ultrassom (CVU) e chá branco sem ultrassom (CB) e com ultrassom (CBU) em diferentes proporções dos solventes etOH:H₂O (1 = 75:25, 2= 50:50 e 3 = 25:75).

AMOSTRAS	Fenólicos Totais (mg GAE.g ⁻¹)	Inibição DPPH· (µmol Trolox.L ⁻¹)	Inibição ABTS ⁺ ·(µmol Trolox.L ⁻¹)
CV1	4,51 ± 0,02 ^a	38552,42 ± 1734,77 ^c	1167,72 ± 4,97 ^d
CV2	4,43 ± 0,26 ^a	44211,31 ± 229,49 ^a	1141,51 ± 9,04 ^e
CV3	3,86 ± 0,02 ^c	44311,46 ± 541,68 ^a	1244,96 ± 19,55 ^a
CVU1	4,30 ± 0,02 ^{a, b}	44712,09 ± 625,48 ^{a, b}	1191,63 ± 8,08 ^c
CVU2	4,19 ± 0,04 ^b	45613,51 ± 770,95 ^a	1215,08 ± 10,35 ^b
CVU3	4,31 ± 0,11 ^{a, b}	43660,44 ± 1312,59 ^b	1206,34 ± 6,01 ^{b, c}
CB1	3,61 ± 0,06 ^c	32242,52 ± 1022,63 ^b	1265,19 ± 6,94 ^{a, b}
CB2	3,67 ± 0,02 ^b	22026,48 ± 0,41 ^e	1237,14 ± 6,21 ^b
CB3	3,65 ± 0,02 ^{b, c}	29287,88 ± 780,65 ^d	1263,35 ± 2,87 ^{a, b}
CBU1	3,79 ± 0,00 ^a	31291,02 ± 378,08 ^{b, c}	1246,34 ± 9,04 ^b
CBU2	3,59 ± 0,01 ^{c, d}	30840,31 ± 229,49 ^c	1234,85 ± 24,72 ^b
CBU3	3,54 ± 0,07 ^d	35197,15 ± 770,95 ^a	1269,33 ± 2,10 ^a

Nota: Letras iguais na mesma coluna para cada chá individualmente não apresentam diferença significativa (Fischer LSD, p > 0,05).

O extrato CV3, com maior proporção de água e sem aplicação de ultrassom, apresentou o menor valor de compostos fenólicos totais dentre os extratos de CV, porém maiores resultados nos testes antioxidantes de DPPH· e ABTS⁺·, havendo diferença estatística em todos os resultados de sua contraparte com aplicação de ultrassom (CVU3).

Para os extratos de CB, o extrato também com maior proporção de água, mas com aplicação de ultrassom (CBU3), obteve menor teor de compostos fenólicos totais e maior atividade antioxidante nos testes *in vitro* (Tabela 2).

Uma maior quantidade de fenólicos, não significa uma maior atividade antioxidante, visto que a estrutura dos compostos extraídos está intimamente ligada a seu potencial antioxidante, assim como o meio reativo e o radical livre em questão (SHAHIDI, 2015). Na *Camellia sinensis* a presença e quantidade das catequinas influenciam diretamente seu potencial antioxidante, visto que esses são os principais compostos fenólicos em sua composição. As catequinas majoritárias são: epicatequina (EC), epigallocatequina (EGC), galato de epicatequina (ECG) e galato de epigallocatequina (EGCG), em sua ordem crescente de atividade antioxidante

(GRAMZA; KORCZAK, 2005). Em estudo realizado por Unachukwu et al. (2010) comparou-se o teor de catequinas totais de 8 amostras comerciais de chá branco com 19 amostras de chá verde.; foi observado que de modo geral o chá verde apresentou maior teor de catequinas e maior atividade antioxidante em testes *in vitro*. A quantidade desses compostos pode variar devido a fatores externos como temperatura, visto que em Xiang et al. (2021), mudas de *Camellia sinensis* foram cultivadas em diferentes temperaturas (15, 20, 25 e 30 °C), sendo observado um aumento de catequinas simples e esterificadas conforme a temperatura do tratamento aumentava. Assim, as condições as quais essas plantas foram previamente expostas, pode ser um fator de impacto nos teores de compostos bioativos.

Em estudo conduzido por Hu et al. (2016) comparou-se o teor de catequinas extraídas do chá verde em diferentes proporções de solvente etanol:água (0:100, 25:75, 50:50, 75:25, 100:0) e diferentes tamanhos de partículas das folhas do chá (8, 45 e 100 Mesh). Foi constatado uma menor extração de catequinas nos solventes de água e etanol absolutos ($65,21 \pm 1,97$ e $3,34 \pm 0,24$ mg.g⁻¹, respectivamente), assim como nas partículas maiores de 8 Mesh. O maior teor de catequinas foi obtido a 100 Mesh com solvente na proporção 50:50 ($147,68 \pm 1,14$ mg.g⁻¹). Eles também avaliaram a solubilidade da catequina EGCG (epigalocatequina galato) presente na composição da *Camellia sinensis*, sendo ela mais solúvel no etanol absoluto ($76,80 \pm 1,73$ g.100g⁻¹).

Para a ora-pro-nóbis (Tabela 3), os resultados de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foram inferiores aos dos chás. Entre os extratos, as amostras com aplicação de ultrassom não apresentaram diferença significativa se comparadas a suas contrapartes sem ultrassom. Os extratos OPN2 e OPNU2, com proporção etOH:H₂O de 50:50, obtiveram os maiores resultados de fenólicos totais.

O ultrassom tem como finalidade a quebra das estruturas micro celulares das plantas, para facilitar a penetração do solvente, podendo ocasionar uma maior extração de compostos. Regra essa que não foi observada nas amostras de chás branco e verde. O efeito do ultrassom sobre a amostras vegetais, dependerá de fatores como a frequência usada, tempo de exposição e estrutura particular de cada planta (TOMA et al.; 2001; XU, et al.; 2017). Em estudo realizado por Cruz et al. (2021), foi relatada atividade antioxidante em extratos de folhas de *Pereskia aculeata*, assim como uma mistura de proporção 60:40 (H₂O:etOH) para otimização da extração de compostos fenólicos (64 mg GAE.g⁻¹). Sendo essa muito próxima da composição

do solvente que apresentou melhor teor de fenólicos totais no presente estudo, 50:50 para as amostras OPN2 e OPNU2. A composição de solventes foi próxima, porém o teor de compostos fenólicos totais foi muito superior, podendo ser atribuída a diferença dos parâmetros de extração do estudo, visto que as folhas secas de *Pereskia aculeata* passaram por extração a 45 °C por 30 min, na proporção de 1:20 de massa de amostra por massa de solvente. Além disso, nesse mesmo estudo foi relatado pela primeira vez os antioxidantes: ácido chicórico, e isômeros dos ácidos cafeoil-hexárico e coumaroil-hexárico em folhas de ora-pro-nóbis.

Tabela 3. Resultados de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos de ora-pro-nóbis sem ultrassom (OPN) e com ultrassom (OPNU) em diferentes proporções dos solventes etOH:H₂O (1 = 75:25, 2= 50:50 e 3 = 25:75).

AMOSTRAS	Fenólicos Totais (mg GAE.g ⁻¹)	Inibição DPPH· (µmol Trolox.L ⁻¹)	Inibição ABTS ⁺ ·(µmol Trolox.L ⁻¹)
OPN1	0,147 ± 0,006 ^c	1303,44 ± 18,96 ^a	49,06 ± 0,27 ^b
OPN2	0,192 ± 0,004 ^a	757,58 ± 20,85 ^e	50,74 ± 0,12 ^a
OPN3	0,181 ± 0,004 ^b	1053,04 ± 14,45 ^c	46,15 ± 0,17 ^d
OPNU1	0,143 ± 0,004 ^c	418,72 ± 10,42 ^f	49,06 ± 0,21 ^b
OPNU2	0,191 ± 0,004 ^a	1004,64 ± 11,56 ^d	46,66 ± 0,35 ^{c, d}
OPNU3	0,181 ± 0,004 ^b	1139,85 ± 18,96 ^b	46,44 ± 0,11 ^{c, d}

Nota: Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa (Fischer LSD, p > 0,05).

Teoricamente o ultrassom deveria ter aumentado a permeabilidade do solvente através da estrutura das plantas de modo facilmente observável (SHIRSATH; SONAWAN; GOGATE, 2012). Entretanto, de modo geral, a utilização de banho ultrassônico não afetou de forma significativa a extração de compostos fenólicos em nenhum dos extratos estudados. Além de possivelmente aumentar o rendimento, outro efeito relatado no uso de ultrassom é a extração dos compostos em menor tempo, efeito esse que não foi testado no presente estudo (LIEU; LE, 2010). Em Horžić et al. (2012), foi comparada a eficácia da extração de compostos fenólicos do chá amarelo, outro produto derivado da *Camellia sinensis*, com banho ultrassônico e probe ultrassônico. O probe se mostrou mais eficiente ao extrair mais compostos fenólicos nas mesmas condições que o banho, sugerindo-se que o modo que o ultrassom é aplicado no teste, também influencia na extração de componentes bioativos.

5.2 TESTE DE OXIDAÇÃO ACELERADA RANCIMAT

Os extratos escolhidos para o planejamento de misturas e uso no teste do Rancimat, foram para os chás, o CVU1 e CBU1, ambos com uso de ultrassom e com os maiores resultados de compostos fenólicos totais. Para Ora-pro-Nóbis, optou-se pelo OPN1, que embora tenha tido os menores resultados de fenólicos totais, apresenta a mesma composição de solventes que os extratos de chá (etOH:H₂O/75:25), além disso durante a liofilização dos extratos com maior teor de água, formou-se uma mucilagem, não ocorrendo a liofilização de modo adequada.

Nas Tabelas 4 e 5, estão apresentados os resultados do teste do Rancimat realizado em amostras de azeite de oliva extravirgem e óleo de soja respectivamente. Todas as amostras adicionadas de extratos apresentaram um maior tempo de indução a oxidação se comparadas às adicionadas do antioxidante sintético BHT e a amostra controle (sem adição de antioxidantes). Em pesquisa realizada por Santos et al. (2012), os antioxidantes sintéticos TBHQ, BHA e BHT apresentaram uma menor resistência térmica, se comparados aos antioxidantes naturais α -tocoferol, ácido cafeico e ácido ferúlico, ao terem o início de sua degradação térmica a temperaturas inferiores a 100 °C, podendo indicar uma baixa eficiência na proteção de óleos sob estresse térmico.

O azeite de oliva adicionado de extrato puro de chá branco (CB), obteve o maior tempo de indução junto com a mistura de chá verde com chá branco (CVCB). O extrato isolado de ora-pro-nóbis (OPN), apresentou o menor tempo de indução se comparado aos outros extratos puros.

Tabela 4. Resultados do tempo de indução pelo teste de oxidação acelerada Rancimat nas amostras de azeite de oliva extravirgem dos extratos puros (CV, CB e OPN), misturas binárias (CVCB, CVOPN, CBOPN), terciária (CVCBOPN), antioxidante sintético (BHT) e amostra sem adição de antioxidante (Controle)

AMOSTRAS	Tempo de Indução (h)	Aumento no tempo de indução (%)*
CV	28,71±0,003 ^b	139,25
CB	29,05±0,002 ^a	142,08
OPN	21,23±0,006 ^f	76,92
CVCB	29,07±0,002 ^a	142,25
CVOPN	24,10±0,008 ^d	100,83
CBOPN	23,28±0,007 ^e	94,00
CVCBOPN	25,05±0,009 ^c	108,75
BHT	20,96±0,021 ^g	74,67
Controle	12,00±0,021 ^h	-

Notas: *Calculado comparado com o tempo da amostra controle sem adição de antioxidantes. Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa (Fischer LSD, $p > 0,05$).

Em estudo conduzido por Malheiro et al. (2012), extratos aquosos de chá branco e chá verde apresentaram proteção limitada em amostras de azeite de oliva aquecidas por micro-ondas. Azeites com os extratos de chá submetidos a esse tipo de estresse térmico começaram a demonstrar comportamento pró-oxidante quando eram expostos por mais 3 min as micro-ondas, diminuindo a estabilidade oxidativa dos óleos. Assim, a natureza do aquecimento ao qual os óleos são submetidos, podem influenciar na performance dos extratos antioxidantes em estudo.

Para as amostras de óleo de soja (Tabela 5), houve diferença significativa entre todas. O extrato de CV puro apresentou o melhor resultado no tempo de indução das amostras de óleo de soja.

Em pesquisa conduzida por Nedamani et al.; (2014), foram comparados os efeitos antioxidantes de extratos etanólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), chá verde (*Camellia sinensis*), frutas de carvalho (*Quercus branti*) e suas misturas no controle oxidativo de óleo de soja, todas as misturas apresentaram comportamento antagônico, mas ainda assim melhor desempenho que antioxidante sintético BHT, sendo o extrato puro de chá verde o mais eficiente.

Tabela 5. Tempo de indução pelo teste de oxidação acelerada Rancimat nas amostras de óleo de soja dos extratos puros (CV, CB e OPN), misturas binárias (CVCB, CVON, CBOPN), terciária (CVCBOPN), antioxidante sintético (BHT) e amostra sem adição de antioxidante (Controle).

AMOSTRAS	Tempo de Indução (h)	Aumento no tempo de indução (%)*
CV	22,84±0,002 ^a	68,93
CB	22,44±0,002 ^b	65,98
OPN	18,35±0,003 ^h	35,72
CVCB	22,22±0,001 ^c	64,35
CVOPN	20,72±0,003 ^f	53,25
CBOPN	20,6±0,007 ^g	52,37
CVCBOPN	21,19±0,003 ^e	56,73
BHT	21,31±0,009 ^d	57,62
Controle	13,52±0,056 ⁱ	-

Notas: *Calculado comparado com o tempo da amostra controle sem adição de antioxidantes. Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa (Fischer LSD, $p > 0,05$).

Os tempos de indução as amostras de azeite de oliva com adição de extratos vegetais demonstraram-se superiores as amostras de óleo de soja. Em estudo realizado por Yin *et al.* (2012), notou-se uma relação de sinergismo entre α -tocoferol e extrato de chá verde no aumento do tempo de indução a oxidação de óleo de girassol; esse mesmo composto também apresentou sinergismo com epicatequina, um fitoquímico encontrado na *Camellia sinensis*. O α -tocoferol faz parte dos componentes minoritários do azeite de oliva que apresenta atividade antioxidante (AMBRA *et al.*; 2017).

Em contrapartida, a amostra de óleo de soja controle mostra um tempo de indução superior ao azeite de oliva controle. Isso pode se justificar pela presença de pigmentos fotossensibilizadores no azeite de oliva, como a clorofila, metais de transição como o cobre e o ferro, visto que o óleo de soja passa por refinamento, processo esse que diminui significativamente o teor desses componentes pró-oxidantes (CHOE; MIN, 2006).

5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

5.3.1 Azeite de Oliva

O modelo estatístico foi determinado de acordo com o efeito das diferentes proporções dos extratos (CVU1, CBU1 e OPN1) no tempo de indução como variável resposta, o planejamento com os dados encontra-se na tabela 6.

Tabela 6. Fatores experimentais e variável resposta do planejamento de misturas para azeite de oliva

Ensaio	Variáveis			Variável Resposta
	Ora-pro-nóbis	Chá Verde	Chá Branco	Tempo de Indução (h)
1	1	0	0	28,71
2	0	1	0	29,05
3	0	0	1	21,23
4	1/2	1/2	0	29,07
5	1/2	0	1/2	24,10
6	0	1/2	1/2	23,28
7	1/3	1/3	1/3	25,05

Para avaliar o efeito dos extratos e suas misturas no tempo de indução do azeite de oliva, foi realizado um teste de efeitos estimados, resultados esses apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Efeitos dos extratos puros e misturas para o azeite de oliva.

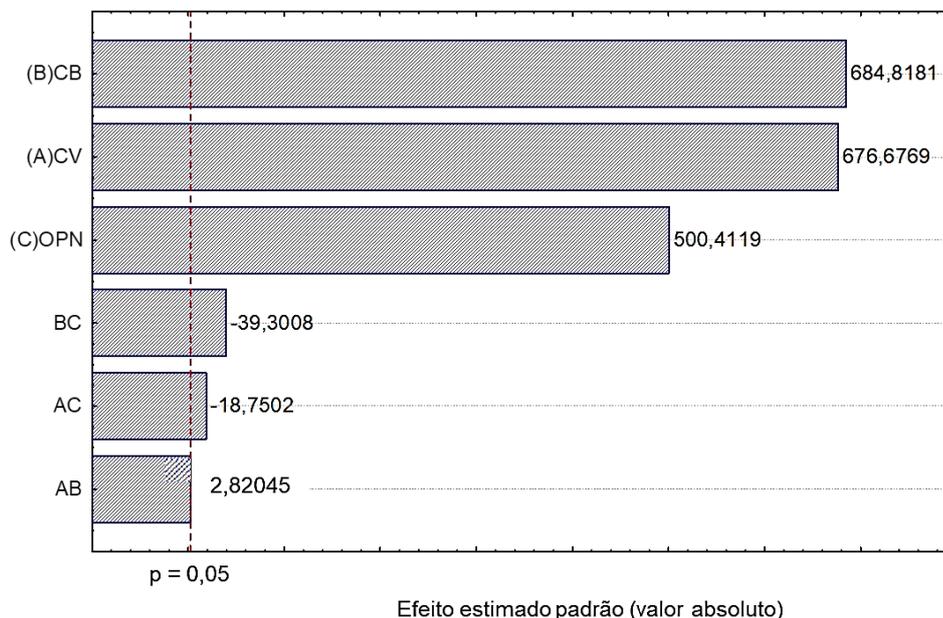
Componentes	Coefficiente	Erro Padrão	T	p-valor
CV	28,7174	0,0424	676,6769	< 0,01
CB	29,0629	0,0424	684,8181	< 0,01
OPN	21,2369	0,0424	500,4119	< 0,01
CVCB	0,5502	0,1951	2,8205	0,0224
CVOPN	-3,6577	0,1951	-18,7502	< 0,01
CBOPN	-7,6667	0,1951	-39,3008	< 0,01

Nota: T = t-student

Valores do coeficiente positivo, indicam que o aumento na variável em questão tende a aumentar o tempo de indução e valores negativos demonstram que a variável dificulta o aumento no tempo de indução. Todos os extratos e suas misturas apresentaram efeitos significativos no teste (p -valor < 0,05) para um nível de confiança

de 95%. Foi plotado um gráfico de pareto como representação gráfica desses resultados (Figura 13).

Figura 13: Gráfico de Pareto para tempo de indução do azeite de oliva



Fonte: O autor

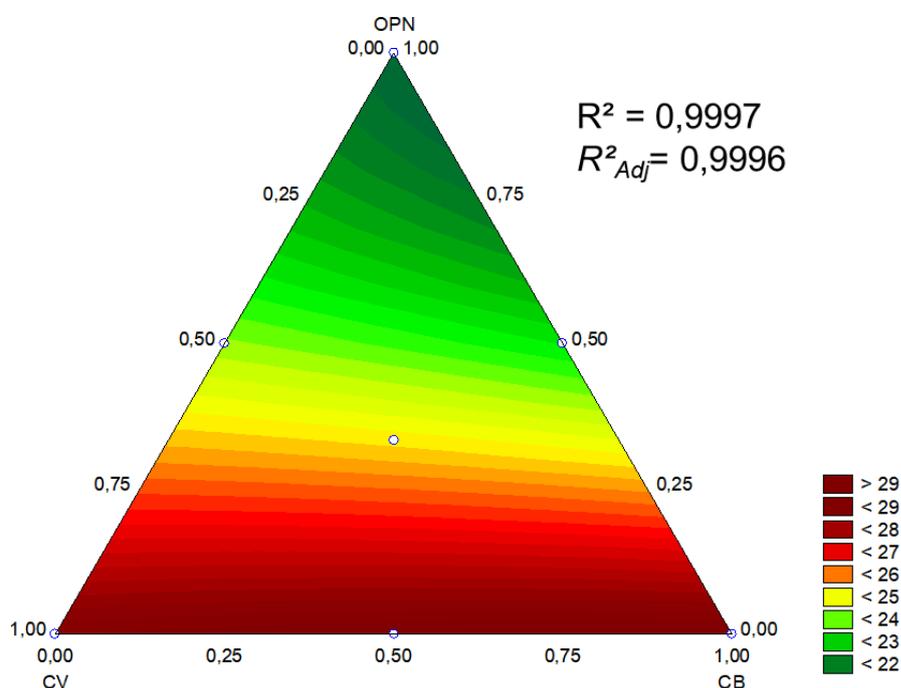
Observa-se que todos os efeitos das variáveis, sejam eles positivos ou negativos, foram significativos ao influenciar a variável de resposta de tempo de indução. O extrato de CB ($T = 684,8181$) apresentou o maior nível de influência positiva no tempo de indução do azeite de oliva, seguido pelo chá verde ($T = 676,6769$), nas concentrações testadas neste trabalho. As interações dos extratos de CV e CB com o extrato de OPN ($T = -39,3008$ e $-8,7502$, respectivamente) mostraram-se negativas; assim a presença de OPN em conjunto com esses extratos apresenta um comportamento antagônico, dificultando a melhora no processo. Entretanto, o extrato de OPN, assim como demais extratos puros, tem efeito positivo no tempo de indução.

Considerando os coeficientes de regressão apresentados na Tabela 8, o tempo de indução pode ser estimado de acordo com a equação 2.

$$\text{Tempo de Indução (h)} = 28,7174CV + 29,06CB + 21,23OPN + 0,55(CB.CV) - 3,65(CV.OPN) - 7,66(CB.OPN) \quad (2)$$

Assim, foi gerado um gráfico de superfície de respostas para otimização do processo considerando as variáveis de CV, CB e OPN (Figura 14).

Figura 14: Resposta para os efeitos das proporções dos extratos de Chá Verde (CV), Chá Branco (CB) e Ora-pro-Nóbis (OPN) no aumento do tempo de indução do azeite de oliva de acordo com metodologia de superfície de resposta R^2



Fonte: o autor

A equação demonstrou bom ajuste ($R^2 = 0,9997$), assim 99,97% dos resultados obtidos para o tempo de indução podem ser explicados por ela. No gráfico de superfície de resposta percebe-se que o tempo de indução do azeite de oliva se eleva conforme aumenta-se a concentração de CB e CV e diminui ao aumentar a dosagem de OPN.

Para a obtenção do valor ótimo de tempo de indução aplicou-se um teste de desejabilidade. Dessa forma, as proporções dos extratos que atendem o maior valor de tempo de indução nas presentes condições ($D = 0,9361$) foram de 0,25 de CV, 0,75 de CB e 0,0 de OPN, com um resultado ótimo previsto de 29,08 h. O resultado do teste de desejabilidade para o azeite de oliva não foi confirmado no presente estudo.

5.3.2 Óleo de Soja

O modelo estatístico foi determinado de acordo com a influência das diferentes proporções dos extratos (CVU1, CBU1 e OPN1) no tempo de indução como variável resposta, o planejamento com os dados encontra-se na tabela 8.

Tabela 8. Fatores experimentais e variável resposta do planejamento de misturas para azeite de oliva

Ensaio	Variáveis			Variável Resposta
	Ora-pro-nóbis	Chá Verde	Chá Branco	Tempo de Indução (h)
1	1	0	0	22,84
2	0	1	0	22,44
3	0	0	1	18,35
4	1/2	1/2	0	22,22
5	1/2	0	1/2	20,72
6	0	1/2	1/2	20,60
7	1/3	1/3	1/3	21,19

Para avaliar o efeito dos extratos e suas misturas no tempo de indução do óleo de soja, foi realizado um teste de efeitos estimados, resultados esses apresentados na Tabela 9.

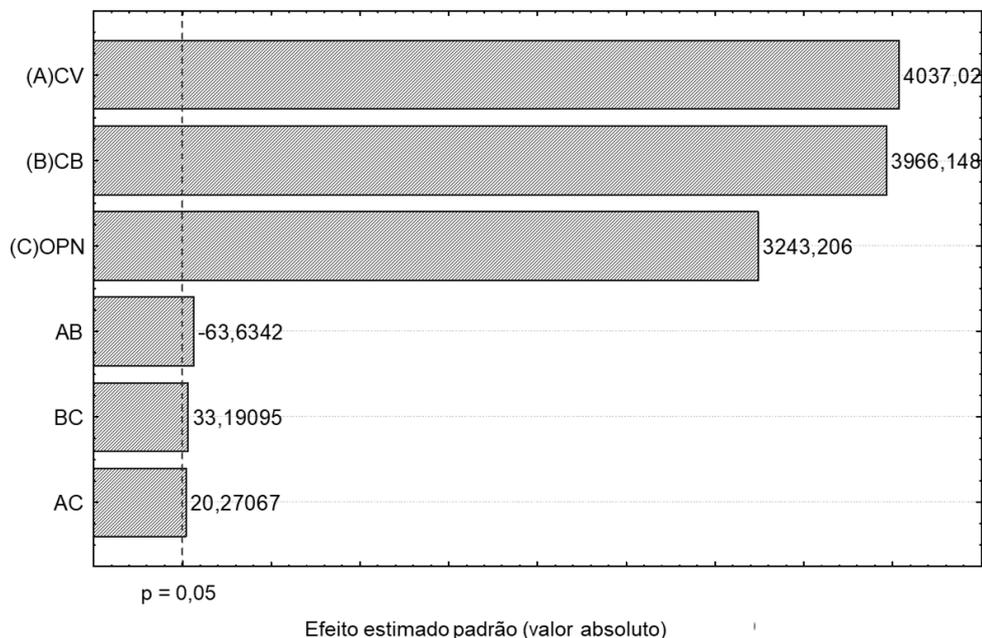
Tabela 9. Efeitos dos extratos puros e misturas para o óleo de soja.

Componentes	Coefficiente	Erro Padrão	T	p
CV	22,8392	0,0056	4037,028	< 0,01
CB	22,4382	0,0056	3966,148	< 0,01
OPN	18,3482	0,0056	3243,206	< 0,01
CVCB	-1,6548	0,0260	-63,634	< 0,01
CVOPN	0,52715	0,0260	20,271	< 0,01
CBOPN	0,8631	0,0260	33,191	< 0,01

Nota: T = t-student

Todos os extratos e suas misturas apresentaram efeitos significativos no teste (p -valor < 0,05) para um nível de confiança de 95%. Assim, plotou-se um gráfico de pareto como representação gráfica desses resultados (Figura 15)

Figura 15: Gráfico de Pareto para tempo de indução do óleo de soja



Fonte: O autor.

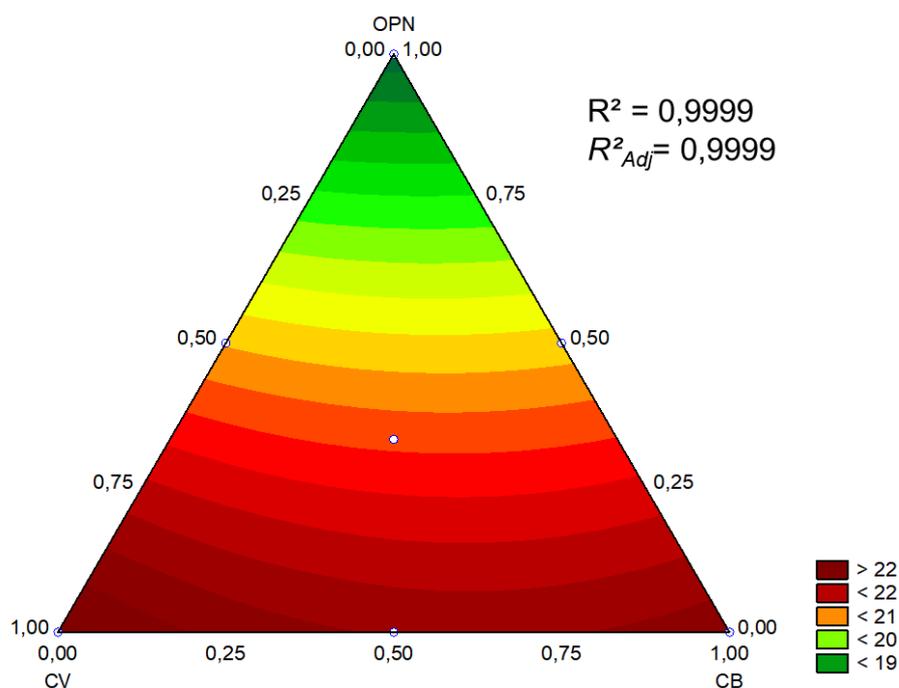
Nota-se que o extrato de CV ($T = 4037,02$) apresentou o maior nível de influência positiva no tempo de indução do óleo de soja, seguido pelo chá branco ($T = 3966,148$) e pela OPN ($T = 3243,206$). A única interação a demonstrar influência negativa na amostra foi entre CV e CB ($T = -63,6342$), demais interações com OPN apresentaram efeito positivo, resultado contrário ao visto com o azeite de oliva.

Os coeficientes de regressão apresentados na Tabela 10 formam a equação 3 que pode ser usada para prever o tempo de indução:

$$\text{Tempo de Indução (h)} = 22,8392CV + 22,4382CB + 18,3482OPN - 1,6548(CB.CV) + 0,52715(CV.OPN) + 0,8631(CB.OP) \quad (3)$$

Assim, foi gerado um gráfico de superfície de respostas para otimização do processo considerando as variáveis de CV, CB e OPN (Figura 16).

Figura 16: Resposta para os efeitos das proporções dos extratos de Chá Verde (CV), Chá Branco (CB) e Ora-pro-Nóbis (OPN) no aumento do tempo de indução do óleo de soja de acordo com metodologia de superfície de resposta



Fonte: o autor

A equação demonstrou bom ajuste ($R^2 = 0,9999$), assim 99,99% dos resultados obtidos para o tempo de indução podem ser explicados por ela. No gráfico de superfície de resposta percebe-se que o tempo de indução do óleo de soja se eleva conforme aumenta-se a concentração de CB e CV e diminui ao aumentar a dosagem de OPN.

Para a obtenção do valor ótimo de tempo de indução aplicou-se um teste de desejabilidade. Assim, o uso do extrato de CV puro (100 % da mistura) prediz o maior valor no tempo de indução de acordo com o teste (22,84 h, $D = 0,9993$). O resultado do teste de desejabilidade para o óleo de soja foi confirmado no presente estudo, visto que a proporção de solventes considerada ótima fazia parte do planejamento de misturas inicial.

5.4 ANÁLISE DE CUSTO ESTIMADO

Considerando a obtenção de 1 L dos extratos CVU1, CBU1 e OPN1, todos com proporção etOH:água de 75:25, para uso no teste de oxidação acelerada do Rancimat, consideram-se os valores dos materiais de acordo com Tabela 10.

Tabela 10. Materiais utilizados na obtenção dos extratos vegetais aplicados no teste de oxidação acelerada do Rancimat e seus respectivos valores.

Material	Valor (R\$) *
Etanol grau analítico (L)	26,66
Água destilada (L)	4,50
Chá verde (kg)	23,00
Chá Branco (kg)	18,00
Ora-pro-Nóbis (kg)	81,40
BHT (kg)	792,00

Nota: *Valores médios de marcas comerciais.

Para produção de 1 L de extrato, seriam necessários 0,025 kg de cada exemplar vegetal para a primeira extração de 500 mL, logo os valores de massa de planta seriam: R\$ 0,05, R\$ 0,04 e R\$ 0,20, para chá verde (CVU1), chá branco (CBU1) e ora-pro-nóbis (OPN1), respectivamente.

Para a mistura do solvente, seriam necessários, 0,375 L de etanol e 0,125 L de água destilada, dessa forma, o valor de solvente total para a primeira extração seria de R\$ 10,56.

O preço de solvente para a primeira extração é fixo, variando apenas o valor das plantas, assim, o valor do primeiro extrato de cada planta seria R\$ 10,61 (CVU1), R\$ 10,60 (CBU1) e R\$ 10,76 (OPN1).

Na segunda etapa da extração, não há incorporação de nova massa de plantas, apenas a ressuspensão na mesma proporção de solvente, assim, o valor desse solvente é fixo para todos os extratos, totalizando R\$ 10,56 para cada extrato. Logo, somando-se o volume da primeira extração com a segunda, teríamos 1 L de extrato de cada planta.

Em seguida, os extratos são liofilizados e antes de sua aplicação nas matrizes lipídicas, eles são ressuspensos em 1 L de etanol, sendo o custo dessa ressuspensão de R\$ 26,66 para cada um.

O custo total para obtenção do extrato de cada planta antes da aplicação nos óleos, sem considerar custo energético, seria de R\$ 47,83, R\$ 47,82 e R \$47,98, para CVU1, CBU1 e OPN1, respectivamente.

Para aplicação individual nas amostras de óleos, considerou-se a proporção de 4% de extrato sobre a massa total de óleo, para esse cálculo, será considerado 1 kg de matriz lipídica. Dessa forma, o volume de extrato aplicado seria de 0,04 L.

Esses volumes em valores monetários seriam para cada planta, R\$1,91 (CVU1), R\$1,91 (CBU1) e R\$1,92 (OPN1).

Para o antioxidante sintético, a legislação brasileira permite adição máxima de 100 mg.kg⁻¹ de óleo do BHT. Dessa forma, para aplicação seriam utilizados 0,0001 kg no valor de R\$ 0,08 (Tabela 11).

Tabela 11. Valores monetários dos extratos finais, aplicações a 4% e aplicação de antioxidante sintético BHT em 1 kg de matriz vegetal.

Variável	Valor monetário (R\$)
Extrato final CVU1 (L)	47,83
Extrato final CBU1 (L)	47,82
Extrato final OPN1 (L)	47,98
Aplicação 4% extrato CVU1	1,91
Aplicação 4% extrato CBU1	1,91
Aplicação 4% extrato OPN1	1,92
Aplicação 100 mg.kg⁻¹ BHT (kg)	0,08

Os custos dos extratos de plantas demonstram-se superiores ao BHT, entretanto os resultados encontrados no teste de Rancimat mostram um resultado mais eficiente dos antioxidantes naturais se comparados ao sintético. Além disso, estudos demonstram efeitos maléficos do BHT a saúde, como sua capacidade de causar dano ao DNA, resultando no desenvolvimento de tumores, cânceres e apoptose das células do corpo, sendo seu efeito carcinogênico relacionado a indução de estresse oxidativo nas células (XU et al.; 2021).

Dessa forma, os antioxidantes naturais são uma fonte de segura, acessível, atóxica e limpa, que vai de encontro com a atual necessidade de busca de substitutos para os antioxidantes sintéticos (TAGHVAEI; JAFARI, 2015; ALADEDUNYE, 2014).

6 CONCLUSÃO

O extrato de chá verde apresentou os maiores teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante nos testes *in vitro* DPPH· e ABTS⁺, e o extrato de Ora-pro-nóbis apresentou os menores valores, nas condições testadas neste trabalho. A utilização de banho ultrassônico na obtenção dos extratos, não demonstrou um efeito significativo no aumento da extração dos compostos fenólicos. Todos os extratos e suas misturas demonstraram um efeito antioxidante no azeite de oliva e óleo de soja, aumentando o tempo de indução a oxidação no equipamento Rancimat, assim como valores superiores ao antioxidante sintético BHT. O tempo de indução das amostras de azeite de oliva foram superiores ao óleo de soja, provavelmente devido a interação dos compostos fenólicos com outros componentes do próprio azeite de oliva. Na análise de superfície de resposta, o extrato de chá branco apresentou maior impacto positivo no tempo de indução do óleo de soja, enquanto o chá verde desempenhou um melhor efeito no azeite de oliva. O extrato de ora-pro-nóbis apresentou efeito positivo em ambos os óleos, porém suas interações com os extratos de chá demonstraram efeito negativo no tempo de indução. Dessa forma, as plantas apresentadas no seguinte trabalho mostraram-se potenciais antioxidantes naturais para a substituição de antioxidante sintético em óleo de soja e azeite de oliva.

REFERÊNCIAS

- ABOU-GHARBIA; H. A.; SHEHATA; A. A. Y.; YOUSSEF, M.; SHAHIDI, F. Oxidative stability of sesame paste (tehina). **Journal of Food Lipids**, v. 3, n. 2, p. 129-137, 1996.
- ABUZAYTOUN, R.; SHAHIDI, F. Oxidative stability of algal oils as affected by their minor components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 21, p. 8253-8260, 2006.
- ADCOCKS, C.; COLLIN, P.; BUTTLE, D. J. Catechins from green tea (*Camellia sinensis*) inhibit bovine and human cartilage proteoglycan and type II collagen degradation in vitro. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 3, p. 341-346, 2002.
- AHMED, M.; PICKOVA, J.; AHMAD, T.; LIAQUAT, M.; FARID, A.; JAHANGIR, M. Oxidation of Lipids in Foods. **Sarhad Journal of Agriculture**, v. 32, n. 3, 2016.
- AKULA, R.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720-1731, 2011.
- ALADEDUNYE, F.; A. Natural antioxidants as stabilizers of frying oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 116, n. 6, p. 688-706, 2014.
- ALADEDUNYE, F.; A; PRZYBYLSKI, R.; MATTHAUS, B. Performance of antioxidative compounds under frying conditions: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 8, p. 1539-1561, 2017.
- ALASALVAR, C.; GRIGOR, J. M.; ZHANG, D.; QUANTICK, P. C.; SHAHIDI, F. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1410-1416, 2001.
- ALMAJANO, M. P.; CARBO, R.; JIMÉNEZ, J. A. L.; GORDON, M. H. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. **Food Chemistry**, v. 108, n. 1, p. 55-63, 2008.
- ALSHAMMARI, B. A.; ALOTAIBI, M. D.; ALOTHMAN, O. Y.; SANJAY, M. R.; KIAN, L. K.; ALMUTAIRI, Z.; JAWAID, M. A new study on characterization and properties of natural fibers obtained from olive tree (*Olea europaea L.*) residues. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 27, n. 11, p. 2334-2340, 2019.
- AMARAL, T. N.; JUNQUEIRA, L. A.; PRADO, M. E. T.; CIRILLO, M. A.; DE ABREU, L. R.; COSTA, F. F.; DE RESENDE, J. V. Blends of *Pereskia aculeata* Miller mucilage, guar gum, and gum Arabic added to fermented milk beverages. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 331-342, 2018.
- AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B.; RAHIMI-MOGHADDAM, P.; BARL, B.; WEIL, J. A. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. **Food chemistry**, v. 84, n. 4, p. 551-562, 2004.
- AMBRA, R.; NATELLA, F.; LUCCHETTI, S.; FORTE, V.; PASTORE, G. α -Tocopherol, β -carotene, lutein, squalene and secoiridoids in seven monocultivar Italian extra-virgin

olive oils. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 68, n. 5, p. 538-545, 2017.

AMEER, K.; SHAHBAZ, H. M.; KWON, J. Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 2, p. 295-315, 2017.

ANSON, N. M.; VAN DEN BERG, R.; HAVENAAR, R.; BAST, A.; HAENEN, G. R. Bioavailability of ferulic acid is determined by its bioaccessibility. **Journal of Cereal Science**, v. 49, n. 2, p. 296-300, 2009.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P. D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **Analyst**, v. 127, n. 1, p. 183-198, 2001.

AWAD, T. S.; MOHARRAM, H. A.; SHALTOU, O. E.; ASKER, D.; YOUSSEF, M. M. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 410-427, 2012.

AZIZ, Z. A.; AHMAD, A.; SETAPAR, S. H. M.; KARAKUCUK, A.; AZIM, M. M.; LOKHAT, D.; RAFFATULLAH M.; GANASH, M.; KAMAL, M. A.; ASHRAF, G. M. Essential oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential-a review. **Current Drug Metabolism**, v. 19, n. 13, p. 1100-1110, 2018.

AZMIR, J.; Zaidul, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JARUHUL, M. A. H.; GHAFoor, K.; NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013.

BACCIONI, L.; PERI, C. Centrifugal separation. **The extra-virgin olive oil handbook**. John Wiley & Sons, Ltd.; Chichester, UK, p. 139-154, 2014.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BANDYOPADHYAY, M.; CHAKRABORTY, R.; RAYCHAUDHURI, U. Antioxidant activity of natural plant sources in dairy dessert (Sandesh) under thermal treatment. **LWT-Food Science and Technology**, v. 41, n. 5, p. 816-825, 2008.

BARBA, F. J.; ZHU, Z.; KOUBAA, M.; SANT'ANA, A. S.; ORLIEN, V. 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, 2016.

BARDEN, L.; DECKER, E. A. Lipid oxidation in low-moisture food: a review. **Critical Reviews in Food science and Nutrition**, v. 56, n. 15, p. 2467-2482, 2016.

BARRIUSO, B.; ASTIASARÁN, I.; ANSOARENA, D. A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. **European food research and technology**, v. 236, n. 1, p. 1-15, 2013.

BAXTER, H.; HARBORNE, J. B.; MOSS, G. P. (Ed.). **Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants**. CRC press, 1998.

BELLÉS, M.; ALONSO, V.; RONCALÉS, P.; BELTRÁN, J. A. Effect of borage and green tea aqueous extracts on the quality of lamb leg chops displayed under retail conditions. **Meat Science**, v. 129, p. 153-160, 2017.

BELWAL, T.; EZZAT, S. M.; RASTRELLI, L.; BHATT, I. D.; DAGLIA, M.; BALDI, A.; DEVKOTA, H. P.; ORHAN, I. E.; PATRA, J. K.; DAS, G.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. A.; GOMEZ-GOMES, L.; NABAVI, S. F.; NABAVI, S. M.; ATANASOV, A. G. critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 100, p. 82-102, 2018.

BENNETT, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New phytologist**, v. 127, n. 4, p. 617-633, 1994.

BERTON-CARABIN, C. C.; ROPERS, M.; GENOT, C. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Involvement of the interfacial layer. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 5, p. 945-977, 2014.

BEVILACQUA, A.; DE STEFANO, F.; AUGELLO, S.; PIGNATIELLO, S.; SINIGAGLIA, M.; CORBO, M. R. Biotechnological innovations for table olives. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 66, n. 2, p. 127-131, 2015.

BÖTTCHER, S.; STEINHÄUSER, U.; DRUSCH, S. Off-flavour masking of secondary lipid oxidation products by pea dextrin. **Food chemistry**, v. 169, p. 492-498, 2015.

BOTTERWECK, A. A. M.; VERHAGEN, H.; GOLDBOHM, R. A.; KLEINJANS, J.; VAN DEN BRANDT, P. A. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands cohort study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 7, p. 599-605, 2000.

BRADLEY, D. G.; MIN, D. B. Singlet oxygen oxidation of foods. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 31, n. 3, p. 211-236, 1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa no. 1, de 30 de janeiro de 2012. Regulamento Técnico do Azeite de Oliva e do Óleo de Bagaço de Oliva. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 jan. 2012. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/normativos-cgqv/pocs/instrucao-normativa-no-1-de-30-de-janeiro-de-2012-azeite-de-oliva/view>. Acesso em: 10/05/2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução CNS/MS n° 04, de 24 de novembro de 1988. Revisão de Aditivos Intencionais. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 nov. 1988. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Resolucao_04_1988.pdf/7311a4d9-d5db-44d6-adbd-c7e6891d079d. Acesso em: 23/07/2019.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, n. 56, p. 317–333, 1998.

BURUK SAHIN, Y.; AKTAR DEMIRTAŞ, E.; BURNAK, N. Mixture design: A review of recent applications in the food industry. **Pamukkale University Journal of Engineering Sciences**, v. 22, n. 4, p. 297-304, 2016.

BUTLER, L. G. Antinutritional effects of condensed and hydrolyzable tannins. In: **Plant polyphenols**. Springer, Boston, MA, 1992. p. 693-698.

CAPPATO, L. P.; FERREIRA, M. V.; GUIMARAES, J. T.; PORTELA, J. B.; COSTA, A. L.; FREITAS, M. Q.; CUNHA, R. L.; OLIVEIRA, C. A. F.; MERCALI, G. D.; MARZACK, L. D.F.; CRUZ, A. G. Ohmic heating in dairy processing: Relevant aspects for safety and quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 62, p. 104-112, 2017.

CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R. L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 22, n. 5, p. 749-760, 1997.

CARVALHO, E. G.; SOARES, C. P.; BLAU, L.; MENEGON, R. F.; JOAQUIM, W. M. Wound healing properties and mucilage content of *Pereskia aculeata* from different substrates. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 6, p. 677-682, 2014.

CERVATO, C.; CARABELLI, M.; GERVASIO, S.; CITTERA, A.; CAZZOLA, R.; CESTARO, B. Antioxidant properties of oregano (*Origanum vulgare*) leaf extracts. **Journal of Food Biochemistry**, v. 24, p. 453-465, 2000.

CHAIYASIT, W.; ELIAS, R. J.; MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, n. 3, p. 299-317, 2007.

CHANDRASEKARAN, S.; RAMANATHAN, S.; BASAK, T. Microwave food processing—A review. **Food Research International**, v. 52, n. 1, p. 243-261, 2013.
CHEMAT, F.; FABIANO-TIXIER, A. S.; VIAN, M. A.; ALLAF, T.; VOROBIEV, E. Solvent-free extraction of food and natural products. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 157-168, 2015.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540-560, 2017.

CHENG, M. H.; SEKHON, J. J.; ROSENTRATER, K. A.; WANG, T.; JUNG, S.; JOHNSON, L. A. Environmental impact assessment of soybean oil production: Extruding-expelling process, hexane extraction and aqueous extraction. **Food and Bioproducts Processing**, v. 108, p. 58-68, 2018.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 4, p. 169-186, 2006.

CHUNG, K. T.; WONG, T. Y.; WEI, C. I.; HUANG, Y. W.; LIN, Y. Tannins and human health: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 6, p. 421-464, 1998.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 1033-1043, 2000.

CLIFFORD, M. N. Diet-derived phenols in plasma and tissues and their implications for health. **Planta medica**, v. 70, n. 12, p. 1103-1114, 2004.

COATS, A. W.; REDFERN, J. P. Thermogravimetric analysis. A review. **Analyst**, v. 88, n. 1053, p. 906-924, 1963.

COHEN, S. D.; KENNEDY, J. A. Plant metabolism and the environment: implications for managing phenolics. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 50, n. 7, p. 620-643, 2010.

CORNELL, J.A. **Experiments with mixtures: designs, models, and analysis of mixture data**. 3.ed. New York: John Wiley & Sons, 2002.

COSCIONE, A. R.; ANDRADE, J. C. D.; MAY, G. M. O modelamento estatístico de misturas: experimento tutorial usando voltametria de redissolução anódica. **Química Nova**, v. 28, p. 1116-1122, 2005.

COUPLAND, J. N.; MCCLEMENTS, D. J. Lipid oxidation in food emulsions. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, n. 3, p. 83-91, 1996.

CREMASCO, C. P.; GODINHO, A. M. M.; BOSO, A. C. M. R.; BOAS, A. V.; NETO, M. M.; GABRIEL FILHO, L. R. A. Bromatological and sensorial evaluation of *Pereskia aculeata* use in pasta dough. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 10, n. 3, p. 234-240, 2016.

CRUZ, T. M.; SANTOS, J. S.; DO CARMO, M. A. V.; HELLSTRÖM, J.; PIHLAVA, J. M.; AZEVEDO, L.; GRANATO D.; MARQUES, M. B. Extraction optimization of bioactive compounds from ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) leaves and their in vitro antioxidant and antihemolytic activities. **Food Chemistry**, v. 361, p. 130078, 2021.

DA SILVA, R. P. F. F.; ROCHA-SANTOS, T. A.P.; DUARTE, A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 40-51, 2016.

DATTA, A. K.; DAVIDSON, P. Michael. Microwave and radio frequency processing. **Journal of Food Science**, v. 65, p. 32-41, 2000.

DE CASTRO, M. D. L.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383-2389, 2010.

DE LEONARDIS, A.; MACCIOLA, V. Catalytic effect of the Cu (II)-and Fe (III)-cyclohexanebutyrates on olive oil oxidation measured by Rancimat. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 104, n. 3, p. 156-160, 2002.

DEAVILLE, E. R.; GREEN, R. J.; MUELLER-HARVEY, I.; WILLOUGHBY, I.; & FRAZIER, R. A. Hydrolyzable tannin structures influence relative globular and random coil protein binding strengths. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 11, p. 4554-4561, 2007.

DEJAEGHER, B.; VANDER HEYDEN, Y. Experimental designs and their recent advances in set-up, data interpretation, and analytical applications. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 56, n. 2, p. 141-158, 2011.

EGEA, M. B.; PIERCE, G. Bioactive Compounds of Barbados Gooseberry (*Pereskia aculeata Mill.*). **Bioactive Compounds in Underutilized Vegetables and Legumes**, p. 1-14, 2020.

EL DARRA, N.; GRIMI, N.; VOROBIEV, E.; LOUKA, N.; MAROUN, R. Extraction of polyphenols from red grape pomace assisted by pulsed ohmic heating. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 5, p. 1281-1289, 2013.

ERIKSSON, L.; JOHANSSON, E.; WIKSTRÖM, C. Mixture design—design generation, PLS analysis, and model usage. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 43, n. 1-2, p. 1-24, 1998.

ERKAN, M.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, n. 2, p. 163-171, 2008.

EUROPEAN COMMISSION, 2015. Commission Delegated Regulation (EU) 2015/1830 of 8 July 2015 amending Regulation (EEC) No 2568/91 **On the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis**. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex:32015R1830>. Acesso em: 26/06/2021.

FARHOOSH, R. The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 84, n. 3, p. 205-209, 2007.

FARHOOSH, R.; EINAFAHAR, S.; SHARAYEI, P. The effect of commercial refining steps on the rancidity measures of soybean and canola oils. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 933-938, 2009.

FARHOOSH, R.; MOOSAVI, S. M. R. Rancimat test for the assessment of used frying oils quality. **Journal of Food Lipids**, v. 14, n. 3, p. 263-271, 2007.

FRANKEL, E. N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food chemistry**, v. 57, n. 1, p. 51-55, 1996.

FRANKEL, E. N. Recent advances in lipid oxidation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 54, n. 4, p. 495-511, 1991.

GALANO, A.; MAZZONE, G.; ALVAREZ-DIDUK, R.; MARINO, T.; ALVAREZ-IDABOY, J. R.; & RUSSO, N. Food antioxidants: chemical insights at the molecular level. **Annual review of food science and technology**, v. 7, p. 335-352, 2016.

GALLEGO, R.; BUENO, M.; HERRERO, M. Sub-and supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plants, food-by-products, seaweeds and microalgae—An update. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 2019.

GANEVA, V.; GALUTZOV, B.; TEISSIÉ, J. High yield electroextraction of proteins from yeast by a flow process. **Analytical Biochemistry**, v. 315, n. 1, p. 77-84, 2003.

GARCIA, J. A.; CORRÊA, R. C.; BARROS, L.; PEREIRA, C.; ABREU, R. M.; ALVES, M. J.; CALHELHA, R.C.; BRACHT, A.; PERALTA, R.M.; FERREIRA, I. C. Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. **Food Chemistry**, v. 294, p. 302-308, 2019.

GARCÍA-MORENO, P. J.; PÉREZ-GÁLVEZ, R.; GUADIX, A.; GUADIX, E. M. Influence of the parameters of the Rancimat test on the determination of the oxidative stability index of cod liver oil. **LWT-Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 303-308, 2013.

GARDNER, H. W. Oxygen radical chemistry of polyunsaturated fatty acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 7, n. 1, p. 65-86, 1989.

GAVAHIAN, M.; FARAHAHNAKY, A. Ohmic-assisted hydrodistillation technology: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 72, p. 153-161, 2018.

GOETTEL, M.; EING, C.; GUSBETH, C.; STRAESSNER, R.; FREY, W. Pulsed electric field assisted extraction of intracellular valuables from microalgae. **Algal Research**, v. 2, n. 4, p. 401-408, 2013.

GRAMZA, A.; KORCZAK, J. Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, n. 8, p. 351-358, 2005.
GRAY, J. I.; GOMAA, E. A.; BUCKLEY, D. J. Oxidative quality and shelf life of meats. **Meat science**, v. 43, p. 111-123, 1996.

GUANDALINI, B. B. V.; RODRIGUES, N P.; MARCZAK, L. D. F. Sequential extraction of phenolics and pectin from mango peel assisted by ultrasound. **Food Research International**, v. 119, p. 455-461, 2019.

HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LÖLIGER, J.; ARUOMA, O. I. The characterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.

HE, B.; ZHANG, L. L.; YUE, X. Y.; LIANG, J.; JIANG, J.; GAO, X. L.; YUE, P. X. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. **Food Chemistry**, v. 204, p. 70-76, 2016.

HILAL, Y.; ENGELHARDT, U. Characterisation of white tea—Comparison to green and black tea. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, v. 2, n. 4, p. 414-421, 2007.

HORŽIĆ, D.; JAMBRAK, A. R.; BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; KOMES, D.; LELAS, V. Comparison of conventional and ultrasound assisted extraction techniques of yellow tea and bioactive composition of obtained extracts. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 7, p. 2858-2870, 2012.

HORŽIĆ, D.; KOMES, D.; BELŠČAK, A.; GANIĆ, K. K.; IVEKOVIĆ, D.; KARLOVIĆ, D. The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 441-448, 2009.

HU, C. J.; GAO, Y.; LIU, Y.; ZHENG, X. Q.; YE, J. H.; LIANG, Y. R.; & LU, J. L. Studies on the mechanism of efficient extraction of tea components by aqueous ethanol. **Food chemistry**, v. 194, p. 312-318, 2016.

INCHINGOLO, R.; CARDENIA, V.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T. The effects of microwave heating on edible oils and lipid-containing food. **Lipid Technology**, v. 25, n. 3, p. 59-61, 2013.

JAHANFAR, S.; GHAVAMI, M.; KHOSRAVI-DARANI, K.; JAHADI, M. Antioxidant Activity of Green Tea Extract on Canola Oil Oxidation Stability: Comparison of Free and Liposomal extract. **Authorea Preprints**, 2020.

JAIN, S.; SHARMA, M. P. Review of different test methods for the evaluation of stability of biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 7, p. 1937-1947, 2010.

JAYAWARDANA, B. C.; WARNASOORIYA, V. B.; THOTAWATTAGE, G. H.; DHARMASENA, V. A. K. I.; LIYANAGE, R. Black and green tea (*Camellia sinensis* L.) extracts as natural antioxidants in uncured pork sausages. **Journal of food Processing and Preservation**, v. 43, n. 2, p. e13870, 2019.

JOHNSON, D. R.; DECKER, E. A. The role of oxygen in lipid oxidation reactions: a review. **Annual review of food science and technology**, v. 6, p. 171-190, 2015.

JORDÁN, M. J.; LAX, V.; ROTA, M. C.; LORÁN, S.; SOTOMAYOR, J. A. Relevance of carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid concentrations in the in vitro antioxidant and antimicrobial activities of *Rosmarinus officinalis* (L.) methanolic extracts. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 60, n. 38, p. 9603-9608, 2012.

JUNIOR, F. A. L.; CONCEIÇÃO, M. C.; DE RESENDE, J. V.; JUNQUEIRA, L. A.; PEREIRA, C. G.; PRADO, M. E. T. Response surface methodology for optimization of the mucilage extraction process from *Pereskia aculeata* Miller. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 38-47, 2013.

KAMAL-ELDIN, A. Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 108, n. 12, p. 1051-1061, 2006.

KARADAG, A.; OZCELIK, B.; SANER, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. **Food Analytical Methods**, v. 2, n. 1, p. 41-60, 2009.

KARORI, S. M.; WACHIRA, F. N.; WANYOKO, J. K.; NGURE, R. M. Antioxidant capacity of different types of tea products. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 19, 2007.

KAUR, N.; CHUGH, V.; GUPTA, A. K. Essential fatty acids as functional components of foods-a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2289-2303, 2014.

KIM, D.; JEONG, S. W.; LEE, C. Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v. 81, n. 3, p. 321-326, 2003.

KING, A. M. Y.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n. 2, p. 213-218, 1999.

KMIECIK, D.; GRAMZA-MICHAŁOWSKA, A.; KORCZAK, J. Anti-polymerization activity of tea and fruits extracts during rapeseed oil heating. **Food Chemistry**, v. 239, p. 858-864, 2018.

KIRMIZIKAYA, G.; KARAKAYA, M.; BABAOĞLU, A. S. Black, green, and white tea infusions and powder forms improve oxidative stability of minced beef throughout refrigerated storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 4, p. e15359, 2021.

KOLANOWSKI, W.; JAWORSKA, D.; WEIßBRODT, J. Importance of instrumental and sensory analysis in the assessment of oxidative deterioration of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid-rich foods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 2, p. 181-191, 2007.

KRISHNATREYA, D. B. AGARWALA, N.; GILL, S. S.; BANDYOPADHYAY, T. Understanding the role of miRNAs for improvement of tea quality and stress tolerance. **Journal of Biotechnology**, v. 328, p. 34-46, 2021.

KUMAR, S. P. J.; BANERJEE, R. Enhanced lipid extraction from oleaginous yeast biomass using ultrasound assisted extraction: a greener and scalable process. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 52, p. 25-32, 2019.

LAFAY, S.; GIL-IZQUIERDO, A. Bioavailability of phenolic acids. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 2, p. 301, 2008.

LARROSA, M.; GARCÍA-CONESA, M. T.; ESPÍN, J. C.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 31, n. 6, p. 513-539, 2010.

LEBOVKA, N. I.; PRAPORSCIC, I.; GHNIMI, S.; VOROBIEV, E. Does electroporation occur during the ohmic heating of food? **Journal of Food Science**, v. 70, n. 5, p. E308-E311, 2005.

LEIGHTON, T. G. What is ultrasound? **Progress in biophysics and molecular biology**, v. 93, n. 1-3, p. 3-83, 2007.

LEVER, T.; HAINES, P.; ROUQUEROL, J.; CHARLESLEY, E. L.; VAN ECKEREN, P.; BURLETT, D. J. ICTAC nomenclature of thermal analysis (IUPAC Recommendations 2014). **Pure and Applied Chemistry**, v. 86, n. 4, p. 545-553, 2014.

LIEU, L. N.; LE, V. V. M. Application of ultrasound in grape mash treatment in juice processing. **Ultrasonics-Sonochemistry**, v. 17, n. 1, p. 273-279, 2010.

LISE, C. C.; MARQUES, C.; DA CUNHA, M. A. A.; MITTERER-DALTOÉ, M. L. Alternative protein from *Pereskia aculeata* Miller leaf mucilage: technological potential as an emulsifier and fat replacement in processed mortadella meat. **European Food Research and Technology**, v. 247, n. 4, p. 851-863, 2021.

LUNA, G.; MORALES, M. T.; APARICIO, R. Changes induced by UV radiation during virgin olive oil storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 13, p. 4790-4794, 2006.

MAHMOOD, T.; AKHTAR, N.; KHAN, B. A. The morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis* tea. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 19, p. 2028-2033, 2010.

MAKKER, K.; AGARWAL, A.; SHARMA, R. Oxidative stress & male infertility. **Indian Journal of Medical Research**, v. 129, n. 4, p. 357, 2009.

MALHEIRO, R.; CASAL, S.; LAMAS, H.; BENTO, A.; PEREIRA, J. A. Can tea extracts protect extra virgin olive oil from oxidation during microwave heating? **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 148-154, 2012.

MANACH, C.; WILLIAMSON, G.; MORAND, C.; SCALBERT, A.; & RÉMÉSY, C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 230S-242S, 2005.

MARMESAT, S.; MORALES, A.; VELASCO, J.; & DOBARGANES, M. C. Action and fate of natural and synthetic antioxidants during frying. **Grasas y Aceites**, v. 61, n. 4, p. 333-340, 2010.

MARTIN, A. A.; DE FREITAS, R. A.; SASSAKI, G. L.; EVANGELISTA, P. H. L.; SIERAKOWSKI, M. R. Chemical structure and physical-chemical properties of mucilage from the leaves of *Pereskia aculeata*. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 20-28, 2017.

MCKAY, D. L.; BLUMBERG, J. B. The role of tea in human health: an update. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 1-13, 2002.

MENÉNDEZ, J. A.; ARENILLAS, A.; FIDALGO, B.; FERNÁNDEZ, Y.; ZUBIZARRETA, L.; CALVO, E. G.; & BERMÚDEZ, J. M. Microwave heating processes involving carbon materials. **Fuel Processing Technology**, v. 91, n. 1, p. 1-8, 2010.

MERKEN, H. M.; BEECHER, G. R. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 577-599, 2000.

MIN, D. B.; BOFF, J. M. Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 1, n. 2, p. 58-72, 2002.

MIN, D. B.; LEE, H. Chemistry of lipid oxidation. In: **Flavor Chemistry**. Springer, Boston, MA, p. 175-187, 1999.

MIZUKAMI, Y.; SAWAI, Y.; YAMAGUCHI, Y. Simultaneous analysis of catechins, gallic acid, strictinin, and purine alkaloids in green tea by using catechol as an internal standard. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 13, p. 4957-4964, 2007.

MOSES, D. R. Performance Evaluation Of Continuous Screw Press For Extraction Soybean Oil. **American Journal Of Science And Technology**, v. 1, n. 5, p. 238-242, 2014.

MUNIANDY, P.; SHORI, A. B.; BABA, A. S. Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 8, p. 1-8, 2016.

NARDINI, M.; GHISELLI, A. Determination of free and bound phenolic acids in beer. **Food Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 137-143, 2004.

NASINI, L. PROIETTI, P. Olive harvesting. **The Extra-Virgin Olive Oil Handbook**, p. 87-105, 2014.

NING, J.; HOU, G. G.; SUN, J.; WAN, X.; DUBAT, A. Effect of green tea powder on the quality attributes and antioxidant activity of whole-wheat flour pan bread. **LWT-Food Science and Technology**, v. 79, p. 342-348, 2017.

NOVAES, C. G.; YAMAKI, R. T.; DE PAULA, V. F.; JÚNIOR, B. B. N.; BARRETO, J. A.; VALASQUES, G. S.; & DE ALMEIDA BEZERRA, M. Otimização de Métodos Analíticos Usando Metodologia de Superfícies de Resposta-Parte II: Variáveis de Mistura. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 2, 2018.

OKUBO, T.; NAGAI, F.; USHIYAMA, K.; KANO, I. Contribution of oxygen radicals to DNA cleavage by quinone compounds derived from phenolic antioxidants, tert-butylhydroquinone and 2, 5-di-tert-butylhydroquinone. **Toxicology Letters**, v. 90, n. 1, p. 11-18, 1997.

OLIVEIRA, M. E. C.; FRANCA, A. S. Microwave heating of foodstuffs. **Journal of Food engineering**, v. 53, n. 4, p. 347-359, 2002.

PAL, M.; MANDAL, N. K. Minimax designs for optimum mixtures. **Statistics & Probability Letters**, v. 78, n. 6, p. 608-615, 2008.

PATIL, A. G.; OAK, M. D.; TAWARE, S. P.; TAMHANKAR, S. A.; RAO, V. S. Nondestructive estimation of fatty acid composition in soybean [*Glycine max (L.) Merrill*] seeds using Near-Infrared Transmittance Spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 120, n. 4, p. 1210-1217, 2010.

PATTISON, D. I.; RAHMANTO, A. S.; DAVIES, M. J. Photo-oxidation of proteins. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 11, n. 1, p. 38-53, 2012.
PAVARINI, D. P.; PAVARINI, S. P.; NIEHUES, M.; LOPES, N. P. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, n. 1-4, p. 5-16, 2012.

PICÓ, Y. Chemical analysis of food: Techniques and applications. **Elsevier**, United Kingdom: Oxford, 2012.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.

PINTO, N. D. C. C.; CASSINI-VIEIRA, P.; DE SOUZA-FAGUNDES, E. M.; BARCELOS, L. S.; CASTAÑÓN, M. C. M. N.; SCIO, E. *Pereskia aculeata Miller* leaves accelerate excisional wound healing in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 194, p. 131-136, 2016.

PINTO, N. D. C. C.; SCIO, E. The biological activities and chemical composition of *Pereskia* species (*Cactaceae*)—A review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 3, p. 189-195, 2014.

RAVISHANKAR, D.; RAJORA, A. K.; GRECO, F.; OSBORN, H. M. Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 45, n. 12, p. 2821-2831, 2013.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.tt.

RIZZO, A. M.; BERSELLI, P.; ZAVA, S.; MONTORFANO, G.; NEGRONI, M.; CORSETTO, P.; & BERRA, B. Endogenous antioxidants and radical scavengers. In: **Bio-Farms for Nutraceuticals**. Springer, Boston, MA, 2010. p. 52-67.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, v. 66, n. 4, p. 401-436, 1999.

ROBERTS, E. A. H.; WOOD, D. J. Separation of tea polyphenols on paper chromatograms. **Biochemical Journal**, v. 53, n. 2, p. 332, 1953.

ROCCHETTI, G.; BLASI, F.; MONTESANO, D.; GHISONI, S.; MARCOTULLIO, M. C.; SABATINI, S.; COSSIGNANI, L.; LUCINI, L. Impact of conventional/non-conventional extraction methods on the untargeted phenolic profile of *Moringa oleifera* leaves. **Food Research International**, v. 115, p. 319-327, 2019.

ROSS, C. F.; SMITH, D. M. Use of volatiles as indicators of lipid oxidation in muscle foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 1, p. 18-25, 2006.

ROSSI, M.; GIANAZZA, M.; ALAMPRESE, C.; & STANGA, F. The effect of bleaching and physical refining on color and minor components of palm oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 78, n. 10, p. 1051-1055, 2001.

RUBIO-RODRÍGUEZ, N.; BELTRÁN, S.; JAIME, I.; SARA, M.; SANZ, M. T.; & CARBALLIDO, J. R. Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: a review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2010.

RUKMINI, A.; RAHARJO, S. Pattern of peroxide value changes in virgin coconut oil (VCO) due to photo-oxidation sensitized by chlorophyll. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 87, n. 12, p. 1407-1412, 2010.

RUSAK, G.; KOMES, D.; LIKIĆ, S.; HORŽIĆ, D.; KOVAČ, M. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. **Food Chemistry**, v. 110, n. 4, p. 852-858, 2008.

ŞAHIN, S.; BILGIN, M. Olive tree (*Olea europaea* L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 4, p. 1271-1279, 2018.

SAINI, R. K.; KEUM, Y. S. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance—A review. **Life sciences**, v. 203, p. 255-267, 2018.

SÁNCHEZ-CAMARGO, A. D. P.; PARADA-ALONSO, F.; IBÁÑEZ, E.; CIFUENTES, A. Recent applications of on-line supercritical fluid extraction coupled to advanced analytical techniques for compounds extraction and identification. **Journal of separation science**, v. 42, n. 1, p. 243-257, 2019.

SANHUEZA, J.; NIETO, S.; VALENZUELA, A. Thermal stability of some commercial synthetic antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, n. 9, p. 933-936, 2000.

SANMARTIN, C.; VENTURI, F.; SGHERRI, C.; NARI, A.; MACALUSO, M.; FLAMINI, G.; QUARTACCI, M. F.; TAGLIERI, I.; ANDRICH, G.; ZINNAI, A. The effects of packaging and storage temperature on the shelf-life of extra virgin olive oil. **Heliyon**, v. 4, n. 11, p. e00888, 2018.

SANTANA-RIOS, G.; ORNER, G. A.; AMANTANA, A.; PROVOST, C.; WU, S. Y.; DASHWOOD, R. H. Potent antimutagenic activity of white tea in comparison with green tea in the Salmonella assay. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 495, n. 1-2, p. 61-74, 2001.

SANTOS, J. C. O.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. G. Effect of heating and cooling on rheological parameters of edible vegetable oils. **Journal of food Engineering**, v. 67, n. 4, p. 401-405, 2005.

SANTOS, N. A.; CORDEIRO, A. M.; DAMASCENO, S. S.; AGUIAR, R. T.; ROSENHAIM, R.; CARVALHO FILHO, J. R.; SANTOS, I. M. G.; MAIA, A. S.; SOUZA, A. G. Commercial antioxidants and thermal stability evaluations. **Fuel**, v. 97, p. 638-643, 2012.

SANTOS, R. D.; SHETTY, K.; CECCHINI, A. L.; DA SILVA MIGLIORANZA, L. H. Phenolic compounds and total antioxidant activity determination in rosemary and oregano extracts and its use in cheese spread. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 655-666, 2012.

SATO, R.; CILLI, L. P. D. L.; OLIVEIRA, B. E. D.; MACIEL, V. B. V.; VENTURINI, A. C.; & YOSHIDA, C. M. P. Nutritional improvement of pasta with *Pereskia aculeata* Miller: a non-conventional edible vegetable. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 28-34, 2019.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D. M.; PELL, A. N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, n. 1, p. 21-40, 2001.

SCHULER, P. Natural antioxidants exploited commercially. In: **Food antioxidants**. Springer, Dordrecht, p. 99-170, 1990.

SEIGLER, D. S. **Plant secondary metabolism**. Springer Science & Business Media, 2012.

SHAHIDI, F. Antioxidants in food and food antioxidants. **Food/nahrung**, v. 44, n. 3, p. 158-163, 2000.

SHAHIDI, F. Antioxidants: Principles and applications. In: **Handbook of antioxidants for food preservation**. Woodhead Publishing, p. 1-14, 2015.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 11, p. 4067-4079, 2010.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical reviews in food science & nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 112, n. 9, p. 930-940, 2010.

SHARANGI, A. B. Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.)—A review. **Food Research International**, v. 42, n. 5-6, p. 529-535, 2009.

SHETTY, K.; CHUN, S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 809-816, 2005.

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, 2012.

SINGH, J. Maceration, percolation and infusion techniques for the extraction of medicinal and aromatic plants. **Extraction technologies for medicinal and aromatic plants**, v. 67, p. 32-35, 2008.

SOBRINHO, S. S.; COSTA, L. L.; GONÇALVES, C. A. A.; CAMPAGNOL, P. C. B. Emulsified cooked sausages enriched with flour from ora-pro-nobis leaves (*Pereskia aculeata* Miller). **International Food Research Journal**, v. 22, n. 1, 2015.

SORIA, A. C.; VILLAMIEL, M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 7, p. 323-331, 2010.

SOUZA, L. F.; GASPARETTO, B. F.; LOPES, R. R.; BARROS, I. B. Temperature requirements for seed germination of *Pereskia aculeata* and *Pereskia grandifolia*. **Journal of Thermal Biology**, v. 57, p. 6-10, 2016.

SOUZA, T.C.L. Perfil de compostos fenólicos extraídos de folhas de ora-pro-nóbis (*Pereskia Aculeata* Miller). Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, p. 69. 2014.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p.152-179, 1999.

TAGHVAEI, M.; JAFARI, S.; M. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 3, p. 1272-1282, 2015.

TAMBORRINO, A.; CATALANO, P.; LEONE, A. Using an in-line rotating torque transducer to study the rheological aspects of malaxed olive paste. **Journal of Food Engineering**, v. 126, p. 65-71, 2014.

THAKAENG, P.; WONGSAKUL, S.; YUSOFF, M. Mat. Development of value-added butter through the addition of green tea (*Camellia sinensis L.*) extract. **International Food Research Journal**, v. 27, n. 3, p. 465-474, 2020.

TINELLO, F.; LANTE, A.; BERNARDI, M.; CAPPIELLO, F.; GALGANO, F.; CARUSO, M. C.; FAVATI, F. Comparison of OXITEST and RANCIMAT methods to evaluate the oxidative stability in frying oils. **European Food Research and Technology**, v. 244, n. 4, p. 747-755, 2018.

TIWARI, B. K. Ultrasound: A clean, green extraction technology. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 100-109, 2015.

TODA, T. A.; SAWADA, M. M.; RODRIGUES, C. E. C. Kinetics of soybean oil extraction using ethanol as solvent: Experimental data and modeling. **Food and Bioproducts Processing**, v. 98, p. 1-10, 2016.

TOMA, M.; VINATORU, M.; PANIWNYK, L.; MASON, T. J. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 8, n. 2, p. 137-142, 2001.

UNACHUKWU, U. J.; AHMED, S.; KAVALIER, A.; LYLES, J. T.; KENNELLY, E. J. White and green teas (*Camellia sinensis var. sinensis*): variation in phenolic, methylxanthine, and antioxidant profiles. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 6, p. C541-C548, 2010.

VADIVAMBAL, R.; JAYAS, D. S. Changes in quality of microwave-treated agricultural products—a review. **Biosystems Engineering**, v. 98, n. 1, p. 1-16, 2007.

VEGGI, P. C.; MARTINEZ, J.; MEIRELES, M. ANGELA, A. Fundamentals of microwave extraction. In: **Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds**. Springer, Boston, MA, 2012. p. 15-52.

VIAN, M. A.; FERNANDEZ, X.; VISINONI, F.; CHEMAT, F. Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. **Journal of Chromatography a**, v. 1190, n. 1-2, p. 14-17, 2008.

XIANG, P.; WILSON, I. W.; HUANG, J.; ZHU, Q.; TAN, M.; LU, J.; LIU, J.; GAO, S.; ZHENG, S.; LIN, D.; ZHANG, Y.; LIN, J. Co-regulation of catechins biosynthesis responses to temperature changes by shoot growth and catechin related gene expression in tea plants (*Camellia sinensis L.*). **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 96, n. 2, p. 228-238, 2021.

XU, D. P.; ZHENG, J.; ZHOU, Y.; LI, Y.; LI, S.; LI, H. B. Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. **Food Chemistry**, v. 217, p. 552-559, 2017.

XU, X.; LIU, A.; HU, S.; ARES, I.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M. R.; WANG, X.; MARTÍNEZ, M.; ANADÓN, A.; MARTÍNEZ, M. A. Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. **Food Chemistry**, v. 353, p. 129488, 2021.

YI, B.; KA, H. J.; KIM, M. J.; LEE, J. Effects of curcumin on the oxidative stability of oils depending on type of matrix, photosensitizers, and temperature. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 92, n. 5, p. 685-691, 2015.

YIN, J. I. E.; BECKER, E. M.; ANDERSEN, M. L.; SKIBSTED, L. H. Green tea extract as food antioxidant. Synergism and antagonism with α -tocopherol in vegetable oils and their colloidal systems. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2195-2202, 2012.

YOUSEFI, M.; RAHIMI-NASRABADI, M.; POURMORTAZAVI, S. M.; WYSOKOWSKI, M.; JESIONOWSKI, T.; EHRLICH, H.; MIRSADEGHI, S. Supercritical fluid extraction of essential oils. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 2019.

YUBERO-SERRANO, E. M.; LOPEZ-MORENO, J.; GOMEZ-DELGADO, F.; LOPEZ-MIRANDA, J. Extra virgin olive oil: More than a healthy fat. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 1, p. 8-17, 2019.

ZIELINSKI, A. A. F.; GRANATO, D.; ALBERTI, A.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M.; & HAMINIUK, C. W. I. Modelling the extraction of phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of mixtures of green, white and black teas (*Camellia sinensis* L. *Kuntze*). **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 11, p. 6966-6977, 2015.