

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Nutrição**  
**Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos**



**Tese**

**Caracterização físico-química e sensorial de alimentos à base de folha de *Olea europea* L. e polpa de *Malpighia emarginata* e sua influência sobre parâmetros bioquímicos em *Drosophila melanogaster***

**Camila Castencio Nogueira**

Pelotas, 2024

**Camila Castencio Nogueira**

**Caracterização físico-química e sensorial de alimentos à base de folha de *Olea europaea L.* e polpa de *Malpighia emarginata* e sua influência sobre parâmetros bioquímicos em *Drosophila melanogaster***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Nutrição e Alimentos.

Orientador(a): Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Márcia Arocha Gularde

Pelotas, 2024

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação da Publicação

N778c Nogueira, Camila Castencio

Caracterização físico-química e sensorial de alimentos à base de folha de *Olea europea L.* e polpa de *Malpighia emarginata* e sua influência sobre parâmetros bioquímicos em *Drosophila melanogaster*

[recurso eletrônico] / Camila Castencio Nogueira ; Márcia Arocha Gularde, orientadora. — Pelotas, 2024.

122 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. Compostos bioativos. 2. Subprodutos. 3. Estresse oxidativo. 4. Frutas. 5. Saúde. I. Gularde, Márcia Arocha, orient. II. Título.

CDD 641.1

Elaborada por Simone Godinho Maisonave CRB: 10/1733

Camila Castencio Nogueira

**Caracterização físico-química e sensorial de alimentos à base de folha de *Olea europea L.* e polpa de *Malpighia emarginata* e sua influência sobre parâmetros bioquímicos em *Drosophila melanogaster***

Tese aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Nutrição e Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade Nutrição, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 20/12/2024

Banca examinadora:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Márcia Arocha Gularde  
Orientadora

Doutora em Ciéncia e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dr Guilherme Cassão Marques Bragança

Doutor em Ciéncia e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Simone Pieniz

Doutora Microbiologia Agrícola e do Ambiente pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Bianca Pio Ávila

Doutora Doutor em Ciéncia e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Francine Victória

Doutora Ciéncia e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas

Dedico este trabalho à minha mãe, avó e meu avô (*in memoriam*), que não mediram esforços para que eu alcançasse meus objetivos.

## Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por me dar saúde para seguir em frente.

Em especial as minha mestres mãe e avó, que são meu esteio, meu exemplo de força e fé. Que abdicaram de muitas coisas para que eu chegasse até aqui.

À minha família, por toda ajuda, incentivo e por sempre estarmos juntos a cada novo desafio.

À Profª Dra. Márcia Arocha, pelo incentivo, por todos os ensinamentos com tanto carinho e dedicação e por não medir esforços para que este projeto fosse executado.

Aos colegas do laboratório de análise sensorial, pela receptividade e troca de experiências. Em especial a Alice e Gabriela que partilharam muitas ideias de um projeto grande e já em andamento.

Aos Professores, Juliana Cordeiro, Eliezer Granda e Rodrigo Vaucher por prontamente cederem os laboratórios para realização de algumas análises necessárias ao projeto e por todos os ensinamentos a mim passados.

Aos meus amigos, que graças à Deus são muitos e me acompanham em muitos momentos importantes, são minha força e impulso para continuar.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e alimentos e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Ministério da Educação.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho, muito obrigada!

## Resumo

NOGUEIRA, Camila Castencio. **Caracterização físico-química e sensorial de alimentos à base de folha *Olea europea L* e polpa de *Malpighia emarginata* e sua influência sobre parâmetros bioquímicos de *Drosophila melanogaster*.** Orientadora: Márcia Arocha Gularte. 2024. 121 f. Tese (Doutorado em Nutrição e Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Nutrição e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024.

Um fenômeno complexo como a transição nutricional está sendo observado ao longo dos anos. Percebe-se a redução na desnutrição e o aumento progressivo de sobrepeso e obesidade nos diferentes ciclos de vida. Isso acontece em decorrência de um estilo de vida corrido, principalmente em grandes cidades, com compromissos diários que requerem uma pausa curta para refeições. Diante disso, a presente pesquisa investigou os efeitos da folha de oliveira (*Olea europea L.*), secas e *in natura* bem como, sua aplicação em conjunto com a fruta acerola (*Malpighia emarginata*) em cookies e barras de cereal, e suas avaliações sobre parâmetros bioquímicos em *Drosophila melanogaster*. As folhas de oliveira, ricas em compostos como oleuropeína, e a acerola, que contém altas concentrações de vitamina C e carotenoides, foram analisadas quanto a atividade antioxidante, compostos fenólicos e posteriormente adicionadas aos alimentos, sendo analisados quanto a sua composição e análise sensorial através do software SensoMaker. Posteriormente, avaliou-se através do ensaio biológico com modelo de *Drosophila melanogaster*, foram avaliadas alterações bioquímicas relacionadas à atividade antioxidante, longevidade e testes de comportamento. Os resultados indicaram que a adição de folhas de oliveira e acerola nas dietas teste levou a uma melhora nos parâmetros bioquímicos, como a manutenção da atividade locomotora das moscas. Bem como atividade antioxidante da folha da oliveira *in natura*, e também da acerola, demonstrando seus potenciais para serem utilizadas em diversos produtos alimentares. Além disso, observou-se uma possível promoção da longevidade dos insetos, demonstrando que esses produtos são benéficos ao consumo. Essa pesquisa sugere que a incorporação desses ingredientes em alimentos funcionais, como cookies e barras de cereal, pode oferecer benefícios à saúde, agindo como agentes antioxidantes e auxiliando na prevenção de doenças relacionadas ao envelhecimento e estresse oxidativo.

Palavras-chave: compostos bioativos; subprodutos, estresse oxidativo, frutas, saúde.

## Abstract

NOGUEIRA, Camila Castencio. **Physicochemical and sensorial characterization of foods based on Olea europaea L leaf and Malpighia emarginata pulp and their influence on biochemical parameters of Drosophila melanogaster.** Márcia Arocha Gularte. 2024. 121 f. Thesis (PhD in Nutrition and Food) – Postgraduate Program in Nutrition and Food, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2024.

A complex phenomenon such as nutritional transition has been observed over the years. There has been a reduction in malnutrition and a progressive increase in overweight and obesity in different life cycles. This is due to a busy lifestyle, especially in large cities, with daily commitments that require a short break for meals. In view of this, the present study investigated the effects of olive leaves (*Olea europaea* L.), dried and in natura, as well as their application together with acerola fruit (*Malpighia emarginata*) in cookies and cereal bars, and their evaluations on biochemical parameters in *Drosophila melanogaster*. Olive leaves, rich in compounds such as oleuropein, and acerola, which contains high concentrations of vitamin C and carotenoids, were analyzed for antioxidant activity and phenolic compounds and subsequently added to foods. They were analyzed for their composition and sensory analysis using SensoMaker software. Subsequently, biochemical changes related to antioxidant activity, longevity and neurological response were evaluated through a biological assay using a *Drosophila melanogaster* model. The results indicated that the addition of olive and acerola leaves to foods led to an improvement in biochemical parameters, such as the maintenance of locomotor activity in flies, as well as important antioxidant activities of fresh olive leaves and acerola, demonstrating their potential in being used in various food products. In addition, a possible promotion of insect longevity was observed, demonstrating that these products are beneficial for consumption. This research suggests that the incorporation of these ingredients in functional foods, such as cookies and cereal bars, may offer health benefits, acting as antioxidant agents and helping to prevent diseases related to aging and oxidative stress.

Keywords: bioactive compounds; by-products, oxidative stress, fruits.

## **Lista de Figuras**

Figura 1	<i>Olea europea</i> L.	.....10
Figura 2	Acerola e Aceroleira ( <i>Malpighia emarginata</i> )	.....17
Figura 3	Ácido ascórbico	.....18
Figura 4	β-caroteno	.....20
Figura 5	Licopeno	.....20
Figura 6	Luteína	.....21
Figura 7	Zeaxantina	.....21
Figura 8	Astaxantina	.....22
Figura 9	<i>Drosophila melanogaster</i> fêmeas e machos	.....23
Figura 10	Asa de <i>Drosophila melanogaster</i>	.....24
Figura 11	Estágios do ciclo de vida da <i>Drosophila melanogaster</i>	.....24

**Lista de Tabelas**

Tabela 1 Emissões por 1L de azeite em relação ao consumo global .....	16
---	----

### Lista de abreviaturas e siglas

FO- folha de oliveira

Polpa de acerola

DM- *Drosophila melanogaster*

## Sumário

1.	Introdução .....	10
2.	Objetivos gerais .....	13
2.1	Objetivos específicos.....	13
3	Revisão Bibliográfica.....	14
3.1	Folha de oliveira ( <i>Olea europaea L.</i> ).....	14
3.2	Acerola ( <i>Malpighia emarginata</i> ) .....	16
3.2.1	Ácido ascórbico - Vitamina C.....	17
3.2.2	Vitamina E (VE).....	19
3.3	Carotenoides.....	19
3.4	<i>Drosophila melanogaster</i> .....	23
4.	Projeto de Pesquisa .....	27
5.	Relatório trabalho de campo .....	64
	Artigo 1 .....	65
	Artigo 2.....	75
	Considerações finais .....	106
	Referências Bibliográficas.....	107

## 1. Introdução

O Brasil convive há alguns anos com o processo de transição nutricional, caracterizado pela alteração em seu padrão alimentar, que se interliga com a transição epidemiológica e demográfica. É um fenômeno complexo em que se observa a redução na desnutrição e o aumento progressivo de sobrepeso e obesidade nos diferentes ciclos de vida. Havendo, consequentemente incremento de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT), câncer, doenças cardiovasculares, respiratórias, diabetes, entre outros (Barros et al., 2021). Observa-se, com o passar dos anos cada vez mais um estilo de vida corrido, principalmente em grandes cidades. Com compromissos diários que requerem uma pausa curta para refeições. Há quem faça suas refeições em casa, quem consiga transportar e fazer suas refeições nos locais de trabalho, por exemplo. E quem faça suas refeições na rua, muitas vezes fazendo escolhas mais práticas, mas sem levar em consideração as características nutricionais dos alimentos (Martins et al., 2022).

No entanto, ao passo em que se observa o crescente número de indivíduos obesos ou com sobrepeso, há um aumento na busca por serviços de saúde, incluindo orientações nutricionais, práticas de atividades físicas ao ar livre ou em ambientes fechados (Zanella et al., 2019). Acrescido a estes fatos, existe a preocupação cada vez mais palpável e abordada sobre a sustentabilidade, pois o impacto de grandes produções sobre o meio ambiente e o bem-estar animal, é notável (Correa Júnior et al., 2021). Portanto tem-se objetivado conhecer, as qualidades e os possíveis benefícios de uso de subprodutos da agroindústria, transporte de insumos a regiões mais distantes das suas de origem e até mesmo aplicação em produtos. Pois a exploração integral da produção, fornece valor agregado a cadeia, gera uma economia lucrativa e menos dispendiosa, tanto para o bolso quanto para o ambiente (Moura et al., 2020).

Nesse sentido, a folha de oliveira (FO) (*Olea europaea* L.), é um subproduto originado durante a produção de azeite/azeitona, pois grande parte é descartada nas máquinas durante o processamento dos frutos, onde é feita a limpeza dos galhos, folhas e demais sujidades. Outra parte é descartada durante a época de poda gerando grandes quantidades de folhas descartadas (Romero-Márquez et al., 2024). No Brasil, o Estado do Rio Grande do Sul (RS) é um grande produtor de azeite de oliva, que devido a grande quantidade de chuvas teve sua safra prejudicada no ano de 2024,

passando de 580.228 litros em 2023, para 193.150 litros em 2024, segundo a Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI, 2024). Portanto o descarte de subprodutos como bagaço, água, folhas e ramos é elevado. Geralmente utilizados como adubo, pesticida e para ração animal.

Entretanto, ao longo dos anos tem-se pesquisado os benefícios do uso de FO para consumo humano, seja através de alimentos ou através de fármacos. Sabe-se que a FO é rica em compostos fenólicos como a oleuropeína, a qual possui capacidade antioxidante e tem sido amplamente explorada para uso como antioxidante natural (Cavalheiro et al., 2014; Coppa et al., 2017; Martiny et al., 2018; Bortolini et al., 2021). Pereira et al. (2015), avaliaram a ação antiproliferativa do flavonoide morina e do extrato da FO contra a linhagem de célula de câncer de pulmão (H460). A partir dos ensaios realizados, puderam concluir que na concentração de 800 µg/mL de extrato de FO, houve morte celular por apoptose.

A busca por saudabilidade tem fomentado a demanda por compostos fitoquímicos, produtos naturais (provenientes de extratos de plantas e frutas) e sustentáveis. Após a pandemia global COVID-19, muito se difundiu o assunto sobre o consumo de vitamina C, pois este é um importante micronutriente que deve ser ingerido regularmente e que recebeu destaque durante o período em que a população enfrentava o vírus SARS-COV-2 (De Gois et al., 2023)

Em vista disso e a fim de difundir o consumo de uma fruta rica em vitamina C, no sul do estado, buscou-se analisar a polpa da fruta acerola (A) (*Malpighia emarginata*), fruta derivada da aceroleira. A qual possui excelente potencial de aproveitamento, pois além de seu consumo *in natura*, também pode ser aproveitada para fabricação de sucos, sorvetes, geleias ou até mesmo a extração de ácido ascórbico para uso desta matéria-prima como extrato natural em produtos farmacêuticos (Oledzki; Harasym, 2024; Jacobs et al., 2020). O Brasil é o maior produtor e exportador de acerola do mundo, porém no sul do Estado do RS seu consumo é pouco difundido em algumas regiões (Monte Júnior et al., 2024). Devido a sua perecibilidade, a produção de polpa e suco ainda são os principais destinos dados a esta fruta. No entanto frente a sua alta concentração de compostos bioativos, como: compostos fenólicos, fenilpropanoides, flavonoides, antocianinas, carotenoides, vitamina C, entre outros. É interessante a análise de sua aplicabilidade em formulações distintas (Magalhães et al., 2021).

Por conseguinte, o uso de ensaios biológicos que possam esclarecer com maior detalhamento quais os efeitos dos compostos estudados sobre um organismo vivo, também se faz necessário (May et al., 2019). Nesse sentido a *Drosophila Melanogaster* (DM), tem sido utilizada ao longo dos anos em várias pesquisas tanto genéticas quanto comportamentais. Seu experimento é, por vezes, mais rápido e menos dispendioso e há uma gama de análises que podem ser realizadas: bioquímica, genética, comportamental, toxicidade, entre outros (May et al., 2019; Bajgiran et al., 2021; Bland, 2022; Qush et al., 2023). Em pesquisa realizada por Reis et al. (2023), em que avaliaram o efeito de extratos de morango sobre células de DM, os pesquisadores obtiveram resultados positivos quanto ao efeito anticarcinogênico das amostras em células de DM. Sendo assim, torna-se interessante investigar quais consequências de uma dieta acrescida de FO e A sobre o comportamento da DM. E também de sua aplicação em produtos formulados prontos para consumo, pois acredita-se que a adição destes garante potencial benefícios a saúde dos consumidores, e será benéfico a *Drosophila Melanogaster*.

## 2. Objetivos gerais

Desenvolver biscoitos tipo “cookie” e barra de cereal enriquecidos com folha de oliveira (FO) e polpa de acerola (A). E avaliar os compostos bioativos da FO e da A em ensaio experimental com *Drosophila melanogaster*.

### 2.1 Objetivos específicos

- Avaliar o potencial antioxidante dos extratos de folha de oliveira e polpa de acerola, através dos métodos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), ABTS (2,2-azinobis (3-etylbenzotiazolina-6-sulfonato));
- Determinar os compostos fenólicos totais dos extratos;
- Analisar o consumo de folha de oliveira e da polpa de acerola sobre o comportamento (geotaxia negativa e sobrevivência) e perfil bioquímico em ensaio experimental com *Drosophila melanogaster*;
- Produzir cookies e barras de cereais enriquecidos com FO e A;
- Determinar a composição centesimal dos produtos prontos;
- Realizar as análises microbiológicas de acordo com a legislação vigente para cada produto;
- Avaliar o perfil de textura dos produtos;
- Analisar os produtos através do SensoMaker.

### 3 Revisão Bibliográfica

#### 3.1 Folha de oliveira (*Olea europaea* L)

As folhas da árvore oliveira pertencem à família Oleaceae (Figura 1). A árvore possui fruto comestível denominado azeitona/ oliva, o qual se encontra na sua forma *in natura* para consumo direto ou podendo ser utilizada extração do conteúdo lipídico óleo para produção de azeite. As folhas fazem parte do ciclo de vida no cultivo da azeitona. Porém, devido ao descarte gerado na época de poda e na época de colheita do fruto, acabam por se tornarem subprodutos de resíduos agrícolas que geram custos e problemas ambientais (Romero-Márquez et al., 2024). No Brasil, tem ganhado espaço, sobretudo, no Rio Grande do Sul, onde já em 1820 Auguste de Saint-Hilaire registrou o consumo de seu fruto (Saint-Hilaire, 2002).

Figura 1 - *Olea europaea* L.



Fonte: Google imagens

Em 1947, através da Lei nº 59 do Governo do Estado do Rio Grande do Sul, o Deputado Estadual Celeste Gobato, institui a Comissão de Estudo e Fomento do Cultivo da Oliveira e Industrialização. Logo após o serviço Oleícola é criado na Secretaria da Agricultura e no ano de 2008 a Secretaria da Agricultura criou o “Grupo Técnico – Pesquisa e Extensão em Olivicultura” composto por pesquisadores e extensionistas para elaborar, avaliar e sugerir orientações aos produtores (Secretaria da agricultura) (Gomes, 1979).

O Rio Grande do Sul concentra a maior produção de olivais na Metade Sul, tendo como principais produtores as cidades de Encruzilhada do Sul, Canguçu, Pinheiro Machado, Caçapava do Sul, São Sepé, Cachoeira do Sul, Santana do Livramento, Bagé, Barra do Ribeiro e Sentinela do Sul. As variedades mais produzidas, Arbequina, Koroneiki, Picual, Arbósana e Frantoio, a região possui clima adequado a sua produção, com temperaturas que variam de 3 °C a 15 °C no inverno e de 25 °C a 35 °C no verão.

Em relação ao mercado, pode-se fazer uma breve observação acerca da última safra no estado (2020/2021), a qual foi marcada por condições climáticas adversas, diminuindo a produção de azeite em relação à safra anterior. Esta última é estimada em 48.000 litros de azeite, ao passo que a anterior ficou próxima a 200 mil litros. Os fatores que influenciam são os mais variados, entretanto, aqueles determinantes para esta redução são: poucos períodos de frio até o final do mês de junho; ondas de calor durante o inverno; antecipação de brotações; chuvas volumosas e grande número de dias de chuva em outubro, período em que ocorre a floração (Pró-Oliva, 2020). No entanto no ano de 2022/2023, a Secretaria de Agricultura do estado registrou mais de 580mil litros, possuindo o estado 340 produtores em 4,3 mil hectares de área produtiva (Secretaria Do Estado Do Rio Grande Do Sul, 2023).

Essa grande produção de azeitonas gera subprodutos, que tem impacto ambientais que devem ser considerados, como bagaço, água da vegetação, as folhas e ramos. Estes subprodutos são utilizados de diferentes formas e são geralmente como: adubo, herbicida e pesticida, ração animal, etc. Entretanto, são produtos com alto valor agregado e que, após processados, poderiam ser utilizados para consumo humano. A poda se faz necessária para saúde do olival e é gerado um grande volume de folhas de oliveira. Na época de colheita os resíduos de folhas e ramos devem ser separados das azeitonas e removidos ao chegarem no lagar (local com aparelhagem para espremer os frutos, fazendo com que os mesmos sejam transformados em líquido) (Ferraz, 2012).

Estima-se que as folhas apresentam 25% do peso seco do total dos resíduos da poda, portanto, pode ser uma boa fonte de materiais a serem utilizados na perspectiva de agregação de valor (Manzanares et al., 2017). Avraamides; Fatta (2008), analisaram ciclo de vida a fim de identificar os elementos e processos que geram os problemas ambientais mais significativos. A Tabela 1 apresenta o consumo

geral e as emissões por produção de 1 litro de azeite de oliva, com o número total sendo dividido pelos vários subprocessos, incluindo fertilização, irrigação, poda.

Tabela 1 - Emissões por 1L de azeite em relação ao consumo global

	Consumo Total (g)	Processo de poda (g)
Consumo de petróleo bruto	495	48,7
Consumo de água fresca	3,194,000	0
Emissões de dióxido de carbono	3,900	909
Emissão de óxidos de nitrogênio	32,2	3,7
Emissões de dióxido de enxofre	13,7	1,3

Fonte: Adaptada de Espeso et al. (2021)

Pode-se observar que são emitidos 3,9 kg de CO<sub>2</sub> por litro de azeite produzido. Já o processo de poda gera 909 g de CO<sub>2</sub>, sendo a maior parte gerada quando estes resíduos são queimados (Avraamides; Fatta, 2008). Diante disso, faz-se necessária pesquisas que possam salientar os possíveis benefícios das FO e seu potencial de utilização para consumo humano.

### 3.2 Acerola (*Malpighia emarginata*)

A acerola é fruto da aceroleira, é originária da América Central e América do Sul. O formato lembra a cereja (*Prunus avium*), e pode apresentar-se entre as cores vermelho e amarelo, com polpa amarelada de sabor azedo característico (Miskinis et al., 2023). A fruta contém baixo teor calórico, porém, rica em compostos minerais, como fósforo, potássio, zinco, vitaminas, auxilia na prevenção do envelhecimento precoce das células, aumento e manutenção das defesas do sistema imunológico e doenças degenerativas. É a fruta de maior teor de ácido ascórbico (vitamina C), variando de acordo com estágio de maturação (Prakash; Baskaran, 2018). Quanto mais madura, menor o teor de vitamina C, de acordo com estudo de Freitas et al. (2006), onde diferentes relatos foram apresentados, observando-se uma grande variação dessa vitamina, entre 779 mg a 3.094,43 mg em 100 g de polpa.

Portanto, a acerola pode ser considerada um alimento funcional pela presença de ácido ascórbico, carotenoides, antocianinas, flavonoides e compostos fenólicos. Quando consumida frequentemente, traz benefícios fisiológicos, pela presença de compostos bioativos naturalmente encontrados na fruta (Ribeiro; De Freitas, 2020). A

acerola possui grande aproveitamento industrial, tem sabor agradável, podendo ser consumida in natura, polpas congeladas, sorvetes, bolos, suplementos alimentares, aditivos alimentares e cosméticos (Mezadri et al., 2006). A Resolução RDC nº 269 de 2005 (Brasil, 2005), estabelece que adultos devem ter uma ingestão diária recomendada de 45 mg de vitamina C, crianças de 0 a 10 anos em 25 mg a 35 mg de vitamina C e gestantes 55 mg lactantes 70 mg, portanto o consumo de acerola in natura ou seus produtos tendem a suprir a necessidade diária do indivíduo saudável, levando em conta as altas concentrações de vitamina C em 100 mg de polpa de acerola.

O potencial antioxidante da vitamina C, presente na fruta, é benéfico ao homem e tem se revelado cada vez mais importante no desenvolvimento e inovação de produtos à base dessa fruta, indo ao encontro da prevenção de doenças. A suplementação de vitamina C com produtos à base de acerola pode ser um importante aliado no mantimento e aumento das defesas do indivíduo.

Figura 2 – Acerola e Aceroleira (*Malpighia emarginata*)



Fonte: Google imagens

### 3.3 Vitaminas

#### 3.2.1 Ácido ascórbico - Vitamina C

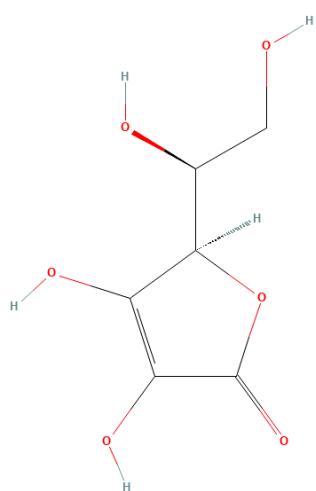
Cientificamente denominada de ácido ascórbico, sendo encontrada sob duas formas: oxidada (ácido deidroascórbico) e reduzida (ácido ascórbico) (Souza et al., 2022), possui como características ser hidrossolúvel, termolábil e sensível a luz. Seu consumo através da alimentação se faz necessário, pois o organismo não é capaz de sintetizá-la. Sendo assim, afim de evitar o escorbuto, doença causada pela deficiência de vitamina C, a qual pode causar fadiga, inflamação na gengiva e dores nas

articulações (Nichelle e Melo, 2018) é que a Ingestão Diária Recomendada é de 45mg/dia (Brasil, 2005).

Além disso, cada vez mais estudos são realizados, pois ela é capaz de atuar como antioxidante natural podendo ser responsável pela captura de radicais livres gerados a partir do estresse oxidativo (Zou et al., 2016). Atua em reações com a capacidade de doar elétrons a enzimas impedindo, assim, que o estresse oxidativo progrida, ajuda na absorção de ferro, auxilia no sistema imunológico, ajuda na produção de colágeno, dentre outras (Belisário et al., 2020). As frutas cítricas estão entre as principais fontes de vitamina C, possuindo, a acerola, cerca de 900-4500 mg em 100g de fruta. Outra fruta altamente reconhecida por seu teor de vitamina C é o camu-camu, em estudo realizado por Garcia et al. (2020), os autores obtiveram  $6754.7 \pm 215.8$  mg em 100g de polpa da fruta camu-camu.

A vitamina C participa de processos importantes ao organismo, como a facilitação da absorção do ferro, pois, o ácido ascórbico é capaz de reduzir o ferro férrico ( $\text{Fe} +3$ ) à ferro ferroso 21 ( $\text{Fe} +2$ ) (Silva et al, 2022). Dessa forma, como já mencionado, suas fontes alimentares e seus benefícios são capazes de prevenir diversas doenças, como DCNT e câncer, pela sua ação antioxidante (Gillberg et al., 2017).

Figura 3- Ácido ascórbico



Fonte: Pubchem, 2024.

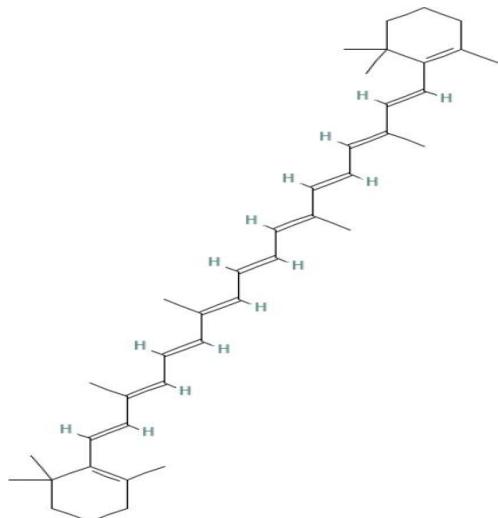
### 3.2.2 Vitamina E (VE)

As formas ativas desta vitamina são tocoferol e tocotrienol e possuem característica lipossolúvel. Sendo o alfa tocoferol é a forma mais ativa. Os óleos vegetais são as principais fontes alimentares dessa vitamina, a qual possui a ação antioxidante como função dominante e papel fundamental na manutenção da integridade da membrana das células (Radhakrishnan et al., 2013). A VE, atua no sistema imune através da sua ação antioxidante, melhorando a atividade citotóxica das células Natural Killer (NK), aumentando o número de células T e proliferação de linfócitos mitogênicos, aumentar a secreção de citocinas IL-2 e diminuir o risco de infecção (Lewis et al., 2019). Sua ingestão diária recomendada segundo a RDC nº 269 é de 10mg (Brasil, 2005). A sua suplementação também demonstrou aumentar a resistência a infecções respiratórias [WHO, 2018; NICE, 2009]. Vale ressaltar que os tocoferóis mistos são mais eficazes do que o α-tocoferol sozinho, devido à variedade de receptores para esses nutrientes (GBD, 2015).

### 3.3 Carotenoides

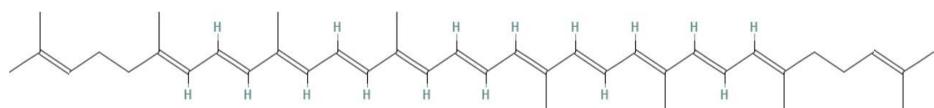
São pigmentos que ocorrem naturalmente em vegetais, caracterizados por serem lipossolúveis e apresentam colorações que variam entre amarelo, laranja e vermelho. São encontrados nos cloroplastos da célula vegetal, juntamente com as clorofilas. Durante o processo de amadurecimento das frutas, os cloroplastos normalmente se transformam em cromoplastos, estimulando assim, a síntese de novos carotenoides (Horst; Moreno, 2009; Costa; Rosa, 2010). Do ponto de vista químico, carotenoides são compostos polisoprenóides e podem ser divididos em dois grupos (Meschede et al., 2011): carotenos ou carotenóides hidrocarbonos - que são compostos apenas de carbono e hidrogênio; neste grupo encontram-se o β-caroteno e o licopeno (Figuras 4 e 5). E as Xantofilas, que são derivados oxigenados dos carotenos e contém pelo menos uma função hidroxi, ceto, epóxi, metoxi ou ácido carboxílico; neste grupo estão incluídos a luteína, zeaxantina e astaxantina (Figuras 6, 7, e 8).

Figura 4-  $\beta$ -caroteno



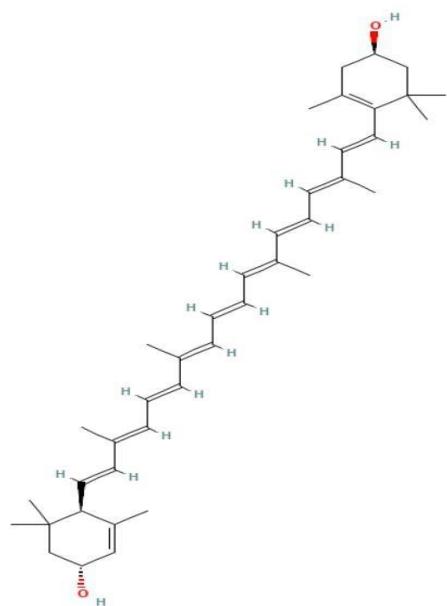
Fonte: Pubchem, 2024.

Figura 5- Licopeno



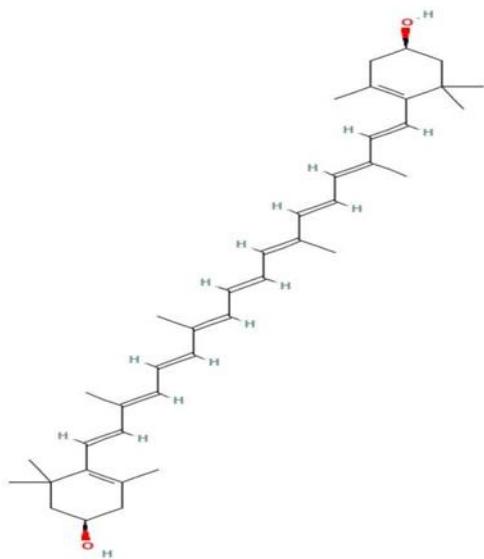
Fonte: Pubchem, 2024.

Figura 6- Luteína



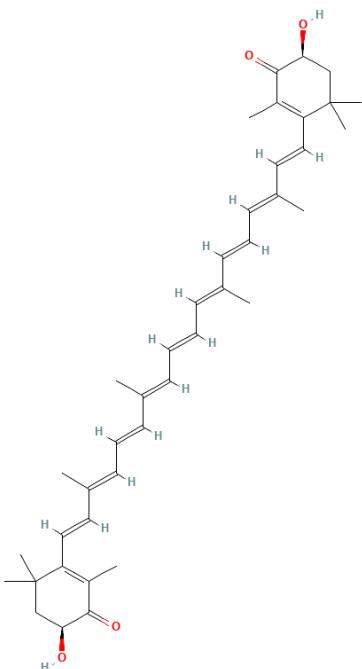
Fonte: Pubchem,2024.

Figura 7- Zeaxantina



Fonte: Pubchem,2024.

Figura 8- Astaxantina



Fonte: Pubchem,2024.

Estes compostos constituem um dos mais importantes grupos de pigmentos na natureza, devido às suas inúmeras funções, larga distribuição e diversidade estrutural (Oliver e Palou, 2000). Uma das suas principais funções é a atividade provitamina A. A vitamina A (VA) pertence à classe de compostos que são relacionados de forma estrutural e conhecidos como retinoides. Porém, sua forma circulante no sangue é como retinol (Xiao et al., 2018). Segundo a Resolução-RDC nº 269 de 2005, sua ingestão diária recomendada é de 600µg de retinol (Brasil, 2005).

A hipovitaminose A é um problema de saúde pública em muitos países em desenvolvimento, pois esta vitamina tem função imprescindível na visão, possuindo também, reconhecida atividade antioxidante, crescimento ósseo e auxiliando na manutenção das células das mucosas que funcionam como barreira para infecções (Solomons, 2016). Dentre os carotenoides, o β-caroteno é o que apresenta maior atividade de vitamina A e o mais abundante em alimentos (Olson, 1999). Os diversos carotenoides apresentam biodisponibilidades diferenciadas, pois devido a da presença das insaturações, eles são sensíveis à luz, temperatura, acidez e à presença de oxigênio (Ambrósio, 2006; Gomes, 2007). O conteúdo de carotenoides depende

de vários fatores, incluindo a variedade genética, estágio de maturação e manuseio pós-colheita (Capecka et al., 2005). Segundo Pacetta (2007), foram encontrados nas folhas de oliveira de 22,95 a 26,12 mg.100g<sup>-1</sup> de carotenoides, expressos como luteína e zeaxantina, respectivamente. O teor de β-caroteno encontrado foi de 10,76 mg.100g<sup>-1</sup>.

### 3.4 *Drosophila melanogaster*

A *Drosophila melanogaster* (DM) (Figura 9), é um díptero pertencente à família Drosophilidae e é popularmente chamada de mosca-da-fruta, pois é comumente encontrada sobre frutas maduras. Emergiu como um organismo modelo para estudo de teorias evolutivas e após de segurança de medicamentos, devido ao fato que as moscas possuem semelhança genética e fisiológica com os seres humanos, fácil manipulação e possuem ciclo de vida curto (Oyaluna et al., 2024). Seus estudos iniciais datam de 1901, por Castle e foi explorada geneticamente em 1909 por Morgan (Roberts, 1998).

Figura 9 – *Drosophila melanogaster* fêmeas e machos

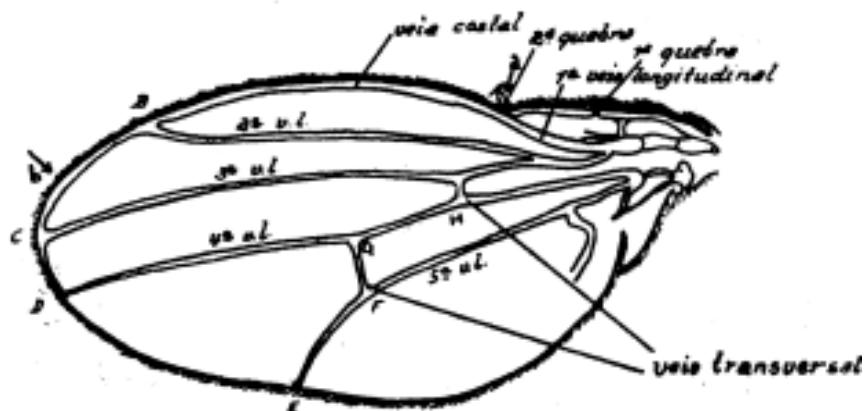


Fonte: Arquivo pessoal da autora

A DM apresenta corpo dividido em cabeça, tórax e abdômen. A cabeça possui pelos, um par de antenas, dois olhos de cor vermelha, cerdas orbitais e orais. Seu tórax, de coloração amarelada, é dividido em três segmentos, sendo os dois primeiros chamados de dorso e o terceiro denominado escutelo. Para cada segmento do tórax

existe um par de patas, as quais são constituídas por: coxa, trocanter, fêmur, tíbia e tarso (Aguiar, 2015). Apresenta também, cerdas e um par de asas laterais com seis nervuras longitudinais e duas transversais (Figura 10).

Figura 10 - Asa de *Drosophila melanogaster*.

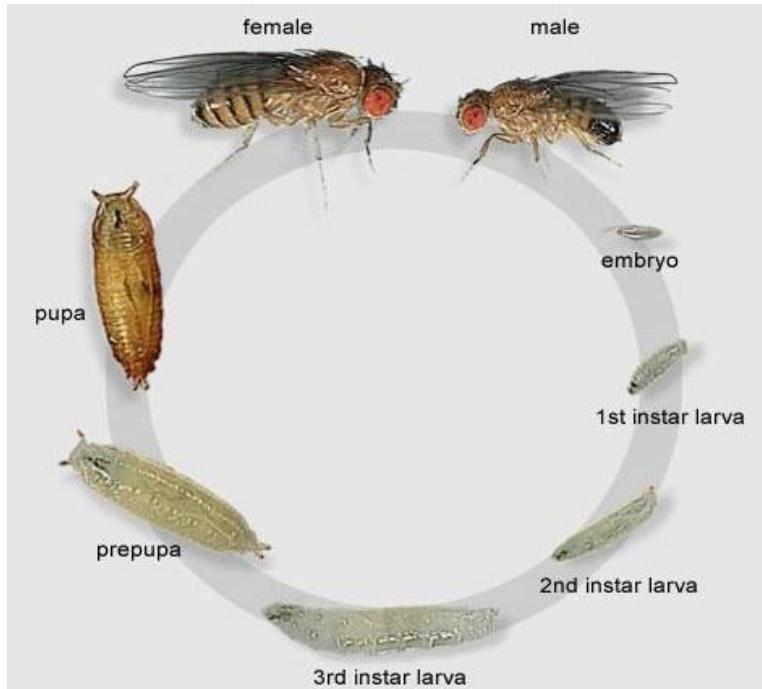


Fonte: Adaptado de Freire-Maia; Pavan, 1949.

O abdômen é segmentado e apresenta-se em parte pigmentado de preto. Tendo a fêmea a parte dorsal do abdômen pigmentadas e com as bandas distintas umas das outras enquanto o macho apresenta as bandas fundidas. Os machos possuem ornamentos tarsais, encontrados nas patas anteriores, representados por pentes sexuais (franja de cerca de 10 cerdas grossas e pretas). Pode ser utilizado como critério mais confiável para distinção de sexo em moscas jovens. Dispõem de tubos de Malpighi, testículos, bomba espermática, receptáculo ventral e espermateca (Freire-Maia; Pavan, 1949).

No desenvolvimento e ciclo de vida possui quatro estágios: ovo, larva, pupa e adulto, levando em torno de 10 dias para se completar (Amoretty et al., 2013).

Figura 11 - Estágios do ciclo de vida da *Drosophila melanogaster*



Fonte: Google imagens

O ovo apresenta um invólucro denominado córion. A larva de coloração branca é envolta por uma cutícula que é substituída periodicamente até alcançar o tamanho adulto (Meena et al., 2024). Esse fenômeno se chama muda e o período entre duas mudas sucessivas chama-se instar, ocorrendo três instares e duas mudas. Após o terceiro instar, a larva permanece se alimentando até se tornar pupa, em que a larva sai do meio de cultura para um local seco e cessa seus movimentos (Kumar et al., 2024).

Já a pupa apresenta cutícula mais dura e pigmentada, a qual se denomina puparium, sendo sua principal função permitir o desenvolvimento de tecidos da estrutura de um adulto, através da destruição dos tecidos larvares, os quais fornecem energia e material para este processo (Bailly et al., 2023).

As moscas possuem sistema nervoso central (SNC), o qual contém cerca de 140.000 neurônios, desempenhando diversas funções, como sentidos sensoriais (olfato, paladar, visão e audição), comportamento como voo e caminhada e dependendo da experiência, aprendizagem e memória (Ramdy; Benton, 2010). Seu genoma apresenta cerca de 77% dos loci associados a doenças humanas. Devido a isso diversos estudos tem focado nas doenças de Alzheimer e Parkinson (Adedayo et al., 2023; Haddadi et al., 2024; Poleto et al., 2024; Adedara et al., 2024). Também tem sido muito explorada em estudos farmacológicos, toxicidade de fármacos e novos produtos e compostos (Lee et al., 2019; Lopes et al., 2022; Du et al., 2024).

São facilmente capturadas e sua manutenção em laboratório é relativamente menos dispendiosa, em comparação a outros modelos experimentais. Em laboratório, a DM é alocada em frascos de vidro, esterilizados em autoclave, vedados com tecido ‘voal’ e atilhos de látex ou com tampas feitas de esponja. Têm alta e rápida capacidade reprodutiva podendo uma mosca fêmea colocar até 100 ovos, se estiver em condições ambientais adequadas para isto, como a temperatura entre 22 °C a 25 °C e com ciclo claro/escuro de 12h. Existem diversos meios de cultura em que as moscas podem ser mantidas, porém a dieta padrão costuma ser composta por levedura, farinha de milho, água, ágar e açúcar. Sendo adicionado nipagin para evitar fungos (Shilman et al., 2024).

Kayode et al., (2023), analisaram dieta cetogênica e uma mistura a base de tomate como opção de remédio para tratamento da síndrome metabólica. Os pesquisadores obtiveram como resultados que incluir a dieta cetogênica e o mix de tomate em pó, por 5 dias, foi uma estratégia eficaz na maioria dos parâmetros bioquímicos avaliados. Leow et al. em 2018, avaliaram o possível efeito antienvelhecimento do suco da fruta de palma (*Elaeis guineensis*), e no ciclo de vida da DM, o suco atrasou o crescimento das larvas e o estágio de pupa, os processos de transporte e metabólicos foram regulados positivamente observando que o suco prolongou o processo de envelhecimento das moscas.

Catalani e colaboradores (2023), ao avaliarem a atividade da plumbagina sobre o efeito em danos induzidos na retina por glicose, observaram propriedades neuroprotetoras contra os danos hiperglicêmicos. Esta pode atuar de forma aditiva ou sinérgica em vias que previnem o comprometimento neuronal e danos oculares induzidos por espécies reativas de oxigênio. Tais estudos corroboram o fato que a DM é um excelente modelo experimental, trazendo clareza sobre diversos

#### 4. Projeto de Pesquisa

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Nutrição**  
**Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos**



**Potencial imunológico de produtos alimentícios enriquecidos com  
vitaminas**

**Camila Castencio Nogueira**

Pelotas, 2022

**Camila Castencio Nogueira**

**Potencial imunológico de produtos alimentícios enriquecidos com vitaminas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Nutrição e Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Arocha Gularde

Pelotas, 2022

## Resumo

NOGUEIRA, Camila Castencio. **Potencial imunológico de produtos alimentícios enriquecidos com vitaminas.** Orientadora: Márcia Arocha Gularde. 2021. 42 f. Tese (Doutorado em Nutrição e Alimentos) – Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

As mudanças constantes no estilo de vida, acabaram resultando em hábitos mais sedentários e escolhas alimentares que sejam mais práticas sem, muitas vezes, considerar o valor nutricional das mesmas. Tais fatores contribuem para uma baixa imunidade devido ao aporte insuficiente de nutrientes ao organismo e, consequentemente levando a um número cada vez mais crescente de doenças. Entretanto um número crescente de indivíduos busca por alimentos que sejam saudáveis e sustentáveis. Devido a este fato a pesquisadores tem estudado formas de utilizar resíduos da agroindústria na alimentação humana, a fim de usufruir dos potenciais benefícios nutricionais que estes possuem, e consequentemente, reduzir agressão ambiental. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é desenvolver dois produtos, biscoitos tipo cookie e barras de cereal, com farinha de folha de *Olea europaea L.* e microencapsulado de suco concentrado de acerola. Para isto, serão realizadas análises de composição centesimal, microbiológicas, análises de atividade antioxidante, caracterização da qualidade dos produtos formulados e análise experimental utilizando *Drosophila Melanogaster*.

## Abstract

NOGUEIRA, Camila Castencio. **Immune potential of vitamin-enriched products.** Advisor: **Márcia Arocha Gularde.** 2021. 42 f. Thesis (Doctorate degree in Nutritionand Foods) – Faculty of Nutrition, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

As constant nutritional changes in lifestyle, end up in more sedentary eating habits and food choices that are more practical without, often, considering their value. to factors contributing to a low importance due to the organism and, consequently, to an increasing number of diseases. However, an increasing number search for numbers is number and number. Due to this fact, the investigation has ways of potential uses of agroindustry in human food, in order to benefit from the nutritional benefits they have, and consequently, reduction of environmental aggression. Therefore, the objective of this work is to develop two products, cookies and cereal bars, with *Olea europaea* L. leaf flour and microencapsulated acerola juice concentrate. For this, the quality of the antioxidant proximate composition, the analysis of the antioxidant activity, the characterization of the quality of the formulated and experimental products using *Drosophilaogaster* will be analyzed.

**Lista de Figuras**

Figura 1	Estrutura química do Betacaroteno.....	5
Figura 2	Estrutura química do Licopeno.....	5
Figura 3	Estrutura química da Luteína.....	6
Figura 4	Estrutura química da Zeaxantina .....	6
Figura 5	Vitamina C .....	8
Figura 6	Acerola .....	11
Figura 7	<i>Olea europaea L</i> .....	13

**Lista de Tabelas**

Tabela 1	Composição dos biscoitos tipo <i>cookie</i> .....	18
----------	---	----

## SUMARIO

Introdução .....	1
2. Objetivos .....	2
2.1 Objetivo Geral .....	2
2.2 Objetivos Específicos.....	2
3. Revisão .....	3
3.1 Sistema Imune .....	3
3.2 Carotenoides .....	4
3.3 Ácido Ascórbico – Vitamina C .....	7
3.4 Vitamina E .....	9
3.5 Acerola .....	9
3.6 Olea europaea L. ....	11
3.7 Microencapsulação .....	13
4. Materiais e métodos .....	18
4.1 Amostras .....	18
4.2 Elaboração dos Biscoitos tipo Cookie .....	18
4.3 Elaboração das Barras de Cereais .....	19
4.4 Análise dos produtos .....	20
4.4.1 Composição centesimal .....	20
4.4.1.1 Umidade .....	20
4.4.1.2 Cinzas .....	20
4.4.1.3 Extrato Etéreo .....	21
4.4.1.4 Proteína Bruta .....	21
4.4.1.5 Fibra Bruta .....	22
4.4.1.6 Carboidratos .....	23
4.4.1.7 Valor Energético Total .....	23
4.4.2 Capacidade Antioxidante – DPPH .....	24
4.4.3 Capacidade Antioxidante – ABTS .....	24
4.4.5 Compostos fenólicos - Folin- Ciocalteau .....	25
4.4.6 Perfil Colorimétrico .....	25
4.4.10 Sólidos solúveis .....	26
4.4.12 Perfil de textura .....	26
4.4.12.1 Biscoitos tipo Cookie .....	26
4.4.12.2 Barras de cereal .....	27
4.4.13 Análises microbiológicas .....	27
4.4.13.1 Biscoitos tipo Cookie .....	27
4.4.13.2 Barras de cereais .....	27
4.5 Análise Sensorial .....	27
4.5.1 Teste de Dominância Temporal das Sensações .....	28
4.6 Drosophila Melanogaster .....	28
5. Análise Estatística .....	29
6. Cronograma .....	29
7. Orçamento .....	30
Referências Bibliográficas .....	31

## 1. Introdução

A crescente preocupação com a saúde tornou-se fator preditor para o comportamento de consumo alimentar da população (Aschemann-Witzel et al., 2013; Aschner, 2015). Isso se deve as mudanças constantes no estilo de vida, que acabaram resultando em hábitos mais sedentários e escolhas alimentares que sejam mais práticas sem, muitas vezes, considerar o valor nutricional das mesmas (Tonsor et al., 2007). Tais fatores contribuem para uma baixa imunidade devido ao aporte insuficiente de nutrientes ao organismo e, consequentemente levando a um número cada vez mais crescente de doenças (Maggini et al., 2017). O sistema imune é responsável por proteger o organismo contra infecções, que podem ser extrínsecas ou intrínsecas, reconhecendo e respondendo aos抗ígenos. Esse sistema complexo, utiliza diversas barreiras para que possa manter o equilíbrio do organismo, e é conceituado em imunidade inata e adaptativa (Castelo-Branco; Soveral, 2014; Alpert, 2017). Imunidade inata, não é específica, e envolve barreiras que constituem a primeira linha de defesa do corpo. Em relação a imunidade adquirida, esta, se desenvolve à medida que é exposta a vários抗ígenos, apresentando resposta específica ao抗ígeno mediada pelos linfócitos B e T (Maggini et al., 2018). A resposta imunológica desenvolve-se e evolui conforme a idade do indivíduo, porém existem diversos fatores que influenciam na eficácia da sua função. Estresse, sono desregulado, idade, consumo excessivo de álcool e outras drogas, uso de alguns medicamentos, predisposições genéticas, ciclo menstrual, algumas doenças e alimentação inadequada podem acarretar em declínio na capacidade de defesa do organismo (Schaefer, 2016; Gombart et al., 2020). Um bom estado nutricional, aporte adequado de macro e micronutrientes, é extremamente importante e essencial para o desenvolvimento, manutenção e expressão da resposta imune e consequentemente prevenção de doenças. Dentre os micronutrientes, as vitaminas A, C e E, e os desempenham papel chave na regulação do sistema imune (Haryanto et al., 2015).

Atualmente, parte da população vem buscando acrescentar práticas saudáveis ao seu dia a dia e tem demonstrado constante preocupação com a saúde em geral, mas principalmente com a imunidade e a forma como esta se comporta frente ao surgimento de novas doenças infecciosas, causadas por vírus (atualmente coronavírus – COVID-19) e outros patógenos (Caracciolo et al., 2019). Concomitantemente com a busca por uma produção de alimentos que seja mais limpa,

sustentável e que forneça benefícios a saúde. Alimentos que utilizem subprodutos da produção industrial, tem atraído notavelmente o interesse de pesquisadores e consumidores que buscam alimentos saudáveis e que, sejam concomitantemente, sustentáveis. Evitando seu desperdício e aproveitando o que estes resíduos possuem de melhor, pois mostram apresentar em sua composição, nutrientes imprescindíveis ao consumo humano. (Aschemann-Witzel et al., 2013). Diante do exposto, justifica-se desenvolver produtos prontos para consumo. Bem como, avaliar sua composição físico-química, estabilidade, características e aceitação sensorial.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo geral**

Desenvolver biscoitos tipo “cookie” e barras de cereais com folhas de *Olea europaea* L. e microencapsulado de suco concentrado de acerola.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Análise experimental das amostras de folha de oliveira e acerola, através de estudo com *Drosophila melanogaster*;
- Avaliar o potencial antioxidante dos extratos de folha de oliveira e acerola, através dos métodos DPPH (2,2-difenil-1- picril-hidrazil), ABTS (2,2 AZINO BIS (3- 3 ethylbenzo – thiazoline – 6 – sulfonic acid) diammonium salt);
- Avaliar os compostos fenólicos totais dos extratos;
- Realizar a preparação dos produtos: cookies, barras de cereais;
- Caracterizar a composição centesimal dos produtos prontos;
- Realizar as análises microbiológicas de acordo com a legislação vigente para cada produto;
- Avaliar o perfil de textura dos produtos;
- Análise sensorial através software do SensoMaker.

### **3. Revisão Bibliográfica**

#### **3.1 Sistema imune**

A principal barreira de defesa do organismo é o sistema imune (SI), o protegendo desde o nascimento até o fim do ciclo da vida. Inicialmente, a resposta imunológica é imatura e aprimora-se à medida que o corpo vai sendo apresentado a diferentes抗ígenos, fazendo com que as células da resposta imunológica sejam mais eficientes. O corpo humano possui dois tipos de linha de defesa, a imunidade inata, primeira linha de defesa, a qual é obtida ao nascer. E a imunidade adquirida, esta, se desenvolve à medida que é exposta a vários抗ígenos, apresentando resposta específica ao抗ígeno mediada pelos linfócitos B e T (Maggini et al., 2018). É um sistema complexo que atua de diferentes maneiras, através das barreiras físicas (pele, revestimento epitelial dos tratos gastrointestinal e respiratório), bioquímicas (secreções, muco e ácido gástrico), células imunológicas (granulócitos, macrófagos e linfócitos) e anticorpos (imunoglobulinas - IgG, IgA, IgM) (Pandya et al., 2016).

Existem órgãos que compõem o SI, tais como as Placas de Peyer ou conglomerados Linfonodulares Ileais são agregados de nódulos linfáticos que constituem um componente principal do tecido linfático associado ao intestino (GALT). Há também atuação do apêndice, promovendo crescimento populacional de bactérias benéficas para o organismo e facilitando o repovoamento dessas bactérias no cólon (Calder et al., 2013; Watson et al., 2010). Entretanto, uma função imunológica eficiente depende de um sistema imunológico saudável.

Micronutrientes possuem papel vital no sistema imune. Os principais micronutrientes incluem as vitaminas A, C, D, E, ácido fólico, betacaroteno, e minerais como ferro, selênio e zinco (Alpert et al., 2017). É reconhecido, ao redor do mundo, que a ingestão deficiente e inadequada de micronutrientes é comum. E certos micronutrientes são mais susceptíveis a serem ingeridos de forma insuficiente em diferentes estágios de vida (Haryanto et al., 2015). Uma alimentação adequada é crucial para garantir um bom fornecimento das fontes de energia, macronutrientes e micronutrientes necessários para o desenvolvimento, manutenção e expressão da resposta imune (Saeed et al., 2016).

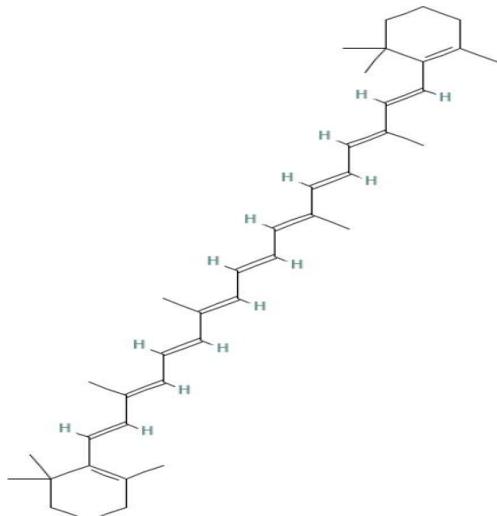
Entretanto, nem sempre possível alcançar bom estado nutricional somente através da dieta, havendo necessidade de suplementação. Em países em desenvolvimento pode ser difícil encontrar um fornecimento adequado e com

variedade de alimentos, que também possam ser acessíveis a população. As questões sociais, econômicas, educacionais, étnicas e culturais influenciam a dieta e podem afetar negativamente o status de micronutrientes presentes no organismo de um indivíduo (Schaefer et al., 2017).

### 3.2 Carotenoides

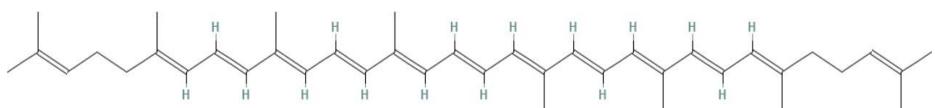
São pigmentos que ocorrem naturalmente em vegetais, caracterizados por serem lipossolúveis e apresentam colorações que variam entre amarelo, laranja e vermelho. São encontrados nos cloroplastos da célula vegetal, juntamente com as clorofilas. Durante o processo de amadurecimento das frutas, os cloroplastos normalmente se transformam em cromoplastos, estimulando assim, a síntese de novos carotenoides (Costa; Rosa, 2010; Horst; Moreno, 2009). Do ponto de vista químico, carotenoides são compostos polisoprenóides e podem ser divididos em dois grupos (Meschede et al., 2011): carotenos ou carotenóides hidrocarbonos - que são compostos apenas de carbono e hidrogênio; neste grupo encontram-se o  $\beta$ -caroteno e o licopeno (Figuras 1 e 2). E as Xantofilas, que são derivados oxigenados dos carotenos e contém pelo menos uma função hidroxi, ceto, epóxi, metoxi ou ácido carboxílico; neste grupo estão incluídos a luteína, zeaxantina e astaxantina (Figuras 3, 4 e 5).

Figura 1-  $\beta$ -caroteno



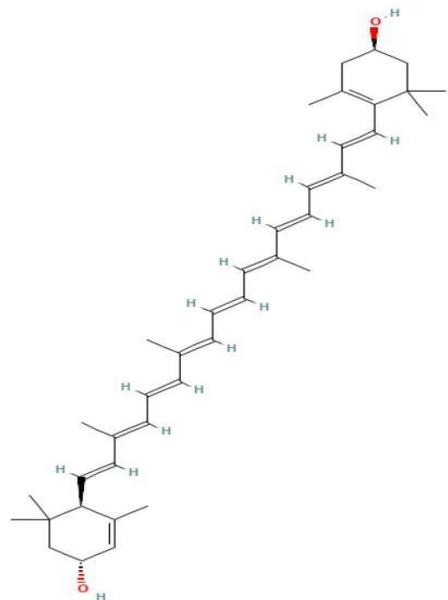
Fonte: Pubchem

Figura 2- Licopeno



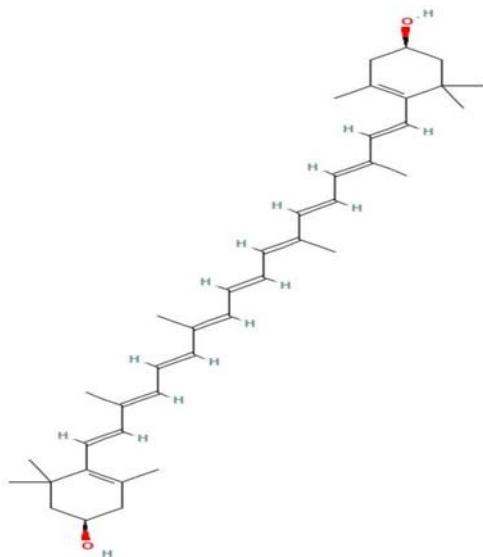
Fonte: Pubchem

Figura 3- Luteína



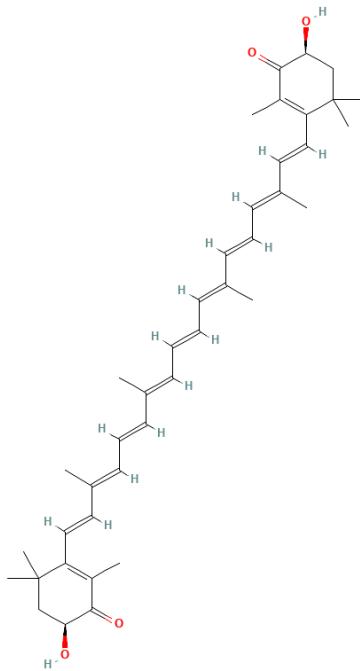
Fonte: Pubchem

Figura 4- Zeaxantina



Fonte: Pubchem

Figura 5- Astaxantina



Fonte: Pubchem

Estes compostos constituem um dos mais importantes grupos de pigmentos na natureza, devido às suas inúmeras funções, larga distribuição e diversidade estrutural (Oliver; Palou, 2000). Uma das suas principais funções é a atividade provitamina A. A vitamina A (VA) pertence à classe de compostos que são relacionados de forma

estrutural e conhecidos como retinoides. Porém, sua forma circulante no sangue é como retinol (Xiao et al., 2018). Segundo a Resolução-RDC nº 269 de 2005, sua ingestão diária recomendada é de 600 $\mu$ g de retinol (Ministério Da Saúde, 2005).

A hipovitaminose A é um problema de saúde pública em muitos países em desenvolvimento, pois esta vitamina tem função imprescindível na visão, possuindo também, reconhecida atividade antioxidante, crescimento ósseo e auxiliando na manutenção das células das mucosas que funcionam como barreira para infecções (Solomons, 2016). Dentre os carotenoides, o  $\beta$ -caroteno é o que apresenta maior atividade de vitamina A e o mais abundante em alimentos (Olson, 1999). Os diversos carotenoides apresentam biodisponibilidades diferenciadas, pois devido à presença das insaturações, eles são sensíveis à luz, temperatura, acidez e à presença de oxigênio (Ambrósio, 2006; Gomes, 2007). O conteúdo de carotenoides depende de vários fatores, incluindo a variedade genética, estágio de maturação e manuseio pós-colheita (Capecka et al., 2005). Segundo Pacetta (2007), foram encontrados nas folhas de oliveira de 22,95 a 26,12 mg.100g-1 de carotenoides, expressos como luteína e zeaxantina, respectivamente. O teor de  $\beta$ -caroteno encontrado foi de 10,76 mg.100g-1.

### **3.3 Ácido ascórbico - Vitamina C**

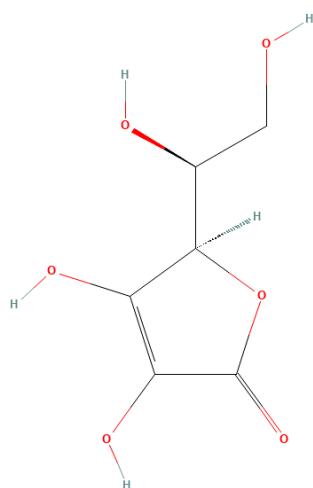
Cientificamente denominada de ácido ascórbico, sendo encontrada sob duas formas: oxidada (ácido deidroascórbico) e reduzida (ácido ascórbico) (Souza et al., 2022), possui como características ser hidrossolúvel, termolábil e sensível a luz. Seu consumo através da alimentação se faz necessário, pois o organismo não é capaz de sintetizá-la. Sendo assim, afim de evitar o escorbuto, doença causada pela deficiência de vitamina C, a qual pode causar fadiga, inflamação na gengiva e dores nas articulações (Nichelle; Melo, 2018) é que a Ingestão Diária Recomendada é de 45mg/dia (RDC nº 269 de 2005 (Ministério Da Saúde).

Além disso, cada vez mais estudos são realizados, pois ela é capaz de atuar como antioxidante natural podendo ser responsável pela captura de radicais livres gerados a partir do estresse oxidativo (Zou et al., 2016). Atua em reações com a capacidade de doar elétrons a enzimas impedindo, assim, que o estresse oxidativo progrida, ajuda na absorção de ferro, auxilia no sistema imunológico, ajuda na produção de colágeno, dentre outras (Belisário et al., 2020). As frutas cítricas estão entre as principais fontes de vitamina C, possuindo, a acerola, cerca de 900-4500 mg

em 100g de fruta. Outra fruta altamente reconhecida por seu teor de vitamina C é o camu-camu, em estudo realizado por Garcia et al. (2020), os autores obtiveram 6754.7 ± 215.8 mg em 100g de polpa da fruta camu-camu.

A vitamina C participa de processos importantes ao organismo, como a facilitação da absorção do ferro, pois, o ácido ascórbico é capaz de reduzir o ferro férrico (Fe +3) à ferro ferroso 21 (Fe +2) (Silva et al, 2022). Dessa forma, como já mencionado, suas fontes alimentares e seus benefícios são capazes de prevenir diversas doenças, como DCNT e câncer, pela sua ação antioxidante (Gillberg et al., 2017).

Figura 6- ácido ascórbico



Fonte: Pubchem

### 3.4Vitamina E (VE)

As formas ativas desta vitamina são tocoferol e tocotrienol e possuem característica lipossolúvel. Sendo o alfa tocoferol é a forma mais ativa. Os óleos vegetais são as principais fontes alimentares dessa vitamina, a qual possui a ação antioxidante como função dominante e papel fundamental na manutenção da integridade da membrana das células (Radhakrishnan et al., 2013). A VE, atua no sistema imune através da sua ação antioxidante, melhorando a atividade citotóxica das células Natural Killer (NK), aumentando o número de células T e proliferação de

linfócitos mitogênicos, aumentar a secreção de citocinas IL-2 e diminuir o risco de infecção (Lewis et al., 2019). Sua ingestão diária recomendada segundo a RDC nº 269 é de 10mg (Ministério Da Saúde). A sua suplementação também demonstrou aumentar a resistência a infecções respiratórias [WHO, 2018; NICE, 2009]. Vale ressaltar que os tocoferóis mistos são mais eficazes do que o α-tocoferol sozinho, devido à variedade de receptores para esses nutrientes (GBD, 2015). Apesar desses papéis benéficos na imunidade, há informações limitadas sobre os efeitos da suplementação de vitamina E em humanos com infecção por Covid-19, embora os pacientes sejam encorajados a ter uma ingestão adequada deste nutriente.

### **3.5 Acerola (*Malpighia emarginata*)**

A acerola é fruto da aceroleira, é originária da América Central e América do Sul. O formato, lembra a cereja (*Prunus avium*), e pode apresentar-se entre as cores vermelho e amarelo, com polpa amarelada de sabor azedo característico (Miskinis et al., 2023). A fruta contém baixo teor calórico, porém, rica em compostos minerais, como fósforo, potássio, zinco, vitaminas, auxilia na prevenção do envelhecimento precoce das células, aumento e manutenção das defesas do sistema imunológico e doenças degenerativas. É a fruta de maior teor de ácido ascórbico (vitamina c), variando de acordo com estágio de maturação (Prakash; Baskaran, 2018). Quanto mais madura, menor o teor de vitamina c, de acordo com estudo de revisão bibliográfica de Freitas et al. (2006), onde diferentes relatos foram apresentados, observando-se uma grande variação dessa vitamina, entre 779 mg a 3.094,43 mg em 100 g de polpa.

Portanto, a acerola pode ser considerada um alimento funcional pela presença de ácido ascórbico, carotenoides, antocianinas, flavonoides e compostos fenólicos. Quando consumida frequentemente, traz benefícios fisiológicos, pela presença de compostos bioativos naturalmente encontrados na fruta (Ribeiro; De Freitas, 2020). A acerola possui grande aproveitamento industrial, tem sabor agradável, podendo ser consumida in natura, polpas congeladas, sorvetes, bolos, suplementos alimentares, aditivos alimentares e cosméticos (Mezadri et al., 2006).

A Resolução RDC nº 269 de 2005 (Ministério Da Saúde), estabelece que adultos devem ter uma ingestão diária recomendada de 45 mg de vitamina c, crianças de 0 a 10 anos em 25 mg a 35 mg de vitamina c e gestantes 55 mg lactantes 70 mg, portanto o consumo de acerola in natura ou seus produtos tendem a suprir a

necessidade diária do indivíduo saudável, levando em conta as altas concentrações de vitamina C em 100 miligramas de polpa de acerola. O potencial antioxidante da vitamina C, presente na acerola, é benéfico ao homem e tem se revelado cada vez mais importante no desenvolvimento e inovação de produtos à base dessa fruta, indo ao encontro da prevenção de doenças. A suplementação de vitamina C com produtos à base de acerola pode ser um importante aliado no mantimento e aumento das defesas do indivíduo.

Como o coronavírus (COVID19) impactou toda a sociedade exigindo medidas profiláticas diárias: lavar as mãos, evitar o contato com pessoas doentes e uma boa higiene, foram hábitos adotados para reduzir o risco de contaminação por vírus, bactérias e outros patógenos, além de dieta ricas em antioxidantes e hábitos de vida saudável podendo ajudar a aumentar as defesas do organismo (OMS, 2020). Segundo Andrade Júnior (2005), existem evidências de oxidantes causarem danos nos tecidos pulmonares e provocarem doenças como asma, doença pulmonar obstrutiva crônica e síndrome do desconforto respiratório agudo.

Figura 7 – Acerola e Aceroleira (*Malpighia emarginata*)



Fonte: Google imagens

### 3.6 Folha de oliveira (*Olea europaea L*)

As folhas da árvore oliveira, pertencem à família Oleaceae (Figura 8). A árvore possui fruto comestível denominada azeitona/ oliva, o qual se encontra na sua forma *in natura* ou extração do óleo para produção de azeite. As folhas fazem parte do ciclo

de vida no cultivo da azeitona. Porém, devido ao descarte gerado na época de poda e na época de colheita do fruto, acabam por se tornarem subprodutos de resíduos agrícolas que geram custos e problemas ambientais (Romero-Márquez et al., 2024). No Brasil, mais especificamente no Rio Grande do Sul, em 1820 Auguste de Saint-Hilaire registrou o consumo de seu fruto (Saint-Hilaire, 2002).

Figura 8: *Olea europaea L.*



Fonte: google scholar

Em 1947, através da Lei nº59 do Governo do Estado do Rio Grande do Sul, o Deputado Estadual Celeste Gobato, institui a Comissão de Estudo e Fomento do Cultivo da Oliveira e Industrialização. Logo após o serviço Oleícola é criado na Secretaria da Agricultura e no ano de 2008 a Secretaria da Agricultura criou o “Grupo Técnico – Pesquisa e Extensão em Olivicultura” composto por pesquisadores e extensionistas para elaborar, avaliar e sugerir orientações aos produtores (Secretaria da agricultura) (Gomes, 1979).

O Rio Grande do Sul concentra a maior produção de olivais na Metade Sul, tendo como principais produtores as cidades de Encruzilhada do Sul, Canguçu, Pinheiro Machado, Caçapava do Sul, São Sepé, Cachoeira do Sul, Santana do Livramento, Bagé, Barra do Ribeiro e Sentinela do Sul. Sendo as variedades mais produzidas, Arbequina, Koroneiki, Picual, Arbosana e Frantoio, a região possui clima adequado a

sua produção, com temperaturas que variam de 3Cº a 15Cº no inverno e de 25Cº a 35Cº no verão.

Em relação a mercado, pode-se fazer uma breve observação acerca da última safra no estado (2020/2021), a qual foi marcada por condições climáticas adversas, diminuindo a produção de azeite em relação à safra anterior. Esta última é estimada em 48.000 litros de azeite, ao passo que a anterior ficou próxima a 200 mil litros. Os fatores que influenciam são os mais variados, entretanto, aqueles determinantes para esta redução são: poucos períodos de frio até o final do mês de junho; ondas de calor durante o inverno; antecipação de brotações; chuvas volumosas e grande número de dias de chuva em outubro, período em que ocorre a floração (Pró-Oliva, 2020). No entanto no ano de 2022/2023, a Secretaria de Agricultura do estado registrou mais de 580mil litros, possuindo o estado 340 produtores 4,3 mil hectares de área produtiva (SECRETARIA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, 2023).

Essa grande produção de azeitonas gera subprodutos, que tem impacto ambientais que devem ser considerados, como bagaço, água da vegetação, as folhas e ramos. Estes subprodutos são utilizados de diferentes formas e são geralmente como: adubo, herbicida e pesticida, ração animal, etc. Entretanto, são produtos com alto valor agregado e que, após processados, poderiam ser utilizados para consumo humano. A poda se faz necessária para saúde do olival e é gerado um grande volume de folhas de oliveira. Na época de colheita os resíduos de folhas e ramos devem ser separados das azeitonas e removidos ao chegarem no lagar (local com aparelhagem para espremer os frutos, fazendo com que os mesmos sejam transformados em líquido) (Ferraz, 2012).

Estima-se que as folhas apresentam 25% do peso seco do total dos resíduos da poda, portanto, pode ser uma boa fonte de materiais a serem utilizados na perspectiva de agregação de valor (Manzanares te al., 2017). Avraamides;Fatta (2008), analisaram ciclo de vida a fim de identificar os elementos e processos que geram os problemas ambientais mais significativos. A tabela 1 apresenta o consumo geral e as emissões por produção de 1L de azeite de oliva, com o número total sendo dividido pelos vários subprocessos, incluindo fertilização, irrigação, poda.

Tabela 1: Emissões por 1L de azeite em relação ao consumo global

	Total consumption (g)	Pruning process (g)
Consumption of crude oil	495	48.7
Consumption of fresh water	3,194,000	0
Emissions of carbon dioxide	3,900	909
Emissions of nitrogen oxides	32.2	3.7
Emissions of sulfur dioxide	13.7	1.3

Fonte: adaptado de Espeso et al. (2021)

Pode-se observar que são emitidos 3,9 kg de CO<sub>2</sub> por litro de azeite produzido. Já o processo de poda gera 909 g de CO<sub>2</sub>, sendo a maior parte gerada quando estes resíduos são queimados (Avraamides e Fatta, 2008).

### 3.7 Microencapsulação

O processo de encapsulação é umas das técnicas mais conhecidas e utilizadas na indústria de alimentos e farmacêutica. Dentre os objetivos desse método, um deles é proteger o núcleo (amostra) contra agentes ambientais, além de manter as propriedades nutricionais pois é possui a capacidade de envolver compostos bioativos e auxiliar em processos antioxidantes e antimicrobianos (Barroso et al., 2021). Tal fato se dá pela formação de uma cápsula recoberta por um material de parede, capaz de proteger a amostras. A importância do material de parede, ou também chamado de agente encapsulante, é crucial para que ocorra a estabilidade da cápsula. As cápsulas que irão ser formadas podem ser apresentadas por três tamanhos distintos: macro (>5000µm), micro (0,2-5000µm) e nano (<0,2µm). As partículas líquidas, sólidas ou gasosas são aprisionadas pelo material de parede (Pereira et al., 2018).

Enquanto a microcapsula acopla-se ao núcleo do meio que é recoberto pelo material de parede, nas microesferas o núcleo se distribui, incorporando-se ao material de parede na superfície (Santana et al., 2023). A tecnologia possui a capacidade de controlar a liberação da microcápsula tornando características organolépticas indesejáveis menos perceptíveis, também possui a capacidade de controlar: luz, calor, nutrientes, cor, textura, umidade (Wirjosentono; Marpaung, 2020). Os alimentos microencapsulados tem recebido destaque pois mascaram características como sabor, cor, odor. Além disso, pode ser uma alternativa para que

se obtenha melhores resultados de capacidade antioxidante de extratos de frutas (Ferreira et al., 2021).

Nesse sentido, a vitamina C microencapsulada é uma técnica promissora pois prolonga a vida útil dessa vitamina. O que a torna uma excelente opção para o enriquecimento de produtos de panificação, pois quando encapsulada tende a resistir ao calor, podendo também servir como transporte para o intestino delgado onde é absorvida. Estruturalmente a microcápsula pode variar de acordo com o método escolhido para o processo de secagem e o produto: microencapsulante e microencapsulado. Organizacionalmente ela pode ser composta por núcleo com o material encapsulado, conter o agente ativo e ser recoberta por uma camada de material de espessura variável (Constant et al., 2021).

A técnica de microencapsular permite a liberação do agente encapsulado em condições determinadas previamente, tais como: óleos essenciais, microrganismos, vitaminas, aromatizantes, corantes e gases, os quais preservam suas propriedades. A atomização ou spray drying é uma operação unitária em que o produto líquido é arrastado por um gás quente, podendo-se apresentar em uma solução, emulsão ou suspensão, obtendo-se no produto final as micropartículas por secagem das gotas espraiadas (Alves, 2018).

Embora o spray drying seja muito utilizado e barato em comparação a liofilização, por ser necessário altas temperaturas, pode ocorrer perda da integridade dos compostos do núcleo (Michael Jacob, 2014). Segundo Barroso (2021) os materiais de parede embora eficientes sendo utilizados sozinhos, possuem melhor desempenho quando outro agente encapsulante é utilizado em simultâneo, a exemplo de proteínas vegetais ou animais, gomas e amidos modificados. A goma arábica, xantana e maltodextrina são comumente utilizadas como agente encapsulante em microencapsulados por serem eficientes barreiras de proteção do núcleo. A goma Xantana é um muco polissacarídeo produzido pela bactéria *Xanthomonas campestris*, naturalmente gerada por meio da fermentação da bactéria.

É uma bactéria fitopatogênica, causadora de doenças e danos a fruticultura de verão (Ishida, Halfeld-Vieira 2009) mas em seres humanos não traz toxicidade. Essa goma é muito utilizada na indústria de alimentos e farmacêutica para espessar e estabilizar soluções. Estável em diversos níveis de pH, temperaturas e sais a Xantana Pruni apresenta baixa viscosidade, possui grande capacidade de formação de emulsões e assim sendo possui boa capacidade de formar microcápsulas agregando

o núcleo. A maltodextrina é o produto resultante da hidrólise do amido de milho e mandioca. Normalmente se apresenta comercialmente na forma de pó branco, possui aroma e sabor neutro, características importantes para agentes microencapsulantes. E embora a maltodextrina seja muito utilizada na formação de paredes de microcapsulas não é resistente, sendo necessário por tanto o uso de outro agente encapsulante como a Xantana Pruni (Perez et. al., 2020).

#### **4. Materiais e Métodos**

O experimento será conduzido nas dependências do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA) da Universidade Federal de Pelotas, situado no Campus Capão do Leão/RS, onde serão realizadas as etapas de produção dos biscoitos tipo cookie e barras de cereais, análises físico-químicas dos produtos, além das avaliações sensoriais no laboratório de análise sensorial.

##### **4.1 Amostras**

Os itens para a preparação dos produtos serão adquiridos em comércio local, supermercados e/ou lojas de produtos naturais, e armazenadas conforme recomendação. Será utilizado no projeto, suco concentrado de acerola, advindo do Ceará, maltodextrina de Santa Catarina, ambos doação da empresa Duas Rodas Brasil, parceira do projeto. A goma Xantana Pruni utilizada será produzida no laboratório de biopolímeros vinculado ao curso de biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas. A secagem da emulsão será feita por spray dreyer ou atomização. Já as folhas de *Olea europaea L* foram obtidas na Estância Guarda Velha, localizada no município de Pinheiro Machado/RS ( $31^{\circ}29'59,4''$  S e  $53^{\circ}30'32,7''$ W). A amostra será resultante da separação das folhas na hora do beneficiamento do azeite. Serão coletadas no dia 18/03/2022, das variedades Arbequina e Arbósana. Após colhidas, as folhas, serão secas a  $55^{\circ}\text{C}$  por 72 horas em estufa de circulação forçada de ar da Universidade Federal de Pelotas, no Laboratório de Forragicultura do Departamento de Zootecnia/FAEM. Após a secagem, as amostras serão submetidas à moagem em liquidificador.

##### **4.2 Elaboração dos biscoitos tipo cookie**

A elaboração dos biscoitos tipo cookie, será conduzida de acordo com Souza et al. (2020), com algumas modificações. Os ingredientes e as quantidades utilizadas para a produção do biscoito estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 2: Composição dos biscoitos tipo cookie.

Ingredientes	Quantidade
Farinha de trigo	100 (g)
Aveia em flocos	40 (g)
Gotas de chocolate	30 (g)
Óleo de soja	70 (mL)
Açucar mascavo	50 (g)
Fermento químico	15 (g)
Essencia de baunilha	10 (g)
Folha de oliveira	40 (g)
Microencapsulado de suco concentrado de acerola	20 (g)

Para a formulação dos biscoitos, os ingredientes serão pesados em balança eletrônica, que serão pesadas em balança analítica, e os alimentos líquidos em proveta. Após, serão misturados manualmente, com auxílio de uma colher até obtenção de uma massa homogênea, quando então, a mesma será disposta sobre uma superfície lisa e com auxílio de um rolo abridor de massa, aberta até uma espessura de 6mm. Com auxílio de um cortador cilíndrico (diâmetro de 47,85mm), a massa será cortada de forma igualitária e disposta sobre uma assadeira, leva ao forno já aquecido a 150°C, onde permanecerá durante 10 minutos. Após resfriamento os biscoitos tipo cookie serão envoltos em papel laminado e acondicionados em embalagens de plástico com tampa, para posterior realização das análises.

### 5.3 Elaboração das barras de cereais

As barras serão formuladas segundo Radünz et al. (2016), com algumas modificações. Os ingredientes utilizados na preparação serão: aveia em flocos, flocos de arroz, grãos de quinoa tostados, folha de oliveira, microencapsulado de suco

concentrado de acerola, açúcar mascavo, mel e água. Os mesmos serão pesados em balança eletrônica.

Para o desenvolvimento, irá ser preparada uma mistura composta pelos ingredientes secos (aveia em flocos, flocos de arroz, grãos de quinoa tostados, folha de oliveira e microencapsulado de suco concentrado de acerola) e sobre eles será adicionada uma calda elaborada com açúcar mascavo, mel e água, aquecida em banho-maria até obtenção de uma massa homogênea. Essa mistura irá ser colocada em forma de alumínio (15 cm x 6 cm) e submetida a forno elétrico com temperatura de 150°C por 30 minutos. Após esse processo, as barras serão prensadas até que se obtenha espessura aproximada de 1cm, cobertas com filme plástico e armazenadas sobre refrigeração. Posterior ao resfriamento, as barras serão desenformadas, cortadas em formato retangular com, 3 cm de largura, 10 de comprimento e peso constante de 25g cada unidade. Serão então, novamente acondicionadas em embalagens individuais em filme metalizado, por um dia, para que então seja realizada a análise sensorial.

## **5.4 Análises dos produtos**

### **5.4.1 Composição centesimal**

#### **5.4.1.1 Umidade**

Será determinada a umidade das amostras conforme método descrito por Instituto Adolfo Lutz (2008). Pesa-se a amostra em cápsula de alumínio previamente tarada que é seca em estufa a 105°C por 3 horas, resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. Repetindo- se a operação até peso constante. O resultado será calculado conforme equação:

$$100 \times N / P = \text{Umidade ou substâncias voláteis a } 105^{\circ}\text{C por cento m/m}$$

Onde:

N = n° de gramas de umidade (perda de massa em g)

P = n° de gramas da amostra.

#### **5.4.1.2 Cinzas**

O método consiste na determinação do resíduo por incineração, pesase a amostra em uma cápsula, previamente aquecida em mufla a 550°C resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e, posteriormente pesada, conforme

metodologia descrita por Instituto Adolfo Lutz (2008). O resultado será calculado conforme equação:

$$100 \times N / P = \text{cinzas por cento m/m}$$

Onde:

$N = n^{\circ}$  de g de cinzas

$P = n^{\circ}$  de g da amostra.

#### 5.4.1.3 Extrato etéreo

Conforme Instituto Adolfo Lutz (2008) para a determinação de lipídeos será utilizado o método de extração direta em aparelho Soxhlet, que consiste em pesar a amostra ou pipetar o volume desejado. Transferir o cartucho ou o papel de filtro amarrado para o aparelho extrator tipo Soxhlet. Acoplar o extrator ao balão de fundo chato previamente tarado a 105°C. Adicionar éter em quantidade suficiente para um Soxhlet e meio. Adaptar a um refrigerador de bolas. Manter, sob aquecimento em chapa elétrica, à extração contínua por 8 horas. Retirar o cartucho ou o papel de filtro amarrado, destilar o éter e transfira o balão com o resíduo extraído para uma estufa a 105°C, mantendo por cerca de uma hora. Resfriar em dessecador até a temperatura ambiente.

Serão pesadas e repetidas as operações de aquecimento por 30 minutos na estufa e resfriamento até peso constante (no máximo 2 horas). O resultado será calculado conforme equação:

$$100 \times N / P = \text{extrato etéreo por cento m/m}$$

Onde:

$N = n^{\circ}$  de gramas de lipídios.

$P = n^{\circ}$  de gramas da amostra.

#### 5.4.1.4 Proteína Bruta

A análise será determinada, segundo método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), por quantificação do nitrogênio total empregando-se o método Kjeldahl baseado em três etapas:

Digestão – A matéria orgânica existente na amostra é decomposta com ácido sulfúrico e um catalisador, onde o nitrogênio é transformado em sal amoniacal.

Destilação – A amônia é liberada do sal amoniacal pela reação o com hidróxido e recebida numa solução ácida de volume e concentração conhecidos.

Titulação – Determina-se a quantidade de nitrogênio presente na amostra titulando-se o excesso do ácido utilizado na destilação com hidróxido.

O resultado será calculado conforme equação:

$$V \times 0,14 \times f / P = \text{protídeos por cento m/m}$$

Onde:

V = diferença entre o no de mL de ácido sulfúrico 0,05 M e o no de mL de hidróxido de sódio 0,1 M gastos na titulação

P = nº de g da amostra

f = fator de conversão.

#### **5.4.1.5 Fibra bruta**

Será determinado conforme Instituto Adolfo Lutz (2008), pesar a amostra posteriormente envolvida em papel de filtro que será desengordurada em Soxlet. Após aquecimento em estufa para eliminação do restante de solvente, o resíduo será transferido para um bêquer adicionando-se 200 ml de ácido sulfúrico 0,252 N e será digerido com refluxo por 30 minutos. Será filtrado em funil de vidro com tela de nylon, o resíduo da amostra será lavado com água destilada fervente até completa neutralização (pH da amostra será verificado). A amostra será transferida para o mesmo bêquer utilizado anteriormente e a tela de nylon será lavada com 200 ml de hidróxido de sódio 0,312 N. Se procederá a digestão com refluxo por 30 minutos, e se filtrará diretamente em cadrinho de vidro sinterizado, utilizando água quente para lavar o bêquer até completa retirada da amostra. O cadrinho de vidro será lavado com aproximadamente 20 ml de álcool etílico e 20ml de éter de petróleo e colocado em estufa para secagem. Após resfriamento será pesado e então levado à mufla até queima completa, após resfriamento será novamente pesado. O resultado será calculado conforme equação:

$$\% \text{ fibra bruta} = pr - pc \times 100P$$

Onde:

pr = peso do cadinho com resíduo, antes da queima

pc = peso do cadinho com cinzas, depois da queima

P = peso das amostras

#### **5.4.1.6 Carboidratos**

Os teores de carboidrato serão obtidos por cálculo da diferença de 100 e a soma dos valores resultantes das análises de umidade, proteína, gordura, fibra e cinzas em 100g, conforme definido no Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **5.4.1.7 Valor Energético Total (VET)**

O valor energético, será obtido por cálculo utilizando-se os fatores de conversão de Atwater de 4,0 kcal.g<sup>-1</sup> para proteína e carboidrato e de 9,0 kcal.g<sup>-1</sup> para gordura, e, para conversão de kcal para kJ foi utilizado o fator de conversão de 4,2 kJ.kcal<sup>-1</sup>. Todos os resultados foram calculados em base seca, conforme descrito por ANVISA (Brasil, 2003).

O valor energético total (VET em kcal/100 g) das barras será obtido através da equação VET = (C x 4) + (A x 4) + (B x 9), sendo C: carboidratos, A: proteína total e B: lipídios.

### **5.5 Determinação da capacidade antioxidante pelo método DPPH**

O método DPPH utilizado será o descrito por Brand-Williams et al. (1995) baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm. O DPPH será utilizado na concentração de 60 µM, dissolvido em álcool metílico. Em ambiente escuro, será transferida uma alíquota de 0,1 mL de amostra para tubos de ensaio contendo 3,9 mL do radical DPPH (60 µM) e, em seguida, homogeneizados.

Será utilizado 0,1 mL de uma solução controle (solução controle de álcool metílico 50% (40 mL), acetona 70% (40 mL) e água (20 mL) com 3,9 mL do radical DPPH (60 µM). Após o preparo, as amostras serão armazenadas em ambiente escuro por 45 minutos. Como branco será utilizado álcool metílico e a curva padrão será realizada a partir da solução inicial de DPPH (60 µM), variando a concentração de 10

$\mu\text{M}$  a  $50 \mu\text{M}$ . Os resultados serão expressos em EC<sub>50</sub> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). O experimento será realizado em triplicata.

### **5.6 Determinação da capacidade antioxidante pelo método ABTS**

Será utilizado de 1 a 25 g de amostra peso será medido, adicionado 40 mL de metanol 50%, homogeneizado e deixado em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. A partir do extrato obtido será transferido uma alíquota de 30  $\mu\text{L}$  de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 3,0 mL do radical ABTS<sup>+</sup> e homogeneizado em agitador de tubos. Após 6 minutos da mistura fazse a leitura para obtenção das absorbâncias das diferentes diluições dos extratos. O resultado final será expresso em  $\mu\text{M}$  trolox /g. O experimento será realizado em triplicata (Rufino et al., 2007).

### **5.7 Compostos fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteau**

A quantificação de compostos fenólicos será determinada por meio do método adaptado de Swain et al. (1959). Serão homogeneizadas 0,5 g de amostra com 20 mL de solvente (metanol). As amostras serão centrifugadas a 10.000 rpm por 15 minutos. Serão coletados 250  $\mu\text{L}$  do sobrenadante e adicionados à amostra 4 mL de água destilada e 250  $\mu\text{L}$  de Folin-Ciocalteau (1:1). Os tubos serão agitados e após 5 minutos serão adicionados 0,5 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7%). Após 2 horas, a absorbância será medida a 725 nm. A quantidade de fenóis nas amostras será quantificada por meio de uma curva padrão preparada com ácido gálico entre as concentrações de 10 a 100  $\mu\text{g/mL}$ . A quantificação dos compostos fenólicos será realizada em triplicata e os resultados serão expressos em  $\mu\text{g}$  de ácido gálico por g de amostra ( $\mu\text{g g}^{-1}$  ).

### **5.8 Perfil colorimétrico**

O perfil colorimétrico será determinado utilizando colorímetro Minolta®, modelo CR-310 (Osaka, Japão), que possibilita a leitura de cores num sistema tridimensional, avaliando a cor em três eixos, onde o eixo L\* avalia a amostra do preto ao branco, o eixo a\* da cor verde ao vermelho e o eixo b\* da cor azul ao amarelo. As análises de cor foram realizadas em seis unidades de biscoitos tipo cookie 24 horas após sua elaboração.

### **5.9 Sólidos solúveis (SS)**

Para as amostras de suco determinado em refratômetro digital e os resultados expressos em °Brix (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC, 2012)

## **5.10 Perfil de textura**

A análise de textura será realizada nas amostras de todos os produtos, 24 horas após sua formulação.

### **5.10.1 Biscoitos tipo cookie**

As amostras serão analisadas utilizando o Texture Analyser TAXT2 Plus (Stable Micro Systems, Inglaterra), pelo método TPA, calibrado com 5kg de carga. Os biscoitos serão perfurados individualmente com o probe p/20, cilíndrico de 20mm. As condições experimentais adotadas para velocidade de leitura de pré-teste, teste e pós teste serão de  $1,00 \text{ mm.s}^{-1}$ ,  $0,50 \text{ mm.s}^{-1}$  e  $10,00 \text{ mm.s}^{-1}$  respectivamente, com perfuração de 50% da amostra. Serão obtidos parâmetros de dureza e fraturabilidade.

### **5.10.2 Barras de cereais**

Será realizada em Analisador de Textura Modulado TA.XT plus (Stable Micro Systems®), utilizando a probe Blade Set Knife (HDP/BSK), para análise de resistência ao corte (cisalhamento), com velocidades pré-teste de  $1,0 \text{ mm.s}^{-1}$ , teste de  $3,0 \text{ mm.s}^{-1}$  e pós-teste de  $10 \text{ mm.s}^{-1}$  e distância de 20 mm. Serão obtidos parâmetros de dureza e fraturabilidade.

## **5.11 Análises microbiológicas**

### **5.11.1 Biscoitos tipo cookie**

Segundo a Resolução 12 de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001), baseando-se nas características do material de estudo, se enquadram no grupo 10 F: bolachas e biscoitos, sem recheio, com ou sem cobertura, incluindo pão de mel, cookies e similares; para tal, as análises exigidas para controle microbiológico de alimentos são: coliformes  $45^{\circ}\text{C}$ , *Salmonella* sp e contagem total *Staphylococcus aureus* coagulase positiva (BRASIL, 2003).

### **5.11.2 Barras de cereais**

Serão analisados a presença e/ou quantificação dos seguintes microrganismos: *Bacillus cereus* por plaqueamento, Coliformes Totais e

Termotolerantes (a 45°C) em caldos observando-se a formação de gás em tubos múltiplos, pesquisa de *Salmonella* sp em 25g e bolores e leveduras ambos por plaqueamento, segundo a RDC nº 12 que regulamenta os Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL, 2001). As análises microbiológicas seguirão os procedimentos descritos pela American Public Health Association (APHA, 2015).

## 5.12 Análise sensorial

### 5.12.1 Teste de Dominância Temporal das Sensações (TDS)

O teste TDS objetiva descrever a evolução das diferentes sensações percebidas durante a ingestão dos produtos formulados. Serão 12 provadores treinados, quanto à temporalidade das sensações e apresentados ao software Sensomaker empregado para a tomada dos dados (PINEAU, 2009; PINHEIRO et al., 2013) da Universidade Federal de Pelotas, que aceitem, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), participar do experimento. Após a familiarização e treinamento, os provadores serão solicitados a clicar no botão “iniciar” e durante 2s colocar a amostra (5g) na boca e, imediatamente, iniciar a avaliação. Durante 40 s os provadores serão instruídos a escolher, usando o mouse, o sabor dominante ao longo do tempo de análise e será explicado que o sabor dominante é o gosto que é percebido com maior clareza e intensidade entre os demais. Para cada uma das sensações, um botão será apresentado no display do computador para avaliação. A apresentação das amostras será feita em ordem monódica e balanceada (NUNES et al., 2012) em pratos de plástico branco descartáveis codificados com números de três dígitos e os avaliadores serão convidados a lavar a boca com água entre cada amostra.

## 5.13 *Drosophila melanogaster*

Como modelo experimental serão utilizadas Drosophilas, de ambos os sexos. Serão preparadas três dietas, separadas nos grupos: Controle ( $n = 40$ ); FO ( $n = 40$ ) e MSCA ( $n = 40$ ), em triplicata. A dieta padrão será elaborada com uma mistura padronizada com ágar, fermento, farinha de milho, nipazol, solução ácida e água, representando o grupo controle. Posteriormente serão acrescentadas as quantidades de cada amostra em pó, em substituição à farinha de milho com as respectivas proporções. As moscas ficarão em tratamento com as dietas experimentais pelo período de 7 dias. Por fim serão homogeneizadas, centrifugadas e congeladas para a

realização das análises bioquímicas, na qual serão obtidos os valores de triglicerídeos, glicose (GOLOMBIESKI et al., 2008).

## **6.Análise estatística**

Para a análise estatística será utilizado o software GraphPad Prism 6.0. Para a composição centesimal, carotenoides totais e compostos fenólicos totais será realizado o teste One-Way ANOVA e para as análises antioxidantes (DPPH e TBARS) utilizado o Two-Way ANOVA. Serão considerados significativos estatisticamente, aqueles valores cujo  $p \leq 0,05$ . A metodologia de Pineau et al. (2009) utilizada no software SensoMaker para calcular as curvas de TDS para cada amostra. Assim, duas linhas serão desenhadas no gráfico de TDS: o "nível do acaso" e o "nível de significância". O "nível do acaso" é a taxa de dominância que um atributo pode obter ao acaso e o "nível de significância" é o valor mínimo dessa proporção para ser considerado significativo (PINEAU et al., 2009).

Para este cálculo será utilizado o intervalo de confiança de uma proporção binomial baseado em uma aproximação normal, de acordo Pineau et al, 2009. Para analisar os resultados das curvas serão consideradas as sensações significativas, isto é, acima da linha "sig. level".

## **7. Cronograma**

Quadro 1: Demonstrativo do cronograma estipulado para as atividades que serão desenvolvidas

<b>Atividades/ períodos</b>	<b>2020</b>		<b>2021</b>		<b>2022</b>		<b>2023</b>		<b>2024</b>	
	I	II								
Revisão da literatura										
Desenvolvimento das análises										
Tabulação dos dados e análise dos resultados										
Desenvolvimento dos artigos científicos										
Defesa										

## **8. Orçamento**

Os recursos utilizados para o desenvolvimento deste projeto serão oriundos de verbas da disponibilizadas pela Universidade, parceria com laboratórios da Universidade utilizando materiais e equipamentos que já se encontram disponíveis na mesma. Ademais os insumos para o desenvolvimento dos produtos serão adquiridos através de verba da pesquisadora, caso necessário. Exceto os subprodutos que já foram fornecidos por produtores parceiros ao projeto.

## Referências

- ALPERT, P. The role of vitamins and minerals on the immune system. **Home Health Care Manag.** Pract. 29, 199–202. 2017.
- ALVES, Cristina Jansen. Microencapsulação de própolis utilizando matrizes proteicas para aplicação como ingrediente funcional em alimentos. 2018. 133p. Tese de doutorado (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.
- AMBRÓSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. A. C. S.; FARO, C. P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista Nutrição, Campinas**, v. 19, n. 2, p. 233-243, 2006. American Public Health Association (APHA).
- ANDRADE JÚNIOR, D. R.; SOUZA, R. B.; et al. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. **J. Bras. Pneumol.** v,31. n,1. 2005.
- AOAC – Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis. 19th ed. **Gaithersburg**, 2012. 3000p.
- ASCHEMANN-WITZEL, J.; MAROSCHECK, N.; HAMM, U. Are organic consumers preferring or avoiding foods with nutrition and health claims? **Food and Quality preference**, Vol 30 (1), p. 68-76. 2013.
- ASCHNER, P. Obesity in Latin America. In R. Ahima (Ed.). Metabolic syndrome. Cham: **Springer**. 2015.
- BARROSO, T. L. C. T.; ALEXANDRE, J. B. et al. Tecnologia de encapsulamento na área de alimentos: uma revisão. **Research, Scoiety and Development**. v, 10. n, 7. 2021.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm Wiss Technol.**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 360, 23 de dezembro de 2003. **Rotulagem Nutricional de alimentos embalados**.
- BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da diretoria colegiada, RDC- nº 12 de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. 2001.
- CALDER, P. Conference on ‘Transforming the nutrition landscape in Africa’. Plenary Session 1: Feeding the immune system. **Proc. Nutr. Soc.** 2013, 72, 299– 309.
- CAPECKA, E.; MARECZEK, A.; LEJA, M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. **Food Chemistry**, v. 93, p. 223-226, 2005.
- CARACCIOLLO, F., et al. Natural versus enriched food: Evidence from a laboratory experiment with chewing gum. **Food Research International**. 122 (2019) 87–95.

CASTELO-BRANCO, C.; SOVERAL, I. The immune system and aging: A review. *Gynecol. Endocrinol.* 30, 16–22. 2014.

CONSTANT, P. B. L et al. Microencapsulation of annatto and stability evaluation's. *Research, Society and Development*, [S. I.], v. 10, n. 9, p. e51910918179, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i9.18179. Disponível em: <https://rsdjurnal.org/index.php/rsd/article/view/18179>

COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos. Rio de Janeiro: **Rubio**, 2010. 536 p.

FERRAZ, M. M. P. DE F. Contribuição para o estudo do tratamento de efluentes de lagares de azeite. Dissertação de Mestrado (Engenharia)—[s.l.] **UNIVERSIDADE DE NOVA LISBOA**, 2012.

FERREIRA, L. P. C.; XAVIER, A. C. R.; SANTOS, J. dos.; WARTHA, E. R. S. de A.; PAGANI, A. A. C. Microencapsulation of beet (*Beta Vulgaris L.*) beet by ionic gelation proces . *Research, Society and Development*, [S. I.], v. 10, n. 12, p. e454101220171, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i12.20171. Disponível em: <https://rsdjurnal.org/index.php/rsd/article/view/20171>.

FREITAS, C. A. S.; MAIA, G. A. et al. Acerola: produção, composição, aspectos nutricionais e produtos. *Revista Brasileira de Agrociências*. v,12. n, 4. p. 395-400. 2006.

GBD 2015 LRI Collaborators. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory tract infections in 195 countries: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Infect. Dis.* 2017, 17, 1133–1161.

GILLBERG, L.; ORSKOV, A. D.; LIU, M.; HARSLOF, L. B. S.; JONES, P. A.; GRONBAEK, K. Vitamina C – A new player in regulation of cancer epigenome. *Semin. Cancer Biol.*, 2017.

GOLOMBIESKI, R. N., GRAICHENII, D. A., ROCHA, J. B. T., VALENTE, V. L., LORETO, E. L. Over-activation of the *Drosophila melanogaster* hsp83 gene by selenium intoxication. *Revista de Genética e Biologia Molecular*. V.31, nº1. São Paulo, 2008.

GOMBART, A. PIERRE, S. MAGGINI. A review of micronutrients and the immune System—Working in harmony to reduce the risk of infection, *Nutrients* 12(1), 2020 236. GOMES, F. S. Carotenóides: uma possível proteção contra o desenvolvimento de câncer. *Revista Nutrição*, Campinas, v. 20, n. 5, p. 537-548, set./out., 2007.

GOMES, P. **A Olivicultura no Brasil**. 2. ed. [s.l.] NOBEL EDITORA, 1979.

HARYANTO, B.; SUKSMASARI, T.; WINTERGERST, E.; MAGGINI, S. Multivitamin supplementation supports immune function and ameliorates conditions triggered by reduced air quality. *Vitam. Miner.* 2015, 4, 1–15.

- HORST, M. A.; MORENO, F. S. Funções plenamente conhecidas de nutrientes – Carotenoides. **International Life Science Institute**, 2009.
- Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tigleia -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p.1020.
- ISHIDA, A. K. N.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Mancha-Bacteriana do maracujazeiro (*Xantomonas axonopodis* pv. *Passiflorae*): Etiologia e estratégias de Controle. Embrapa Amazônia Oriental. 2009.
- LEWIS, E. D.; MEYDANI, S.N.; WU, D. Regulatory role of vitamin E in the immune system and inflammation. **IUBMB Life**. n(4). 487-494. 2019.
- MAGGINI, S.; MALDONADO, P.; CARDIM, P.; NEWBALL, C. F.; LATINO, E. R. S. Vitamins C, D and Zinc: Synergistic Roles in Immune Function and Infections. **Vitam Miner**, 6(3). 2017.
- MAGGINI, S.; PIERRE, A.; CALDER, P.C. Immune function and micronutrient requirements change over the life course. **Nutrients**. 10, 1531. 2018. doi:10.3390/nu10101531.
- MESCHEDE, D. K.; VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A.; SILVA, J. R. M. Alteração fisiológica da cana-de-açúcar pela aplicação de Glyphosate e SulfometuronMethyl. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, 2011.
- MEZADRI, T.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S. et al. The acerola fruit: composition, productive characteristics and economic importance. **Arch Latinoam Nutr**. v,56. n, 2. p. 101-109. 2006.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC-269. REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE A INGESTÃO DIÁRIA RECOMENDADA (IDR) DE PROTEÍNA, VITAMINAS E MINERAIS. 2005.
- NICE. National Institute for Health and Care Excellence Diarrhoea and Vomiting Caused by Gastroenteritis in under 5s: Diagnosis and Management. Clinical Guideline [CG84]. Available online: <https://www.nice.org.uk/guidance/cg84>.
- NUNES, C. A.; PINHEIRO, A. C. M. SensoMaker, version 1.0. UFLA, Lavras, 2012.
- OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v. 881, n. 1, p. 543-555, 2000.
- OLSON, J. A. Carotenoids and human health. **Archivos Latinoamericanos Nutrición**, v. 49, n.1, p.7-11, 1999.
- OMS. Organização Mundial de saúde. Folha informativa sobre COVID-19. 2020.
- PACETTA, C. F. Oliveira a árvore da vida. **Vida e Consciência Editora**, ISBN 978-85-90717, 2007.

- PANDYA, P.H.; MURRAY, M.E.; POLLOK, K.E.; RENBARGER, J.L. The immune system in cancer pathogenesis: Potential therapeutic approaches. **J. Immunol. Res.** 2016, 2016, 4273943.
- PEREIRA, K.C. et al. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: revisão. **Braz. J. Food Technol.** 21 • 2018 • <https://doi.org/10.1590/1981-6723.08317>
- PINEAU, N. et al. Temporal Dominance of Sensations: Construction of the TDS curves and Comparison with time-intensity. **Food Quality and Preference**, v. 20, p. 450-455, 2009.
- PINHEIRO, A. C. M.; NUNES, C. A.; VIETORIS, V. SensoMaker: a tool for sensorial characterization of food products. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 37, n. 3, p. 199–201, jun. 2013.
- RADHAKRISHNAN, A. K.; MAHALINGAM, D. et al. Supplementation with natural forms of vitamin E augments antigen-specific TH1-type immune response to tetanus toxoid. **Biomed Res Int.** v,2013. 2013.
- RADUNZ, M. et al. Desenvolvimento, composição centesimal e análise sensorial de barras à base de grãos de quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*) Submetidos a diferentes tratamentos térmicos. **Demetra**, v, 11. n, 4. 2016.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical DPPH. Embrapa Agroindustria Tropical – Comunicado Técnico, 2007.
- SAEED, F.; NADEEM, M.; AHMED, R.; NADEEM, M.; ARSHAD, M.; ULLAH, A. Studying the impact of nutritional immunology underlying the modulation of immune responses by nutritional compounds—A review. **Food Agric. Immunol.** 2016, 27, 205–229.
- SAINT-HILAIRE, A. DE. VIAGEM AO RIO GRANDE DO SUL; tradução de Adroaldo Mesquita da Costa. Brasília: Senado Federal: 2002.
- SANTANA, L. O. de. et al. Microencapsulation of Lacticaseibacillus: A systematic review. **Research, Society and Development, [S. I.]**, v. 12, n. 14, p. e12121444400, 2023. DOI: 10.33448/rsd-v12i14.44400. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/44400>.
- SCHAEFER, E. Micronutrient deficiency in women living in industrialized countries during the reproductive years: Is there a basis for supplementation with multiple micronutrients? **J. Nutr. Disord. Ther.** 2016, 6, 199.
- SILVA, P. T.; et al. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1304-1311, 2014.

- SOLOMONS, N. W. Hypovitaminosis A. Center for Studies of Sensory Impairment, Aging and Metabolism (CeSSIAM), Guatemala. **Encyclopedia of Food and Health.** 2016.
- SOUZA, A. L. R.; RODRIGUES, F. M.; SILVA, G. V.; SANTOS, R. R. Microencapsulação de sucos e polpas de frutas por spray drying: uma revisão. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 3, p. 327-338, 2015.
- SOUZA, R. S. D, NOVAIS, T. S., BATISTA, F. O. & ZUÑIGA, A. D. G. Análise sensorial de cookie desenvolvidos com farinha da casca de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merril). **Research, Society and Development**, 9(4), (2020).
- TONSOR, G. T.; MARSH, T. L. Comparing heterogeneous consumption in U.S and Japanese meat and fish demand. **Agricultural Economics**. 37(1), 81-91. 2007.
- VIEIRA, A. J.; BESERRA, F. P.; SOUZA, M. C.; TOTTI, B. M.; ROZZA, A. L. Limonene: aroma of innovation in health and disease. **Chemico-Biological Interactions**, v. 283, p. 97-106, 2018.
- WATSON, R.R.; ZIBADI, S.; PREEDY, V.R. Dietary Components and Immune Function; Springer Science & Business Media: Berlin, Germany, 2010. World Health Organization. Influenza (Seasonal). **Fact Sheet**. Available online: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>.
- WIRJOSENTONO, B.; MARPAUNG, L. Microencapsulation of ginger-based essential oil (*Zingiber cassumunar roxb*) with chitosan and oil palm trunk waste fiber prepared by spray-drying method. Case Studies in Thermal Engineering, v. 18, 2020
- XIAO, Y-D; HUANG, W-Y; LI, D-J; et al. Thermal degradation kinetics of all-trans and cis-carotenoids in a light induced model system. V.239. p. 360-368. YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T.; TONZAR, A.C.; et al. Produtos de acerola: estudo da estabilidade de vitamina C. **Food Science and Technology**. v,23. n.1. 2003.
- ZOU, Z.; XI, W.; HU, Y.; NIE, C.; ZHOU, Z. Antioxidant activity of citrus fruits. **Food Chem.**, v. 196, p. 885-896, 2016.

## 5. Relatório trabalho de campo

Foram realizadas modificações quanto aos objetivos do projeto, devido a impasses com análises, as quais se tornariam dispendiosas ultrapassando orçamentos previstos. Sendo assim, não foi possível uma nova reposição de suco concentrado de acerola, o qual seria fornecido por uma empresa parceira. Portanto, foram adquiridas polpas congeladas da fruta, optando-se assim, por não microencapsular as amostras, nem das folhas e nem da acerola. Mantiveram-se as análises das amostras que seriam os insumos para os produtos (folha de oliveira e polpa de acerola), como as suas características de composição e compostos bioativos. E em análise concomitante sua aceitação e potencial sobre o comportamento de *drosophila melanogaster*. E a formulação de dois produtos contendo FO e A, que foram os cookies e a barra de cereal.

## Artigo 1 (Submetido a Revista: Biocatalysis and Agricultural Biotechnology)

\*This is an automated message.\*

Manuscript Number: BAB-D-25-00275

Dried and *in natura* olive leaves: Comparison of their properties and bioactive compounds

Dear Ms Nogueira,

The above referenced manuscript will be handled by Executive Editor Dr Natalie G Farny.

To track the status of your manuscript, please log into Editorial Manager at <https://www.editorialmanager.com/bab/>.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

*Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*

**RESUMO:** Os subprodutos provenientes da oliveira são ricos em compostos bioativos, apresentam efeito antitumoral, anti-inflamatórios e atividade antimicrobiana. Sua aplicação na indústria pode ser significativa devido à gama de produtos que estes compostos podem fazer parte. Nesse sentido, o estudo comparou as propriedades e compostos bioativos de folhas de oliveira secas (FS) e *in natura* (FN), com o objetivo de avaliar o impacto do processo de secagem na preservação de seus constituintes funcionais. Foram analisados parâmetros como teor de compostos fenólicos totais, flavonoides, carotenoides, clorofila, perfil colorimétrico e capacidade antioxidante através dos métodos DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Os resultados das análises antioxidantes indicaram 95,15% de inibição para DPPH na FN, na análise de FRAP resultado melhor foi obtido para FS com uma absorbância de 0,913, ambos os resultados apresentaram  $p < 0,05$ . Em relação ao resultado de flavonoides, FS obteve teor de 4,57mg de QE/ES. O perfil colorimétrico das amostras demonstrou coloração escura, verde e com tonalidade levemente amarelada. E o teor de clorofila demonstrou-se significativo para as amostras de FN. Através dos resultados obtidos, observa-se que as folhas de oliveira, tanto secas quanto *in natura*, são ricas em compostos fenólicos e apresentam forte potencial antioxidante sendo preservada em ambas as formas, porém, com destaque maior para FS. Conclui-se que ambas as formas possuem relevância funcional, no entanto FS apresentou valores mais desejáveis frente as análises realizadas.

**Palavras-chave:** subprodutos; valor nutritivo; economia circular; estresse oxidativo.

### 1. Introdução

O advento do Projeto Olivais do Pampa culminou no fomento da olivicultura na região Sul do Brasil. Um importante olhar sobre o potencial produtor da região (SEAPI, 2013), pois a oliveira (*Olea europaea* L.) é uma árvore frutífera, da família Oleaceae, com reconhecida

importância econômica devido aos seus dois principais produtos: o azeite e as azeitonas de mesa. Somente na safra 2022/2023 a produção do azeite de oliva foi de 580.228 litros, segundo dados da Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI, 2013), entretanto, gera grande descarte de folhas, as quais ainda são consideradas subprodutos da agroindústria, sendo, algumas vezes, utilizadas para alimentação animal (Antunes et al., 2018). A estimativa é de que as folhas de oliveira representem 25% do peso total de resíduos após a poda, além da obtenção de ramos e folhas durante a colheita e limpeza das azeitonas (Romero-García et al., 2014; Espeso et al., 2021).

No entanto, os subprodutos provenientes da oliveira são ricos em compostos bioativos, com efeito antitumoral, anti-inflamatórios e atividade antimicrobiana (Martín-García et al., 2020; Rosa et al., 2021). também popularmente utilizado para prevenção de doenças crônicas como diabetes mellitus e doenças cardiovasculares (Acar-Tek and Ağagündüz, 2020). Tais efeitos podem estar associados a presença de compostos como: oleuropeina, oleocantal, hidroxitirosol e tirosol os quais se encontram entre os principais compostos bioativos presentes nas folhas. Sua aplicação na indústria é significativa devido à gama de produtos que estes compostos podem fazer parte, podendo garantir estabilidade oxidativa, tempo de prateleira e, por serem naturais, viabilizar benefícios nutricionais à saúde do consumidor (Özcan and Matthäus, 2017).

Diante do interesse demonstrado, acerca da sustentabilidade e potencialmente atendendo exigências do mercado em relação a promoção a saúde, torna-se interessante a utilização desses subprodutos que possuem componentes naturais importantes. Estes podem agregar alto valor em aplicações em produtos alimentares e farmacêuticos. Sendo assim, diante do atual descarte de resíduos oriundos da produção do azeite de oliva objetivou-se caracterizar a capacidade antioxidante de folhas de oliveira, secas e *in natura*, produzidas na região Sul do Brasil.

## **2. Materiais E Métodos**

### **2.1 Amostras**

As amostras de folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) foram adquiridas na propriedade Estância Guarda Velha, localizada no município de Pinheiro Machado/RS ( $31^{\circ}29'59,4''$  S e  $53^{\circ}30'32,7''$ W). A amostra foi resultante da separação das folhas na hora do beneficiamento do azeite. A variedade é Arbequina e após colhidas, parte das folhas, foram secas a  $55^{\circ}\text{C}$  por 72 horas, conforme testes prévios realizados em laboratório e que garantiram melhores resultados nas análises com essas condições. A secagem foi realizada em estufa de circulação forçada de

ar da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), no Laboratório de Forragicultura do Departamento de Zootecnia/FAEM. Após a secagem, as amostras foram submetidas à Trituração em liquidificador e moagem em moinho de facas, sendo posteriormente peneiradas a 300 mesh (Bertel®). O restante, passou pelo mesmo procedimento de Trituração e moagem, porém na sua forma *in natura*. As amostras foram mantidas sob congelamento até que as análises fossem realizadas.

## **2.2 Capacidade antioxidante**

A fim de determinar a capacidade antioxidante das folhas secas e *in natura*, foram escolhidos os métodos: DPPH e FRAP. O método DPPH foi descrito por Brand-Williams et al. (1995) baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm.

Para o radical FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), foi utilizado o método descrito por Stratil et al. (2006), com adaptações; para tal, preparou-se uma solução aquosa 10 mM de reagente TPTZ em 40 mmol/L de HCl, na seguinte proporção: 1:1:10, respectivamente, FeCl<sub>3</sub>, 6H<sub>2</sub>O e tampão acetato de pH 3,6 (3,1 g de acetato de sódio e 16 mL de ácido acético por litro). Os resultados foram expressos por absorbância.

## **2.3 Conteúdo total de flavonoides**

Realizado segundo método descrito por Loots et al. (2007), com algumas modificações. Em que, após as reações com o extrato, e 15 minutos de incubação, a absorbância foi medida a 510 nm incluindo branco. Diferentes concentrações de quercetina foram utilizadas para calcular o conteúdo de flavonoides nos extratos. Os resultados foram expressos em mg de quercetina equivalente por grama de extrato seco (mg QE/g ES). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## **2.4 Colorimetria**

O perfil colorimétrico foi determinado utilizando um Colorímetro Minolta, em que foram realizadas leituras dos valores de L\*, a\* e b\*, em que, o L\* indica a luminosidade e o a\* e b\*, são as coordenadas cromáticas (Konica, 2020).

Para determinar a diferença total de cor entre as coordenadas, utilizou-se a seguinte equação:

$$\Delta E^* = [\Delta L^*^2 + \Delta a^*^2 + \Delta b^*^2]^{1/2}$$

## 2.5 Clorofilas

Para extração das clorofilas, foi pesado 1g de amostra e adicionados 5ml de acetona a 80% (v/v), em um falcon que foi submetido a centrífuga por 15minutos a 3000 rpm. Posteriormente, o sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico de 25ml, e o volume foi completado com acetona 80% (v/v). Para leitura da absorbância foi utilizado o equipamento Ultrospec 2.000 UV/Visível (Pharmacia Biotech), nos comprimentos de ondas 647 e 663 nm, e para zerar espectrofotômetro utilizou-se acetona 80%. A quantificação das clorofilas ‘a’, ‘b’ e totais foi calculada por meio das equações abaixo estabelecidas por Lichtenthaler (1987), os resultados foram expressos em miligramas por grama (mg/g) de amostra.

$$\text{Chl totais} = 7,15 (\text{A663}) + 18,71 (\text{A647})$$

$$\text{Chl 'a'} = 12,25 (\text{A663}) - 2,79 (\text{A647})$$

$$\text{Chl 'b'} = 21,50 (\text{A663}) - 5,10 (\text{A647})$$

## 2.6 Análise estatística

Para análise estatística utilizou-se análise ANOVA, teste t com 5% de significância. Foram considerados significativos estatisticamente, valores cujo  $p < 0,05$ .

## 3. Resultados e Discussão

A partir dos resultados obtidos, pode-se observar que as amostras demonstram forte capacidade de inibição de radicais livres. Através da análise de DPPH (Tabela 1), a FN apresentou maior percentual de inibição ( $p < 0,05$ ). Em estudo realizado por Khelouf et al. (2023), os pesquisadores observaram em variedades Tunisianas e Argelinas, que todas as amostras tiveram melhores resultados de IC50 no extrato etanólico, tendo a variedade Verval apresentando IC50 de  $30,22 \pm 1,34$  mg/L. Manzoor et. al (2025), descobriram um percentual de 90% de inibição em amostras de folhas extraídas por ultrassom e 61% em amostras extraídas com etanol. Corroboration com o presente estudo, Ribas et al. (2023), também obtiveram altos percentuais de inibição para variedade arbequina com valores de  $91.38 \pm 2.77\%$  ( $p < 0,05$ ).

A capacidade antioxidante pode ser enfatizada pela presença de compostos fenólicos como oleuropeína e hydroxytyrosol, bem como, de flavonoides, uma importante classe de polifenóis bioativos, que fazem parte dos vegetais e atuam como antioxidantes neutralizando os radicais livres e garantindo mais saúde celular (Khemakhem et al., 2018).

Ao analisar a atividade antioxidante frente ao radical FRAP, é possível observar que a FN se mostrou ligeiramente melhor que a FS. Isso pode ser explicado por alguns fatores, como por exemplo, a concentração dos compostos sem a interferência da secagem (Romero-Márquez et al., 2024). Os resultados distintos podem se justificar pelo tipo de método utilizado na extração, pois os diferentes solventes manipulados podem influenciar no composto bioativo extraído, além do tipo de cultivar, local, época de plantio e influência dos metais no processo de beneficiamento e preparo.

Tabela 1: Atividade antioxidante de folha de oliveira seca e *in natura*.

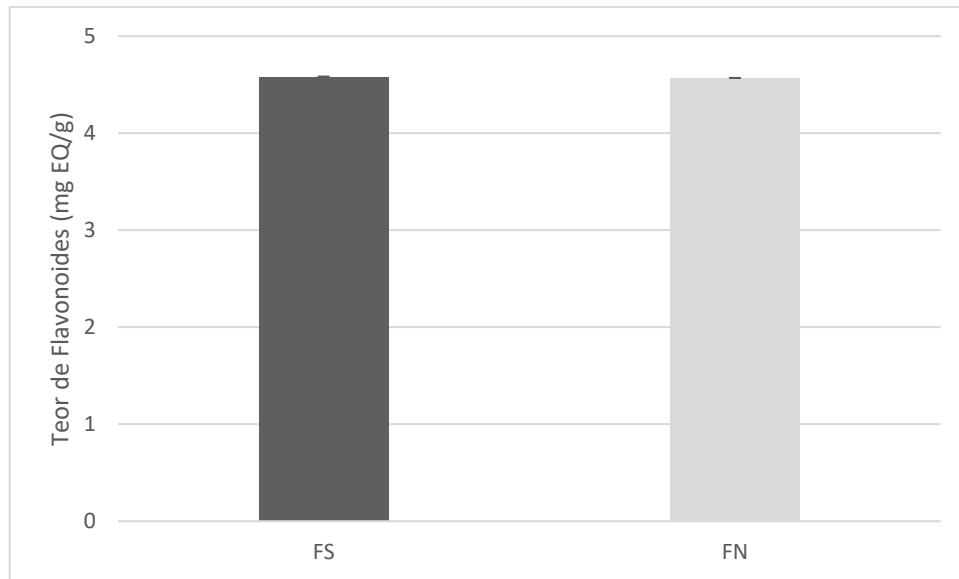
Amostras	DPPH (% de inibição)	FRAP (Absobância)
F.S.	$92,76 \pm 0,33$	$0,087 \pm 0,03$
F.N.	$95,15 \pm 0,00^*$	$0,83 \pm 0,01^*$

\* ... Média e desvio padrão seguidos de asterisco representa diferença significativa. F.S. (Folha seca 55°C); F.N. (Folha *in natura*).

Os flavonoides são pigmentos naturais presentes em plantas, vegetais, flores, frutas, e a elas são importantes pois participam de processos de crescimento e defesa dos vegetais contra patógenos. Aos humanos, apresentam reconhecida atividade biológica, importante ao organismo, como: antioxidante, antiinflamatória, antimicrobiana, anti fúngico, entre outras. Isto se deve a sua estrutura química e capacidade de modular funções de enzimas celulares como ciclooxygenases (COX) (Panche et al., 2016; Ullah et al., 2020).

A Figura 1, apresenta o conteúdo total de flavonoides, a qual demonstra resultado não significativo para ambas as amostras ( $p>0,05$ ). Tendo a FS, teor de 4,57 mg queracetina/g extrato seco (mg QE/g ES). Em estudo que comparou variedades da Tunísia e Argélia os pesquisadores observaram para extrato etanólico, que a variedade Sigoise possui  $77,27 \pm 0,53$  mg QE/g ES, e a variedade Sayali mostrou conter  $46,06 \pm 4,37$  mg QE/g ES (Khelouf et al., 2023). Manzoor et al. (2025), ao avaliarem o método de extração assistida por ultrassom e o método convencional utilizando como solvente o etanol, constataram que a folha de oliveira apresentou  $11,45 \pm 0,07$  mg Q.E/g e  $20,5 \pm 0,16$  mg Q.E/g em base seca, pelos métodos convencional e extração por ultrassom, respectivamente.

Figura 1 - Conteúdo total de flavonoides das amostras de folha de oliveira



\* ... Média e desvio padrão seguidos de asterisco na mesma coluna representa diferença significativa ( $p<0,05$ ). F.S. (Folha seca 55°C); F.N. (Folha *in natura*).

A Tabela 2 apresenta os resultados do perfil colorimétrico das amostras. O valor de  $L^*$  indica a quão clara/escura é uma amostra, sendo assim pode-se concluir que ambas amostras apresentam coloração escura, característica da folha que visivelmente apresenta-se verde e sendo a F.S. mais escura, talvez pelo processo de secagem. A medida  $a^*$  indica quão verde/avermelhada a amostra pode ser, sendo assim percebe-se a coloração verde das folhas. Já o parâmetro  $b^*$  demonstra o quão azul/amarelo a amostra pode apresentar-se, os resultados demonstram que as amostras são escuras e verdes, porém, com uma tonalidade levemente amarelada, sendo a amostra F.S. mais acentuada a essas características. Boudhrioua et al. (2009), obtiveram resultados para a variedade Zarrari  $-5,01 \pm 0,26$  e  $-9,14 \pm 1,21$  na variedade Chemchali com relação ao parâmetro  $a^*$ .

Tabela 2 - Perfil colorimétrico das amostras de folha de oliveira.

#### **Amostras**

	<b><math>L^*</math></b>	<b><math>a^*</math></b>	<b><math>b^*</math></b>	<b><math>\Delta E</math></b>
<b>F.S.</b>	$14,15 \pm 0,08$	$-1,54 \pm 0,66$	$9,23 \pm 0,15$	16,96

<b>F.N.</b>	12,18 ± 0,15	-1,43 ± 0,08	8,18 ± 0,17	14,74
(Folha seca 55°C); F.N. (Folha <i>in natura</i> ).				

A clorofila é um pigmento verde, presente naturalmente nas plantas. A clorofila a, está presente nas plantas que realizam fotossíntese, pois converte a energia da luz em energia química, sendo usada para a primeira etapa do processo fotossintético que é a fotoquímica. Ao mesmo tempo em que os demais pigmentos, como a clorofila b, contribuem na absorção de luz e transferência de energia para as reações, sendo denominados de pigmentos acessórios (Jain et al., 2021). Através dos resultados obtidos nessa pesquisa nota-se que o teor de clorofilas foi maior para FN sendo estatisticamente significativas quando comparadas às FS. A temperatura de secagem pode ter induzido em parte o teor de clorofila menor nessa amostra. Em amostras de azeites extraídos de azeitonas trituradas sem caroço, por 60 minutos, adicionadas de folhas de oliveira com partículas de 0,3mm atingiram 16,71 mg kg <sup>-1</sup> do teor de clorofila (Markhali and Teixeira, 2023).

Tabela 3: Concentração de clorofilas nas amostras de folhas de oliveira

<b>Amostras</b>	<b>Clorofila a (mg/g)</b>	<b>Clorofila b (mg/g)</b>	<b>Clorofila Total (mg/g)</b>
F.S.	14,51 ± 1,60	25,34 ± 2,80	21,30 ± 1,41
F.N.	14,82 ± 1,43*	25,90 ± 2,50*	23,19 ± 1,18*

\* ... Média e desvio padrão seguidos de asterisco na mesma coluna representa diferença significativa. F.S. (Folha seca 55°C); F.N. (Folha *in natura*).

A fim de medir quais variáveis estão linearmente relacionadas, foi realizada uma matriz de correlação de Pearson, portanto, ela relaciona o grau de associação linear entre propriedades antioxidantes, compostos bioativos e a cor presentes nas folhas de oliveira. Um valor próximo de 1 indica uma forte correlação positiva (quando uma aumenta, a outra tende a aumentar), enquanto um valor próximo de -1 indica uma forte correlação negativa (quando uma aumenta, a outra tende a diminuir); já valores próximos de zero sugerem pouca ou nenhuma correlação (Romero-Márquez et al., 2024).

Pode-se observar que DPPH e FRAP apresentaram uma correlação negativa significativa  $r = -0,83$  ( $p=0,039$ ), indicando que pode existir relação inversa, como a diminuição

de um composto com o aumento de outro, o que é natural quando se trata destes dois radicais. O radical antioxidante FRAP apresentou correlação positiva com clorofila\_A  $r=0,8436$  ( $p=0,035$ ). A análise de flavonoides e cor, mostrou fortes correlações para o parâmetro de cor\_L, que representa a luminosidade  $r=0,98$  ( $p=0,001$ ), isso pode sugerir que o teor de flavonoides está associado a maiores concentrações de certos pigmentos, já a cor\_A, demonstra correlação negativa  $r=-0,9949$  ( $p=0,000$ ), indicando que a presença de pigmentos que variam do verde ao vermelho, influenciou negativamente neste composto.

Há uma correlação negativa entre clorofila total e cor\_L ( $-0,9704$   $p=0,001$ ) cor\_A ( $-0,9365$   $p=0,007$ ) e COR\_B ( $-0,9999$   $p=0,000$ ). Tais resultados sugerem que o teor de clorofila total está inversamente relacionado com as características de cor.

Além disso, é importante ressaltar que valores próximos de zero indicam que não há uma relação linear evidente entre as variáveis, portanto, não significa necessariamente que não haja relação, mas que ela pode ser não linear ou influenciada por outros fatores não considerados na análise.

#### **4. Conclusão**

Os dados obtidos após as análises revelam forte capacidade antioxidante, pois os percentuais de inibição dos radicais livres foram consideravelmente elevados e com significância estatística. Isso pode ser devido ao fato da presença de compostos fenólicos, flavonoides e também da clorofila, a qual também apresentou excelente resultado e é reconhecida por atuar como antioxidante. Fomentar novas ideias de consumo e utilização em novos produtos se faz importante e urgente, devido ao fato de quantidades significativas de nutrientes, que podem ser aproveitados, estarem sendo descartadas. Os compostos presentes na folha são benéficos à saúde, sendo assim a folha de oliveira apresenta grandes potenciais para ser incluída em consumo diário visando reduzir seu descarte e o alto impacto que este causa na natureza.

#### **Referências Bibliográficas**

SEAPI. Secretaria da agricultura, pecuária, produção sustentável e irrigação. Plantio de oliveira expande produção de azeite no pampa gaúcho. 24 set. 2013. Disponível em: [plantio de oliveira expande produção de azeite no pampa gaúcho - secretaria da agricultura, pecuária, produção sustentável e irrigação](#). Acesso em: 10 set 2023.

SEAPI. Secretaria da agricultura, pecuária, produção sustentável e irrigação. Produção de azeite de oliva cresce 29% no estado. 04 ago 2023. Disponível em: produção de azeite de oliva cresce 29% no estado - portal do estado do rio grande do sul. Acesso em: 12 set 2023.

Antunes, B. Da F., De Leon, C., Lorini, A., Nogueira, C.C, Helbig, E., Zambiazi, R. Efeito Biológico Do Extrato De Folhas De Oliveira (*Olea Europaea L.*) Em Ratos Submetidos À Dieta Hiperlipídica. Demetra: Alimentação, Nutrição & Saúde. 2018;13(4):1041–1055. Doi: <Https://Doi.Org/10.12957/Demetra.2018.37273>.

Romero-García, J.M., Niño, L., Martínez-Patiño, C., Álvarez, C., Castro, E., Negro, M.I. Biorefinery Based On Olive Biomass: State Of The Art And Future Trends. Bioresource Technology. 2014;159:421-432.

Espeso, J., Isaza, A., Lee, J.Y., Sørensen, P.M., Jurado, P., Avena-Bustillos, R.J., Olaizola, M., Arboleya, J.C. Olive Leaf Waste Management. Frontiers In Sustainable Food Systems. 2021;5:660582. Doi: <Https://Doi.Org/10.3389/Fsufs.2021.660582>.

Rosa, G.S. Da, et al. Eco-Friendly Extraction For The Recovery Of Bioactive Compounds From Brazilian Olive Leaves. Sustainable Materials And Technologies. 2021;28:E00276. Doi: <Https://Doi.Org/10.1016/J.Susmat.2021.E00276>

Martín-García, B., Pimentel-Moral, S., Gómez-Caravaca, A.M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A. Box-Behnken Experimental Design For A Green Extraction Method Of Phenolic Compounds From Olive Leaves. Industrial Crops And Products. 2020;154:112741. Doi: <Https://Doi.Org/10.1016/J.Indcrop.2020.112741>.

Acar-Tek, N., Ağagündüz, D. Olive Leaf (*Olea Europaea L. Folium*): Potential Effects On Glycemia And Lipidemia. Annals Of Nutrition And Metabolism. 2020;76:63-68.

Özcan, M.M., Matthäus, B. A Review: Benefit And Bioactive Properties Of Olive (*Olea Europaea L.*) Leaves. European Food Research And Technology. 2017;243:89–99. Doi: <Https://Doi.Org/10.1007/S00217-016-2726-9>.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. Use Of A Free Radical Method To Evaluate Antioxidant Activity. Lwt - Food Science And Technology. 1995;28(1):25-30.

Stratil, P., Klejdus, B., Kubáň, V. Determination Of Total Content Of Phenolic Compounds And Their Antioxidant Activity In Vegetables: Evaluation Of Spectrophotometric Methods. Journal Of Agricultural And Food Chemistry. 2006;54(3):607-616.

Loots, D.T., Van Der Westhuizen, F.H., Botes, L. Aloe Ferox Leaf Gel: Phytochemical Content, Antioxidant Capacity, And Possible Health Benefits. Journal Of Agricultural And Food Chemistry. 2007;55:6891-6896. Doi: 10.1021/Jf071110t.

Konica Minolta. Entendendo O Espaço De Cor Lab\*. 2020. Available From: <Https://Sensing.Konicaminolta.Us/Br/Blog/Entendendo-O-Espaco-De-Cor-Lab/>

Lichtenthaler, H.K. Chlorophylls And Carotenoids: Pigments Of Photosynthetic Biomembranes. Methods In Enzymology. 1987;148:350-382.

Khelouf, I., Karoui, I.J., Lakoud, A., Hammami, M., Abderrabba, M. Comparative Chemical Composition And Antioxidant Activity Of Olive Leaves *Olea Europaea L.* Of Tunisian And Algerian Varieties. *Heliyon.* 2023;9(12):E22217. Doi: [Https://Doi.Org/10.1016/J.Heliyon.2023.E22217](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22217)

Manzoor, S., Masoodi, F.A., Parvez, S., Rashid, R., Shah, A.R., Kousar, M., et al. Green Extraction Of Bioactives From Apple Pomace And Olive Leaves: Characterisation And Their Effect On The Heat-Induced Trans Fatty Acid Formation In Edible Oils During Frying Process. *Food Chemistry Advances.* 2025;6:100858.

Ribas, J.C.R, et al. Bioactive Compounds And Antioxidant Activity Of Leaves From Olive Trees Grown In Paraná, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira.* 2023;58:E03025. Doi: [Https://Doi.Org/10.1590/S1678-3921.Pab2023.V58.03025](https://doi.org/10.1590/S1678-3921.Pab2023.V58.03025)

Khemakhem, I., Abdelhedi, O., Trigui, I., Ayadi, M.A, Bouaziz, M. Structural, Antioxidant And Antibacterial Activities Of Polysaccharides Extracted From Olive Leaves. *International Journal Of Biological Macromolecules.* 2018;106:425-432. Doi: [Https://Doi.Org/10.1016/J.Ijbiomac.2017.08.037](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.037).

Romero-Márquez, J.M., Navarro-Hortal, M.D., Forbes-Hernández, T.Y., Varela-López, A., Puentes, J.G., Sánchez-González, C., Sumalla-Cano, S., Battino, M., García-Ruiz, R., Sánchez, S., Quiles, J.L. Effect Of Olive Leaf Phytochemicals On The Anti-Acetylcholinesterase, Anti-Cyclooxygenase-2 And Ferric Reducing Antioxidant Capacity. *Food Chemistry.* 2024;444:138516. Doi: [Https://Doi.Org/10.1016/J.Foodchem.2024.138516](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138516).

Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R.. Flavonoids: An Overview. *J Nutr Sci.* 2016;5:E47. Doi:10.1017/Jns.2016.41.

Ullah, A., Munir, S., Badshah, S.L., Khan, N., Ghani, L., Poulsom, B.G, Emwas, A.H, Jaremko, M. Important Flavonoids And Their Role As A Therapeutic Agent. *Molecules.* 2020;25(22):5243.

Boudhrioua, N., Bahloul, N., Ben Slimen, I., Kechaaou, N. Comparison On The Total Phenol Contents And The Color Of Fresh And Infrared Dried Olive Leaves. *Industrial Crops And Products.* 2009;29(2-3):412-419.

Jain, A., Behera, B., Paramasivan, B. Evaluation Of Physicochemical Procedures For Pigment Extraction From Mixed Microalgal Consortium. *Bioresour Technol Rep.* 2021;15:100775.

Markhali, F.S., Teixeira, J.A. Comparative Study Of Different Particle Sizes Of Added Olive Leaves For The Content Of Target Polyphenols In Virgin Olive Oil. *Sustainable Food Technology.* 2023;1(6):896-905. Doi: 10.1039/D3fb00108c.

Romero-Márquez, J.M., et al. Effect Of Olive Leaf Phytochemicals On The Anti-Acetylcholinesterase, Anti-Cyclooxygenase-2 And Ferric Reducing Antioxidant Capacity. *Food Chemistry.* 2024;444:138516. Doi: [Https://Doi.Org/10.1016/J.Foodchem.2024.138516](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138516).

**Artigo 2 (Submetido a revista Food Research International)**

Dear Ms Camila Castencio Nogueira,

Your submission entitled "Physicochemical and sensory characterization of foods based on *Olea europaea* L. leaves and *Malpighia emarginata* pulp and their influence on biochemical parameters of *Drosophila melanogaster*" of Research Paper has been received by Food Research International. It has been assigned the following manuscript number: FOODRES-D-25-01388.

You may check on the progress of your paper by logging on to the Editorial Manager as an author. The URL is <https://www.editorialmanager.com/foodres/>.

Your username is: [camilacastencionogueira@gmail.com](mailto:camilacastencionogueira@gmail.com)

If you need to retrieve password details, please go to: [click here to reset your password](#)

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Editorial Manager  
Food Research International

## **Caracterização físico-química e sensorial de alimentos à base de folhas de *Olea europaea* L. e polpa de *Malpighia emarginata* e sua influência sobre parâmetros bioquímicos de *Drosophila melanogaster***

### **Resumo**

O Brasil enfrenta uma transição nutricional, esse cenário, aliado ao crescente interesse por práticas alimentares sustentáveis, impulsiona a pesquisa sobre o uso de subprodutos agroindustriais, como a folha de oliveira (FO) e também de frutas como a acerola, visando melhorar a qualidade nutricional dos alimentos e minimizar impactos ambientais. Sendo assim, estudo objetivou formular cookies e barra de cereal com FO e polpa de acerola (A), avaliando suas características sensoriais bem como, investigar os efeitos bioquímicos da FO e da A em *Drosophila Melanogaster*. Para isso, foram realizadas análises de atividades antioxidantes, compostos fenólicos totais, formulação e análise sensorial pelo método de Dominância Temporal das Sensações (SensoMaker) e testes de comportamento e sobrevivência em ensaio experimental com *Drosophila melanogaster*. Os resultados demonstraram que a FO e A possuem atividade antioxidante e são capazes de manter a capacidade locomotora e o tempo de sobrevivência das DM. Através da formulação dos produtos, foi possível observar que as características predominantes foram crocância e doce. As quais estão de acordo com o esperado para os produtos formulados. Sendo assim, conclui-se que o uso de subprodutos como a folha de oliveira e a acerola em alimentos pode representar uma alternativa promissora tanto para a melhoria da qualidade nutricional quanto para o aproveitamento sustentável de recursos agroindustriais. A folha de oliveira, rica em compostos antioxidantes, e a acerola, conhecida por seu alto teor de vitamina C, têm grande potencial para contribuir com benefícios à saúde, especialmente no combate ao estresse oxidativo e na prevenção de doenças crônicas.

**Palavras-chave:** saúde, sustentabilidade, economia circular, frutas.

## 1. Introdução

O Brasil convive há alguns anos com o processo de transição nutricional, caracterizada pela alteração em seu padrão alimentar que se interliga com a transição epidemiológica e demográfica. É um fenômeno complexo em que se observa a redução na desnutrição e o aumento progressivo de sobrepeso e obesidade nos diferentes ciclos de vida. Havendo, consequentemente incremento de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT), câncer, doenças cardiovasculares, respiratórias, diabetes, entre outros (Barros et al., 2021). Observa-se, com o passar dos anos cada vez mais um estilo de vida corrido, principalmente em grandes cidades. Com compromissos diários que requerem uma pausa curta para refeições. Há quem faça suas refeições em casa, quem consiga transportar e fazer suas refeições nos locais de trabalho, por exemplo. E quem faça suas refeições na rua, muitas vezes fazendo escolhas mais práticas, mas sem levar em consideração as características nutricionais dos alimentos (Martins et al., 2021).

No entanto, ao passo em que se observa o crescente número de indivíduos obesos ou com sobrepeso, há um aumento na busca por serviços de saúde, incluindo orientações nutricionais, práticas de atividades físicas ao ar livre ou em ambientes fechados (Zanella et al., 2018). Acrescido a estes fatos, existe a preocupação cada vez mais palpável e abordada sobre a sustentabilidade, pois o impacto de grandes produções sobre o meio ambiente e o bem-estar animal, é notável (Correia Júnior et al., 2021). Portanto tem-se objetivado conhecer, estudar a fundo, as qualidades e os possíveis benefícios de uso de subprodutos da agroindústria, transporte de insumos a regiões mais distantes das suas de origem e até mesmo aplicação em produtos. Pois a exploração integral da produção, fornece valor agregado a cadeia, gera uma economia lucrativa e menos dispendiosa, tanto para o bolso quanto para o ambiente (Moura et al., 2020).

Nesse sentido, a folha de oliveira (FO) (*Olea europaea* L.), é um subproduto originado durante a produção de azeite/azeitona, pois grande parte é descartada nas máquinas durante o processamento dos frutos, onde é feita a limpeza dos galhos, folhas e demais sujidades. Outra parte é descartada durante a época de poda gerando grandes quantidades de folhas descartadas

(Romero-Márquez et al., 2024). No Brasil, o Estado do Rio Grande do Sul (RS) é um grande produtor de azeite de oliva, que devido a grande quantidade de chuvas teve sua safra prejudicada no ano de 2024, passando de 580.228 litros em 2023, para 193.150 litros em 2024 (SEAPI, 2023). Portanto o descarte de subprodutos como bagaço, água, folhas e ramos é elevado. Geralmente utilizados como adubo, pesticida e para ração animal.

Entretanto, ao longo dos anos tem-se pesquisado os benefícios do uso de folha de oliveira para consumo humano, seja através de alimentos ou através de fármacos. Sabe-se que a FO é rica em compostos fenólicos como a Oleuropeína, a qual possui capacidade antioxidante e tem sido amplamente explorada para uso como antioxidante natural (Cavalheiro et al., 2014 ; Coppa et al., 2017; Martiny et al., 2018; Bortolini et al., 2021). Pesquisadores avaliaram a ação antiploriferativa do flavonoide morina e do extrato da FO contra a linhagem de célula de câncer de pulmão (H460). A partir dos ensaios realizados, puderam concluir que na concentração de 800 µg/mL de extrato de FO, houve morte celular por apoptose (Pereira et al., 2015).

A busca por saudabilidade tem fomentado a demanda por compostos fitoquímicos, produtos naturais (provenientes de extratos de plantas e frutas) e sustentáveis. Após a pandemia global COVID-19, muito se difundiu o assunto sobre o consumo de vitamina C, pois este é um importante micronutriente que deve ser ingerido regularmente e que recebeu destaque durante o período em que a população enfrentava o vírus SARS-COV-2 (de Góis et al., 2023).

Em vista disso, e a fim de difundir o consumo de uma fruta rica em vitamina C, no sul do estado, buscou-se analisar a acerola (*Malpighia emarginata*), fruta derivada da aceroleira. A qual possui excelente potencial de aproveitamento, pois além de seu consumo *in natura*, também pode ser aproveitada para fabricação de sucos, sorvetes, geleias ou até mesmo a extração de seu ácido ascórbico para uso desta matéria-prima como extrato natural em produtos farmacêuticos (Jacobs et al., 2020; Olędzki & Harasym, 2024). O Brasil é o maior produtor e exportador de acerola do mundo, porém no sul do Estado do RS seu consumo é pouco difundido em algumas regiões (Monte Junior et al., 2024). Devido a sua perecibilidade, a produção de polpa e suco ainda são os principais destinos dados a esta fruta. No entanto frente a sua alta concentração de compostos bioativos, compostos fenólicos, fenilpropanoides, flavnoides, antocianinas, carotenoides, vitamina C, entre outros. É interessante a análise de sua aplicabilidade em formulações distintas (Magalhães et al., 2021).

Por conseguinte, o uso de ensaios biológicos que possam esclarecer com maior detalhamento quais os efeitos dos compostos estudados sobre um organismo vivo, também se faz necessário. Nesse sentido a *Drosophila melanogaster* (DM), tem sido utilizada ao longo dos anos em várias pesquisas tanto genéticas quanto comportamentais. Seu experimento é, por

vezes, mais rápido e menos dispendioso e há uma gama de análises que podem ser realizadas: bioquímica, genética, comportamental, toxicidade, entre outros (May et al., 2019; Bajgiran et al., 2021; Qush et al., 2023; Bland 2023).

Sendo assim, torna-se interessante investigar quais consequências de uma dieta acrescida de folha de oliveira e acerola sobre o comportamento da DM. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi formular produtos adicionados de folha de oliveira e acerola, avaliá-los quanto as suas características e através da Dominância Temporal das Sensações descrever seus atributos sensoriais. Além disso, avaliar os parâmetros bioquímicos da *Drosophila melanogaster* e comportamento após consumo de folha de oliveira e da fruta acerola.

## **2. Materiais e Métodos**

O experimento foi conduzido nas dependências do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA) da Universidade Federal de Pelotas, situado no Campus Capão do Leão/RS, onde realizaram-se as etapas de produção dos biscoitos tipo cookie e barras de cereais, análises físico-químicas dos produtos, atividade antioxidante, além das avaliações sensoriais que ocorreram no laboratório de análise sensorial. O ensaio experimental com DM foi realizado no Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas.

### **2.1 Amostras**

Os itens para a preparação dos produtos foram adquiridos em comércio local, supermercados e/ou lojas de produtos naturais, e armazenadas conforme recomendação. Foi utilizada polpa de acerola congelada proveniente de fornecedores da CEASA na cidade de Porto-Alegre-RS. Já as folhas de *Olea europaea* L. foram obtidas na Estância Guarda Velha, localizada no município de Pinheiro Machado/RS ( $31^{\circ}29'59,4''$  S e  $53^{\circ}30'32,7''$ W). A amostra de FO foi resultante da separação das folhas na hora do beneficiamento do azeite das variedades Arbequina e Arbosana. Após colhidas, foram higienizadas e submetidas à Trituração em liquidificador, moagem em moinhos de facas e peneiradas a 35 mesh (0,42 de abertura, Granutest) para que ficasse em pó.

### **2.2 Análise da capacidade antioxidante da folha de oliveira e acerola**

#### **2.2.1 Determinação pelo método DPPH**

O método DPPH utilizado foi baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm. Após o

preparo, as amostras foram armazenadas em ambiente escuro por 45 minutos. Os resultados expressos em % de inibição do radical e o experimento foi realizado em triplicata (Brand-Williams et al., 1995).

### **2.2.2 Determinação pelo método ABTS**

Utilizou-se de 1 a 25 g de amostra, adicionado 40 mL de metanol 50%, homogeneizado e deixado em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. A partir do extrato obtido se transferirá uma alíquota de 30 µL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 3,0 mL do radical ABTS<sup>·+</sup> e homogeneizado em agitador de tubos. O resultado final foi expresso em µM trolox /g. O experimento realizado em triplicata (Rufino et al., 2007).

### **2.3 Compostos fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteau**

A quantificação de compostos fenólicos das amostras de FO e A, foi determinada por meio de método adaptado (Swain & Hillis, 1959). Em que se homogeneizam 0,5 g de amostra com 20 mL de solvente (metanol). As amostras são centrifugadas a 10.000 rpm por 15 minutos e após são coletados 250 µL do sobrenadante e adicionados à amostra 4 mL de água destilada e 250 µL de Folin-Ciocalteau (1:1). Os tubos foram agitados e depois de 5 minutos adicionados 0,5 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7%). Após 2 horas, a absorbância é medida a 725 nm. A quantidade de fenóis nas amostras é quantificada por meio de uma curva padrão preparada com ácido. A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada em triplicata e os resultados expressos em mg de ácido gálico por g<sup>-1</sup> de amostra.

### **2.4 Elaboração dos produtos formulados com Folha de Oliveira e Acerola**

#### **2.4.1 Biscoitos tipo cookie**

A elaboração dos biscoitos tipo cookie, foi conduzida de acordo com Souza et al. (2020), com algumas modificações. Os ingredientes e as quantidades utilizadas para a produção do biscoito estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Composição dos biscoitos tipo cookie.

Ingredientes	Quantidade (%)
--------------	----------------

Farinha de trigo	29,59
Aveia em flocos	11,83
Gotas de chocolate	8,88
Óleo de soja	18,64
Açúcar mascavo	14,79
Fermento químico	4,44
Folha de oliveira	5,92
Acerola	5,92

Para a formulação dos biscoitos, os ingredientes foram misturados manualmente com auxílio de uma colher até obtenção de uma massa homogênea, quando então, a mesma foi disposta sobre uma superfície lisa e com auxílio de um rolo abridor de massa, aberta até uma espessura de 6mm. Com auxílio de um cortador cilíndrico (diâmetro de 4,7cm), a massa foi cortada disposta sobre uma assadeira, leva ao forno já aquecido a 150°C, durante 10 minutos. Após resfriamento os biscoitos tipo cookie foram envoltos em papel laminado e acondicionados em embalagens de plástico com tampa, para posterior realização das análises.

#### **2.4.2 Elaboração das barras de cereais**

As barras foram formuladas segundo Radünz et al. (2016), com algumas modificações. Os ingredientes utilizados na preparação foram: aveia em flocos, chia, grãos de quinoa tostados, folha de oliveira, polpa de acerola e chocolate. Para o desenvolvimento, foi preparada uma mistura composta pelos ingredientes secos (aveia em flocos, grãos de quinoa tostados, chia, folha de oliveira e acerola) e misturado a eles foi adicionada chocolate derretido aquecida em banho-maria até obtenção de uma massa homogênea.

Essa mistura foi colocada em formas de alumínio (12 cm x 5 cm) forradas com papel alumínio e submetidas a forno elétrico com temperatura de 150°C por 15 minutos. Após esse processo, as barras foram prensadas até obter espessura aproximada de 1cm, cobertas com filme plástico e armazenadas sobre refrigeração. Posterior ao resfriamento, as barras foram

desenformadas. Novamente acondicionadas em embalagens individuais em filme metalizado, para que então fossem analisadas.

## **2.5 Análises dos produtos**

### **2.5.1 Composição centesimal**

A caracterização da composição química das dietas experimentais foi realizada em triplicata, avaliando-se teor de umidade, cinzas, extrato etéreo, proteína, fibra bruta e carboidratos por diferença. O valor energético total foi obtido por meio da equação  $VET = (C \times 4) + (P \times 4) + (L \times 9)$ , sendo C: carboidratos, P: proteína total e L: lipídios (IAL, 2005).

### **2.5.2 Perfil colorimétrico**

O perfil colorimétrico é determinado utilizando colorímetro Minolta®, modelo CR-310 (Osaka, Japão), que possibilita a leitura de cores num sistema tridimensional, avaliando a cor em três eixos, onde o eixo L\* avalia a amostra do preto ao branco, o eixo a\* da cor verde ao vermelho e o eixo b\* da cor azul ao amarelo. As análises de cor são realizadas em seis unidades de biscoitos tipo cookie e barras de cereal, 24 horas após sua elaboração (Konica, 2020).

### **2.5.3 Sólidos solúveis (SS)**

Para as amostras de cookies e barras, foi determinado em refratômetro digital e os resultados expressos em °Brix (AOAC, 2012).

### **2.5.4 pH**

Foi utilizado um medidor de pH de bancada, sendo calibrado de acordo com as instruções do fabricante através do uso de substâncias com pH = 4 e pH = 7 (Silva, 2020).

### **2.5.5 Perfil de textura**

A análise de textura foi realizada nas amostras de todos os produtos após sua formulação.

#### **2.5.5.1 Biscoitos tipo cookie**

As amostras serão analisadas utilizando o Texture Analyser TA.XT Plus (Stable Micro Systems®), pelo método TPA, calibrado com 5kg de carga. Os biscoitos serão perfurados individualmente com o probe p/20, cilíndrico de 20mm. As condições experimentais adotadas

para velocidade de leitura de pré-teste, teste e pós teste serão de 1,00 mm.s<sup>-1</sup>, 0,50 mm.s<sup>-1</sup> e 10,00 mm.s<sup>-1</sup> respectivamente, com perfuração de 50% da amostra. Serão obtidos parâmetros de dureza e fraturabilidade.

### **2.5.5.2 Barras de cereais**

Será realizada em Analisador de Textura Modulado TA.XT plus (Stable Micro Systems®), utilizando a probe cilíndrico de 20mm, velocidade de 5mm/seg, com perfuração de 60% da amostra. Parâmetros de dureza, adesividade, coesividade, gomosidade, elasticidade, mastigabilidade e resiliência.

## **2.5.6 Análises microbiológicas**

### **2.5.6.1 Biscoitos tipo cookie**

Segundo a Instrução Normativa-IN nº161 de 1º de julho de 2022 (ANVISA,2022), a qual estabelece os padrões microbiológicos para alimentos. E baseando-se nas características do material de estudo, se enquadram no grupo 19/d): Pães, bolos, bolachas e biscoitos, sem recheio e outros produtos de panificação, estáveis a temperatura ambiente. As análises para o controle microbiológico exigidas são: *Salmonella*/25g, *Bacillus cereus* presuntivo/g, *Escherichia coli*/g, Bolores e leveduras/g.

### **2.5.6.2 Barras de cereais**

Foram analisados a presença e/ou quantificação dos seguintes microrganismos: *Salmonella*/25g, *Escherichia coli*/g e bolores e leveduras por plaqueamento, Instrução Normativa-IN nº161 de 1º de julho de 2022, que regulamenta os Padrões Microbiológicos para Alimentos (ANVISA, 2022). Estando enquadrados no grupo 19/i): Cereais compactados, em barra ou outras formas, com ou sem adição de outros ingredientes

## **2.5.7 Análise sensorial**

### **2.5.7.1 Teste de Dominância Temporal das Sensações (DTS)**

O teste TDS objetiva descrever a evolução das diferentes sensações percebidas durante a ingestão dos produtos formulados. Foram 15 provadores treinados, da Universidade Federal de Pelotas, que aceitaram participar do experimento. Foram apresentados ao software Sensomaker e deveriam destacar à temporalidade das sensações (Pineau et al., 2009; Pinheiro et al., 2013). Após a familiarização, os provadores foram solicitados a clicar no botão “iniciar”

e durante 2s colocar a amostra (5g) na boca e, imediatamente, iniciar a avaliação. Durante 30 segundos os provadores foram instruídos a escolher, usando o mouse, o sabor dominante ao longo do tempo de análise em que foi explicado que o sabor dominante é o gosto que é percebido com maior clareza e intensidade entre os demais. Para cada uma das sensações, um botão será apresentado no display do computador para avaliação. A apresentação das amostras foi feita em pratos de porcelana branco com a prévia apresentação do que o avaliador estava recebendo para ser analisado, e os avaliadores foram convidados a lavar a boca com água entre cada amostra (Nunes & Pinheiro, 2012).

## **2.6 Ensaio experimental com *Drosophila melanogaster***

### **2.6.1 Animais**

As análises foram realizadas no Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética no Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). De acordo com Meichtry et al. (2020), com algumas modificações. Primeiramente fez-se um estoque de moscas de ambos os sexos, em que todas foram mantidas em vidros transparentes esterilizados em autoclave, identificados com data e cobertos com “tampa” de espuma de colchão, também, previamente esterilizadas.

Foram mantidas em meio de cultura padrão, a qual era composta por: água, melado, fermento biológico, ácido propiônico e purê de batata (Yoki®) e após as dietas serem colocadas nos vidros, foi posicionado um pedaço de papel pulverizado com nipagin (10%). Ciclo de luz claro/escuro de 12h e temperatura ambiente entre 20-24°C. As dietas foram trocadas a cada 2 dias e ao final de cada experimento, as moscas foram eutanasiadas por congelamento.

### **2.6.2 Preparo de estoque para testes de comportamento**

Foram utilizados vidros de relógio para laboratório (120mm), em cada um dos vidros foi disposta uma quantidade de meio de oviposição, o qual é composto por: ágar, levedura, açúcar ou mel. Após fervura, adiciona-se ácido propiônico e corante alimentar verde, a fim de identificar os ovos postos pelas moscas.

O meio foi colocado de modo que preenchesse o fundo do vidro. Enquanto isso, as moscas mantidas em dieta de manutenção, foram transferidas para tubos de Falcon com papel molhado ao fundo para que se limpassem e ficassem em jejum durante 1h. Para o manuseio seguro das moscas, as mesmas foram crioanestesiadas por 1-2 minutos. Após, foram transferidas para vidros vazios tapados com o vidro de relógio já com o meio e posicionados de

cabeça para baixo com intuito de que pudessem ovipositar no meio em questão. Para que assim, os ovos pudessem ser coletados.

### **2.6.3 Preparo do meio de cultura para os grupos teste**

Após 24h, mantidas em meio de oviposição foram coletados 30 ovos para cada grupo teste, os quais foram denominados: folha de oliveira (FO), acerola (A) e controle (C). Ao mesmo tempo em que um grupo estava em teste para longevidade e sobrevivência, outro foi preparado para que quando as moscas se tornassem adultas, fossem utilizadas para teste de locomoção e campo aberto.

O meio de cultura foi formulado de acordo com a tabela 2. Os itens: ácido propiônico, nipagin, folha de oliveira e acerola foram acrescentados após a fervura dos demais.

Tabela 2: Formulação da dieta teste de acordo com cada grupo.

	<b>Controle</b>	<b>Folha de Oliveira</b>	<b>Acerola</b>
Levedura em pó	10g	10g	10g
Açúcar	10g	10g	10g
Ágar	1g	1g	1g
Água destilada	90ml	90ml	90ml
Ácido propiônico	5ml	5ml	5ml
Nipagin (10%)	0,8ml	0,8ml	0,8ml
Folha de Oliveira	-	3g	-
Acerola	-		3g

Este meio foi utilizado nos vidros em que as moscas permaneceriam até completar os testes de sobrevivência, locomoção e campo aberto.

### **2.6.4 Análise de sobrevivência durante o ciclo de vida**

Conforme descrito anteriormente, os ovos coletados foram colocados cuidadosamente em frascos de vidro menores, com os respectivos meios teste para cada grupo, até que cobrissem metade do frasco. Sendo mantidos em ciclo claro/escuro 12h e temperatura entre 25 °C. Todas

as análises foram realizadas em triplicata. Foi realizada a contagem diária de moscas até o final deste experimento (12 dias). Não houve troca de dieta durante os dias para evitar risco de morte pelo processo de manipulação (Jimenez-Del-Rio et al., 2010).

#### **2.6.5 Teste de geotaxia negativa**

Através desse teste é possível avaliar possíveis danos locomotores das moscas de acordo com a capacidade de escalada das mesmas. Cinco moscas de cada grupo, após se tornarem adultas (10 dias), foram colocadas em tubos de ensaio individualmente (16 cm de altura e 180mm de diâmetro). Suavemente a estante de tubos foi batida sobre a mesa para que as moscas caíssem ao fundo do tubo, e o tempo em que as moscas levaram para atingir 8cm no tubo foi cronometrado. A análise foi repetida cinco vezes com intervalo de 1 minuto sendo média dos tempos calculada individualmente (Musachio et al., 2020).

#### **2.6.6 Análises bioquímicas**

De acordo com Ávila et al., (2024), com algumas adaptações. Após as moscas completarem o ciclo de vida em cada dieta teste, foram anestesiadas por congelamento e 30 moscas por grupo foram transferidas para tubos eppendorf (2mL), a fim de que pudessem ser maceradas com Solução tampão pH 7,0 de Fosfato dissódico/Fosfato de Potássio monobásico (TFK) (NEON, reagentes químicos, São Paulo). Após a maceração, foram centrifugadas 1500 rpm por 20 minutos para separar o sobrenadante. Então, foram analisados os marcadores de glicose (GLI) e triglicerídeos (TRI), utilizando kits comerciais Bioclin® (Belo Horizonte, Minas Gerais) em um equipamento de análise bioquímica automatizado (Cobas Mira S, Roche®, Basel, Suíça).

#### **2.7 Análise estatística**

Os dados obtidos nas análises foram analisados por meio da Análise de Variância (ANOVA), seguida do Teste de Tukey para todas as variáveis ao nível de significância de 95%. Somente quando  $p < 0,05$  os resultados foram considerados significativos.

### **3. Resultados e Discussão**

#### **3.1 Capacidade antioxidante e compostos fenólicos totais da Folha de oliveira e Acerola**

Os resultados da capacidade antioxidante das amostras, determinada pelos métodos DPPH e ABTS estão apresentados na tabela 3. Observou-se ótima atividade antioxidante frente aos radicais analisados ( $p<0,05$ ). O método DPPH avalia a capacidade que uma substância tem de sequestrar este radical, através da doação de um átomo de hidrogênio ou da transferência de um elétron fazendo com que sua intensidade diminua e ele altere sua coloração (Oliveira, 2015). Nesse sentido, os valores de IC<sub>50</sub> obtidos nas amostras analisadas demonstram que  $1,5\pm0,22$  mg/ml é a concentração mínima necessária para inibir a atividade do radical DPPH em 50%, revelando sua alta capacidade antioxidante. Referente ao método ABTS, sua captura resulta em um decréscimo na absorbância. Ferreira et al., (2021), avaliando diferentes cultivares de acerola obtiveram valor mais elevado na análise por ABTS para a variedade BRS Sertaneja sendo 208.2 mmol TE kg<sup>-1</sup> e 167.3 mmol TE kg<sup>-1</sup> para a variedade BRS 236. Os mesmos pesquisadores obtiveram resultados de BRS Sertaneja” (200.0 mmol TE kg<sup>-1</sup>), “BRS 237” (186.2 mmol TE kg<sup>-1</sup>), para DPPH. Em estudo que avaliou diferentes genótipos de acerola, os pesquisadores obtiveram 2.72, 5.84 e 4.09 µM Trolox g<sup>-1</sup> para as variedades híbridas CMF07-60-07, CMF07OKSE-3 e a variedade utilizada como controle OKINAWA (Viana et al., 2021).

Difonso et al., (2017), ao pesquisarem folhas da cultivar Coratina de uma região da Itália, obtiveram resultado de  $524 \pm 1$  µmol TE g<sup>-1</sup> de ABTS e  $427 \pm 2$  µmol TE g<sup>-1</sup> para DPPH em amostras de folhas frescas em extrato etanólico. Sabe-se que radicais livres são produzidos fisiologicamente em processos essenciais ao organismo. Entretanto, excessos em sua produção podem desencadear desequilíbrio entre agentes antioxidantes e oxidantes, o que caracteriza estresse oxidativo (de Oliveira et al., 2021). Fontes naturais de antioxidantes são importantes, pois auxiliam no controle de espécies reativas de oxigênio e garantem saúde ao organismo (Xu et al., 2020).

Tabela 3: Capacidade antioxidante das amostras de folha de oliveira e acerola através dos métodos DPPH e ABTS

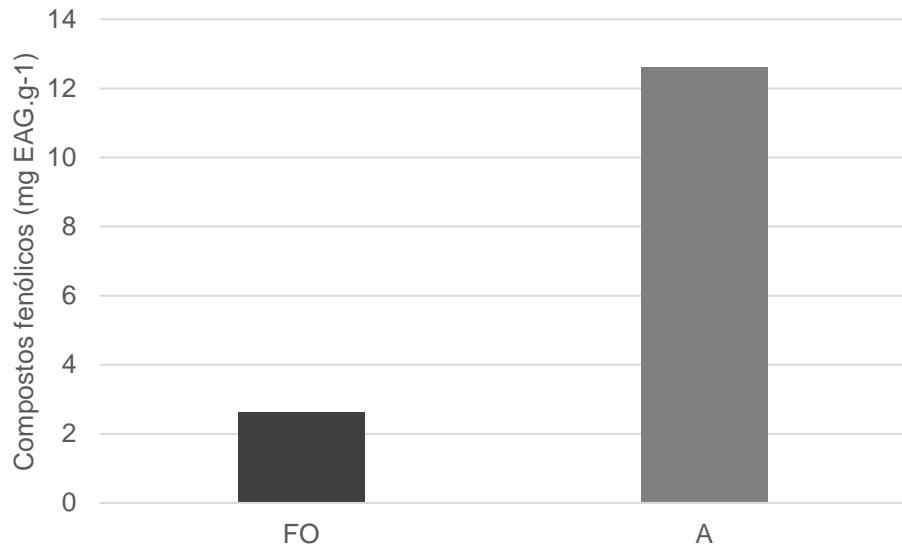
	DPPH IC <sub>50</sub> (mg/ml)	ABTS (µM Trolox/g)
<b>FO</b>	$2,8\pm0,1^*$	$9,00\pm0,13$
<b>A</b>	$1,5\pm0,22$	$11,12\pm0,12^*$

\*...Média e desvio padrão seguidos de \* na coluna, apresentam diferença estatística ( $p<0,05$ ).

FO (folha de oliveira), A (polpa de acerola).

No que diz respeito ao teor de compostos fenólicos totais Figura 1 Bertolo et al. (2023), encontraram valores significativos para extrato de acerola,  $573 \pm 18 \text{ mg GAE g}^{-1}$ . Os polifenóis são um grupo de compostos bioativos que apresentam diversas propriedades, tal como compostos envolvidos no sabor dos alimentos, atividade antioxidante (Cozzolino & Cominetti 2013). Com relação a capacidade redutora de Folin-Ciocalteu pela acerola, pode estar atrelada ao teor de ácido ascórbico presente na fruta. As plantas costumam produzir estes compostos como um mecanismo de defesa frente a organismos patogênicos. Comparado a outros estudos, há de se considerar que as amostras foram coletadas em regiões distintas, possuem divergências genéticas e de cultivar e também divergem quanto a fatores ambientais, tais como: clima, solo, irrigação, grau de maturação, etc. o que pode acabar influenciando na composição das amostras do presente estudo e afetando seus resultados. É importante salientar também, os diferentes meios de extração utilizados os quais podem influenciar no teor de compostos extraídos das amostras e concentrações para identificação nas análises.

Figura 1: Teor de compostos fenólicos totais das amostras de folha de oliveira e acerola



\*...Média e desvio padrão seguidos de \* apresentam diferença estatística ( $p<0,05$ ). FO (folha de oliveira), A (polpa de acerola).

### **3.2 Análise dos produtos formulados com folha de oliveira e acerola**

#### **3.2.1 Composição centesimal**

A partir da formulação dos produtos, estes foram caracterizados quanto a sua composição proximal, conforme demonstrado na Tabela 4. O teor de umidade, indispensável

na descrição de um produto pois determina a sua durabilidade e processo de estocagem, foi mais elevado para amostra de barra de cereal. Porém, os dois encontram-se dentro do preconizado pela RDC nº 711, de 1º de julho de 2022 (Brasil, 2022) que é de 15%.

Quanto ao teor de cinzas, o qual indica a presença de material inorgânico na amostra (minerais), a barra de cereal também apresentou maior percentual. Sendo semelhante ao resultado encontrado por Dias et al. (2020), que obtiveram  $2,13 \pm 0,06\%$  para barras de cereal de farinha de inhame adicionadas com concentrado proteico de soro de leite.

Os resultados do presente estudo demonstram quantidade de fibras mais elevada para barra de cereal 11,14%, isto pode ser devido a formulação com mais cereais agregados. Faccioli et al. (2021), ao avaliarem farinha de folha de oliveira, obtiveram resultados superiores para fibra alimentares ( $54,08 \pm 1,75\text{ g}$ ). E em relação a proteína os pesquisadores obtiveram maiores resultados nas formulações de biscoitos com farinha de folha de oliveira, variando de 18,90 g a 19,94 g. A presente pesquisa a barra de cereal apresentou 12,21 % de proteína, o que pode ser devido a presença de chocolate ao leite na formulação do produto.

No que diz respeito ao resultado de lipídios os resultados foram semelhantes para ambas as amostras. Ainda assim, estes valores encontram-se dentro do recomendado pela IDR que não deve exceder 30% do VET (WHO, 2020). Os lipídios são compostos altamente energéticos, que fornecem ao nosso organismo, ácidos graxos essenciais, além de atuarem no transporte de vitaminas lipossolúveis (Difonso et al., 2018). Aquino et al. (2010), avaliaram formulações de cookies adicionados com 10% de resíduos da acerola e obtiveram  $10,40 \pm 0,75\text{ g} \cdot 100^{-1}$ .

**Tabela 4:** Caracterização físico-química das amostras de cookie e barra de cereal.

	Cookie	Barra de cereal
Umidade (%)	$2,34 \pm 0,13$	$4,10 \pm 0,32$
Cinza (%)	$2,14 \pm 0,01$	$2,68 \pm 0,05$
Fibra bruta (%)	$6,52 \pm 0,24$	$11,14 \pm 0,82$
Proteína (%)	$5,80 \pm 0,31$	$12,21 \pm 0,52$
Carboidrato (%)	$65,26 \pm 2,18$	$52,11 \pm 0,51$
Lipídio (%)	$17,95 \pm 1,91$	$17,76 \pm 0,58$

Valor energético (Kcal/100g)	total	445,87	417,14
---------------------------------	-------	--------	--------

### 3.2.2 Perfil colorimétrico

A tabela 5 apresenta os resultados do perfil colorimétrico das amostras formuladas, os valores de L\* para ambos os produtos indicam luminosidade relativamente baixa, demonstrando a tonalidade mais escura das amostras e com tom avermelhado de acordo com os valores encontrados em a\*. O parâmetro b\* indica que as amostras analisadas possuem coloração amarelada. Karunanithi et al. (2024), ao avaliarem biscoitos formulados com folhas de bétéle (*Piper betle* L.), também observaram coloração mais amarelada para as amostras avaliadas, as quais variaram de  $35.5 \pm 0.01$ ,  $18.28 \pm 0.02$ .

Em estudo que comparou a formulações de biscoitos com extrato de folhas de oliveira livre e biscoitos com extrato da folha microencapsulado, obtiveram resultados de colorimetria mais aproximados ao do presente estudo para os parâmetros a\* e b\*. Para o parâmetro a\* em biscoitos com FO livre, tempo 5 e estocagem acelerada 1, o valor observado foi  $3.96 \pm 0.31$ . E com relação a medida b\* tempo 0, obteve-se  $22.71 \pm 0.61$ . Estes dados encontrados corroboram com o presente estudo para as amostras de barra de cereal e cookie, respectivamente (Paciulli et al., 2023).

Tabela 5: Perfil colorimétrico das amostras de cookie e barra de cereal

Amostras	L*	a*	b*
Cookie	$30,90 \pm 4,13$	$6,33 \pm 1,45$	$20,13 \pm 2,94$
Barra de cereal	$37,03 \pm 7,60$	$3,85 \pm 1,82$	$15,57 \pm 4,33$

### 3.2.3 Sólidos solúveis (SS) e pH

A análise de sólidos solúveis determina a quantidade de sólidos dissolvidos em uma substância. É medida através da refratometria, pois essa medida determina a concentração de uma solução. O total de sólidos dissolvidos em água, como: açúcar, sais, proteínas, ácidos, entre outros, representa a quantidade de sólidos solúveis. As médias dos sólidos totais (°Brix) para cada amostra foram, cookie 3,6 e barra 2,2. Aquino et al. (2010), obtiveram teor médio de 47,5

<sup>o</sup>Brix para farinha de resíduos de acerola. Dada et al. (2024), ao analisarem extrato de FO como revestimento comestível para tomate cereja, constataram teor de 2,45 para pectina adicionada de 10% de extrato de FO. No que diz respeito a análise pH das amostras os valores obtidos cookie (6,13) e barra de cereal 5,57, podem ser justificados pela presença da fruta acerola, que é cítrica.

### 3.2.4 Perfil de textura do cookie e barra de cereal

As características de textura tais como, dureza e fraturabilidade, são fatores que contribuem para qualidade de produtos como os testados. A dureza é medida como a força máxima capaz de quebrar a amostra (Mancebo et al., 2015). Já a fraturabilidade é a tendência que um alimento possui a quebra, desintegração quando aplicada força. É uma característica que denota a crocância que se espera de um produto que possua esse atributo, geralmente exibida por um produto com alto grau de dureza (Gusmão et al., 2018). Foram realizadas diversas medidas e os resultados são apresentados em média e desvio padrão nas tabelas (6 e 7), a seguir.

Karunanithi et al. (2024), encontraram valores superiores para biscoitos formulados com diferentes concentrações de folhas de bétéle (*Piper betel L.*), tendo a menor concentração 3% 4652,24 ± 122,6 g de dureza. Ingredientes que tendem a absorver água, como fibras podem fazer com que a massa fique mais pegajosa, aumentando sua dureza, principalmente após passar pelo processo de forneamento<sup>59</sup> (Jan et al., 2018). Um estudo conduzido por Sarques et al. (2024), corrobora com os dados encontrados no presente estudo para fraturabilidade, tendo a formulação quatro, a qual continha ½ dos constituintes de farelo de cacau e farinha de arroz, o teor mais próximo 7,95 mm.

Tabela 6: Análise de textura dos cookies

	<b>Cookie</b>
Dureza (g)	1859,62 ± 521,68
Fraturabilidade (mm)	6,75 ± 0,88

No que se refere a análise das barras de cereal, pode-se observar característica de dureza mais elevada. No entanto fraturabilidade também se demonstrou elevada, esta é uma particularidade importante em produtos formulados com grãos, seu teor mais elevado é desejável pra que o produto tenha o atributo de crocância esperado. No que concerne a

elasticidade, os resultados demonstram baixa flexibilidade ao ser pressionada. Com relação a característica de adesão, que pode ser descrita como a sensação de grudar em alguma superfície como dentes, apesar da barra ser formulada com uma concentração de chocolate ao leite derretido, este atributo apresentou valor relativamente baixo. O que pode ter sido pelo fato de a barra ter passado pelo processo de forneamento, fazendo com que ela se tornasse menos pegajosa. A barra demonstra ter bons resultados para os atributos de gomosidade e mastigabilidade, não oferecendo muita resistência ao ser consumida.

Tabela 7: Análise de textura das barras de cereal

<b>Barra de Cereal</b>	
Dureza (g)	13221,27 ± 49523,64
Fraturabilidade (g)	12544,15 ± 1890,84
Adesividade(g)	-4,056 ± 0,91
Elasticidade	0,317 ± 0,03
Coesão	0,096 ± 0,01
Gomosidade	1341,622 ± 127,93
Mastigabilidade	419,587 ± 30,67
Resiliência	0,049 ± 0,002

### 3.2.5 Análises microbiológicas

Por meio dos resultados encontrados, Tabela 8, observa-se que estes não apresentaram presença dos microrganismos para as análises de *Salmonella spp.*, Estafilococos coagulase positiva, *Bacillus cereus*, esse fato pode ser associado à ausência de condições favoráveis ao crescimento microbiano. Contudo, para coliformes termotolerantes foram encontrados <3NPM/g. Os resultados de bolores e leveduras encontram-se de acordo com a legislação. São diversos os fatores associados ao crescimento de microrganismos nos alimentos, tais como pH, umidade, condições e cuidados na manipulação dos mesmos. E sua avaliação é extremamente importante pois garante um alimento isento de contaminação ao consumidor (Pereira et al., 2015). Ressalta-se que ausência de *Escherichia coli* nas amostras analisadas.

Tabela 8: Análises microbiológicas dos produtos formulados

<b>Amostras</b>	<b><i>Salmonella</i> <i>spp./25g</i></b>	<b>Estafilococos coagulase positiva</b>	<b><i>Bacillus</i> <i>cereus/UFC/</i> <b>g</b></b>	<b>Coliformes termotolerantes</b>	<b>Bolores e leveduras/ UFC/g</b>
Cookies	Ausência	0 UFC/g	0 UFC/g	<3 NPM/g	2,1x10 <sup>3</sup>
Barra	Ausência	0 UFC/g	0 UFC/g	-	3,3x10 <sup>2</sup>

UFC: unidades formadoras de colônia; NPM: número mais provável.

### 3.2.6 Teste de Dominância Temporal das Sensações (DTS)

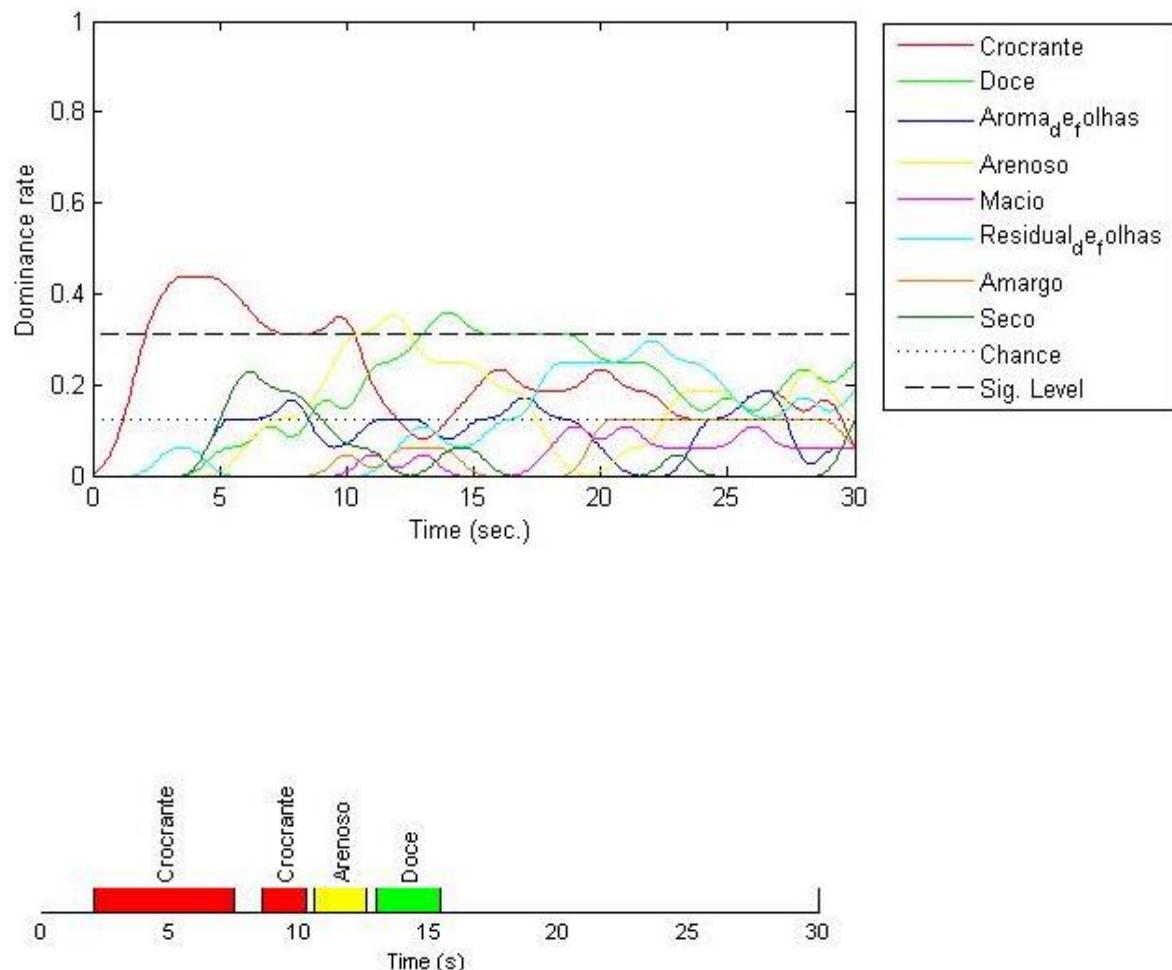
Após as análises de caracterização dos produtos formulados, procedeu-se a análise sensorial, a qual foi realizada através do software SensoMaker. DTS aborda a maneira como atributos sensoriais distintos de um alimento são percebidos durante o período de tempo em que ele está sendo consumido. Ou seja, é capaz de avaliar a intensidade e a sequência das sensações que emergem enquanto o alimento é mastigado. Os provadores, previamente treinados, deveriam selecionar um novo atributo dominante sempre que percebessem uma mudança na sensação mais marcante (Macedo et al., 2020). De acordo com a análise gráfica, a linha de chance é a taxa de dominância que um atributo pode ter ao acaso e a linha de significância é o valor mínimo para que a dominância de um atributo seja considerada significativa (Pineau et al., 2009).

As figuras 2 e 3, apresentam os dados obtidos. Os atributos escolhidos para cookie foram: crocante, doce, aroma de folhas, arenoso, macio, residual de folhas, amargo e seco. A sensação “crocante” é a que predomina já nos primeiros 5 segundos da mastigação e alcança uma taxa de dominância em torno de 0,4 entre 5 e 10 segundos. Isto sugere que é a primeira característica percebida pelo consumidor, típica para alimentos que envolvem textura mais sólida. Posteriormente as sensações “Doce” e “Arenoso” se mostram mais proeminentes, com taxa de dominância menor, mas contínua ao longo do tempo. Permanecendo estável ao redor de 15 segundos.

A partir de 10 segundos nota-se uma dominância moderada para a sensação “Macio”, a qual indica que o biscoito, após ser mastigado, apresenta textura mais suave. Nesse sentido, constata-se que o biscoito tipo cookie, elaborado com FO e A, apresentou predominância inicial da sensação "Crocante", demonstrando que as características estão de acordo com o que se espera desse tipo de produto. Macedo et. al (2020), em amostras de cookies também observaram

maior dominância para o atributo de crocância, entretanto com taxa de dominância de 0,66 e para o atributo doce 0,5.

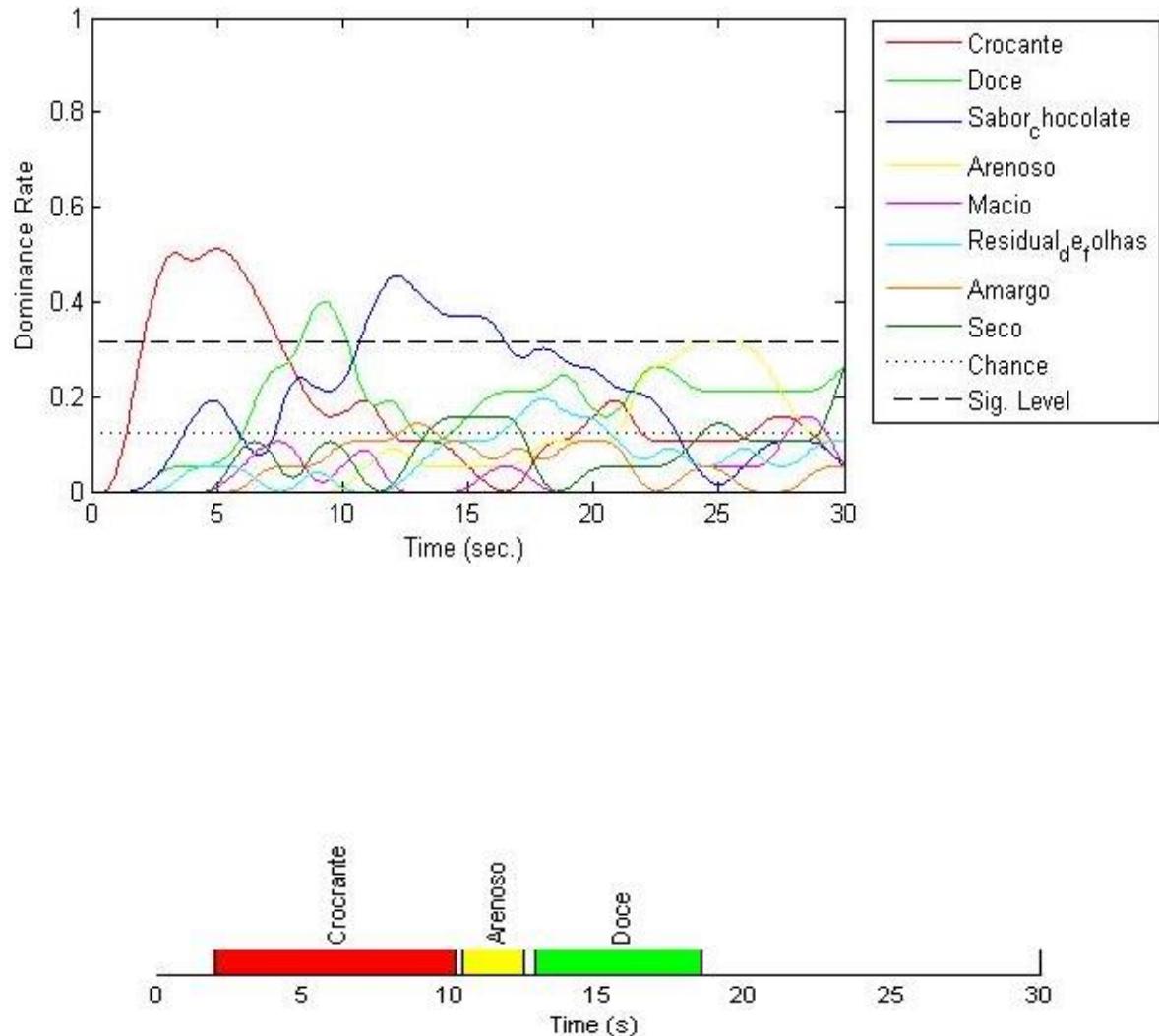
**Figura 2:** Dominância Temporal das Sensações das amostras de biscoito tipo cookies elaboradas com FO e A.



Fonte: Autores (2024)

No que diz respeito a análise das barras de cereal, os atributos escolhidos foram: crocante, doce, sabor chocolate, arenoso, macio, residual de folhas, amargo e seco. A taxa de dominância para o atributo “crocância” mostrou-se acima de 0,4 em um tempo prolongado de aproximadamente 10 segundos. Seguido das características “sabor chocolate” e “doce”, sendo que o atributo sabor chocolate apresentou dominância de 0,4. O atributo “residual de folhas” estava presente mas com valores baixos de dominância ao final da mastigação.

**Figura 3:** Dominância Temporal das Sensações das amostras de barra de cereal elaboradas com FO e A.



### 3.3 Ensaio experimental com *Drosophila melanogaster*

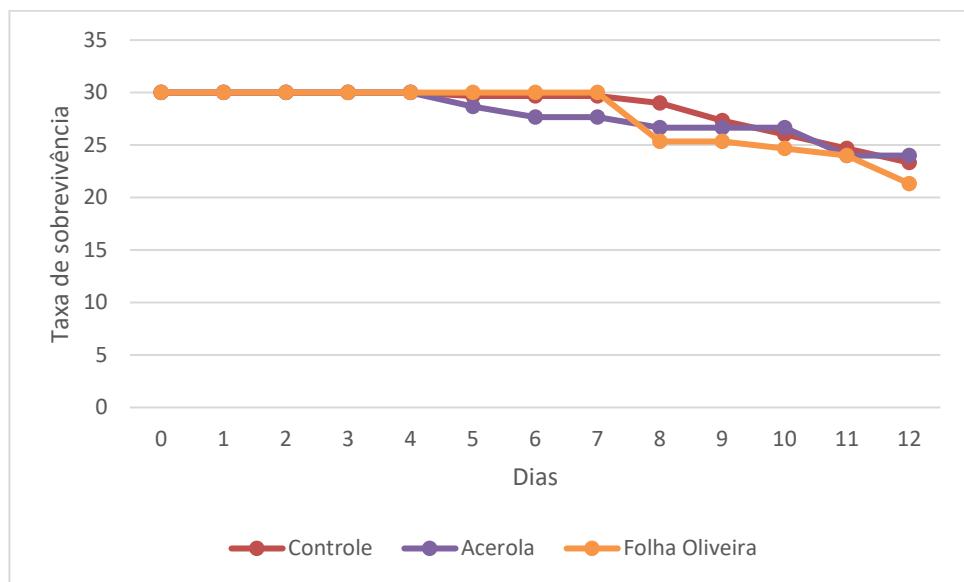
A seguir são descritas as pesquisas realizadas com a mosca da fruta a respeito do efeito do consumo de FO e A.

#### 3.3.1 Análise de sobrevivência durante o ciclo de vida

Amplamente utilizada a fim de compreender os aspectos relacionados a longevidade, resistência a fatores ambientais, efeitos de manipulações, etc. o ciclo de vida da DM apresenta quatro estágios: ovo, larva, pupa e adulto. Através do acompanhamento da taxa de sobrevivência ao longo do ciclo de vida, pode-se observar o impacto do tratamento sobre a

sobrevida nas diferentes fases. Nesse sentido a Figura 4, apresenta os resultados da taxa de sobrevida durante os 12 dias.

Figura 4: Taxa de sobrevida da *Drosophila melanogaster*



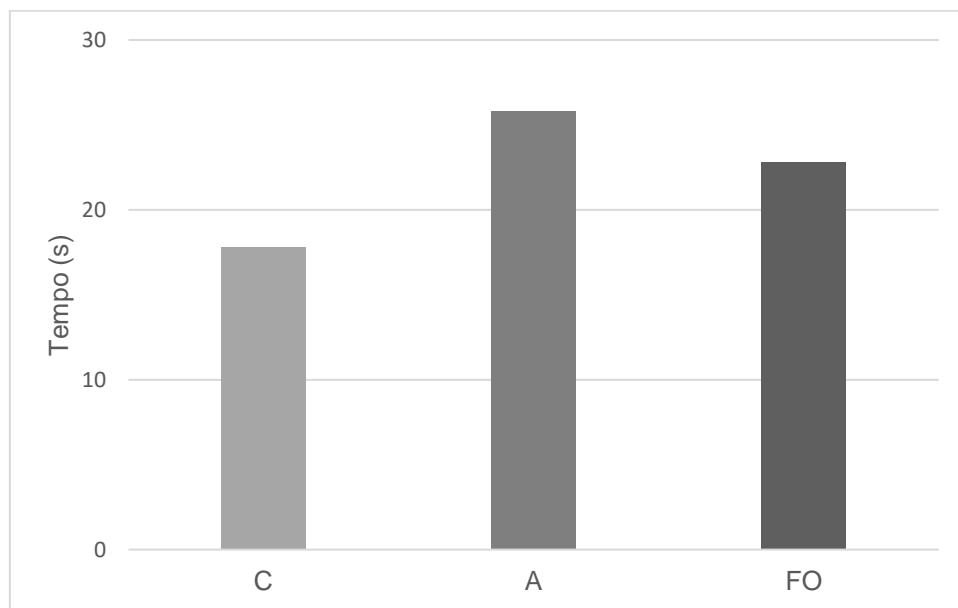
Percebe-se que ao longo dos primeiros dias, após os ovos serem cuidadosamente colocados em cada dieta teste, que as larvas se desenvolveram adequadamente nos primeiros 5 dias para todos as dietas. Tendo a FO apresentado maior declínio ao final do experimento fazendo com que algumas pupas não se desenvolvessem a moscas adultas. Comparado ao grupo controle não houve diferença significativa entre elas. Devido a isso pode-se considerar que as amostras de FO e A, garantiram bons nutrientes, garantindo que as moscas se desenvolvessem e após chegar a fase adulta, se mantivessem e pudessem reproduzir.

Bonilla et al., (2006), avaliou o efeito da exposição a Paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride; PQ) e observaram que antioxidantes como melatonina, glutatona, serotonina, ácido ascórbico são capazes de aumentar a sobrevida da DM. Jimenez-Del-Rio e seus colaboradores evidenciaram a atividade protetora dos fotoquímicos contra a toxicidade induzida por PQ, através da avaliação da função motora de DM. Pois esse composto causa significativo comprometimento na sobrevida das moscas. Os compostos fenólicos presentes em plantas, frutas, vegetais protegem as moscas expostas a esse composto melhorando sobrevida e atividade locomotora. Comprovando a ação neuro protetora que os compostos bioativos possuem.

### 3.3.2 Teste de geotaxia negativa

Por meio desse teste há possibilidade de se avaliar o comportamento de locomoção e função neuromuscular das moscas. Devido ao fato de que a geotaxia negativa explora a tendência natural que as moscas possuem de se moverem contra a gravidade. Diante disso a figura 5 apresenta os resultados do teste.

Figura 5: Geotaxia Negativa das moscas em dieta teste após 12 dias



C: controle, A: acerola, FO: folha de oliveira

Constata-se que, comparado a dieta controle, as moscas mantidas em dietas teste apresentaram maior lentidão para atingir 8cm. Tendo o grupo acerola alcançado um tempo médio de 25 segundos para isso, seguido do grupo FO (22,8 segundos). Apesar disso a análise não apresentou diferença significativa entre os grupos. Pioletti et al., (2024), investigaram os efeitos do ácido p-cumárico em restaurar a função neuromotora em modelo semelhante a doença de Parkinson. Observando que a exposição a esse composto fenólico melhorou o comprometimento neuromotor e a taxa de mortalidade.

### 3.4 Análises bioquímicas

Análise bioquímica é uma ferramenta primordial para investigar processos moleculares, metabólicos e celulares. Foram testadas a fim de observar como as diferentes dietas se comportam na saúde das moscas.

Tabela 9: Resultados das análises bioquímicas das análises da *Drosophila melanogaster*.

	<b>Controle</b>	<b>Acerola</b>	<b>Folha de Oliveira</b>
<b>Triglicerídeos</b>	255,63±203,72	269,46±34,20	162,6±30,08
<b>Glicose</b>	84,14± 9,75	78,44±17,30	58,65±17,15

Percebe-se níveis elevados de triglycerídeos para o grupo suplementado com acerola, o qual apresentou níveis levemente superior ao controle ( $269,46 \pm 34,20$ ), no entanto com menor variação. FO apresentou níveis mais baixos de triglycerídeos, indicando possível redução no acumulo lipídico. Quanto aos níveis de glicose o grupo FO apresentou níveis mais baixos, sugerindo efeito na regulação no metabolismo de carboidratos. O grupo acerola também apresentou níveis menos elevados quando comparado ao controle, isso pode ser devido ao fato de que a acerola é rica em vitamina C e outros compostos que também atuam como antioxidantes, reduzindo estresse oxidativo e modulando o metabolismo lipídico e glicídico.

Nesse mesmo sentido, a FO contém compostos bioativos, como oleuropeína com propriedades capazes de reduzir os níveis de triglycerídeos e reduzir os níveis de glicose, possivelmente por aumentar a sensibilidade à insulina ou modulando vias metabólicas relacionadas ao seu uso. Antunes et al. (2018), avaliaram o efeito de extrato de FO em parâmetros bioquímicos em ratos submetidos a dieta hiperlipídica e observaram que os extratos alteraram o perfil lipídico dos animais.

Huang et al. (2018), desenvolveram um método capaz de medir rapidamente os níveis de glicose e triglycerídeos de DM, através da indução por dietas ricas em açúcar ou gordura, usando espectroscopia NIR. Obtiveram valores de  $R_p$  para triglycerídeo na *Drosophila* maiores que 0,87 e para glicose  $R_P$ .

Sendo assim, tais análise demonstram o impacto das dietas acrescidas de FO e A nos parâmetros bioquímicos das moscas e a importância de seu consumo.

#### 4. Conclusão

O presente estudo avaliou os efeitos da aplicação de folha de oliveira e acerola em formulações de biscoito tipo cookie e barra de cereal, considerando características sensoriais. E também avaliou e parâmetros bioquímicos desses dois insumos em ensaio experimental com *Drosophila melanogaster*. Os resultados demonstraram que ambos os suplementos influenciam positivamente o metabolismo das moscas, mas com efeitos diferenciados. As dietas teste, enriquecidas com folha de oliveira apresentaram maior eficácia na redução dos níveis de triglicerídeos e glicose, evidenciando seu potencial na regulação lipídica e glicêmica.

Além disso, quanto as análises de composição centesimal dos produtos, observou-se resultados considerados adequados para os alimentos formulados. Quanto a caracterização sensorial dos alimentos, esta indicou boa aceitação dos produtos enriquecidos, sugerindo viabilidade para uso em aplicações práticas, como o desenvolvimento de alimentos funcionais. Assim, os resultados reforçam o potencial da folha de oliveira e da acerola como ingredientes funcionais, com propriedades promissoras para a saúde metabólica. Estudos futuros devem explorar mecanismos moleculares específicos, além de avaliar a aplicabilidade em modelos mais complexos e seres humanos.

#### Referências

Barros, D. de M., da Silva, A. P. F., de Moura, D. F., Barros, M. V. C., Pereira, A. B. de S., Melo, M. de A., da Silva, A. L. B., Rocha, T. A., Ferreira, S. A. de O., Siqueira, T. T. A., Carvalho, M. F., Freitas, T. da S., Leite, D. R. da S., Melo, N. S., Alves, T. M., Barbosa, T. da S. L., dos Santos, J. S. S., da Costa, M. P., Diniz, M. A., & da Fonte, R. de A. B. (2021). A influência da transição alimentar e nutricional sobre o aumento da prevalência de doenças crônicas não transmissíveis / The influence of food and nutritional transition on the increase in the prevalence of chronic non-communicable diseases. *Brazilian Journal of Development*, 7(7), 74647–74664. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n7-579>

Martins K.P.S., dos Santos V. G., Leandro da S. B. B. & Oliveira O. M. A. et al. Transição nutricional no Brasil de 2000 a 2016, com ênfase na desnutrição e obesidade. *Asklepion: Informação em Saúde*. 2021;1(2):113-132. doi:10.21728/asklepion.2021v1n2.p113-132.

Zanella, S., Riboldi, B. P., Schmaedek, P. da R., & Alves, M. K. (2018). Perfil nutricional e epidemiológico de pacientes atendidos em clínica de nutrição em Porto Alegre, Rio Grande do

Sul. RBONE - Revista Brasileira De Obesidade, Nutrição E Emagrecimento, 11(68), 677-684. Recuperado de <https://www.rbone.com.br/index.php/rbone/article/view/628>

Correia Junior C. A., Oliveira I. M., de Souza J. L. C., do Nascimento N. V. & de Melo F. S. N. Sustentabilidade na gastronomia contemporânea. *Research, Society and Development*. 2021;10(9):e39510917508. doi:10.33448/rsd-v10i9.17508.

Moura, H. C. de, Novello, C. R., Alfaro, A. da T., Barddal, H. P. de O., Alfaro, E. B., & Düsman, E. (2020). Características e aplicações dos Glicosaminoglicanos: uso de subprodutos da indústria de alimentos/ Characteristics and applications of glycosaminoglycans: use of by-products of the food industry. *Brazilian Applied Science Review*, 4(3), 1421–1436. <https://doi.org/10.34115/basrv4n3-053>

Romero-Márquez, J. M., Navarro-Hortal, M. D., Forbes-Hernández, T. Y., Varela-López, A., Puentes, J. G., Sánchez-González, C., Sumalla-Cano, S., Battino, M., García-Ruiz, R., Sánchez, S., & Quiles, J. L. (2024). Effect of olive leaf phytochemicals on the anti-acetylcholinesterase, anti-cyclooxygenase-2 and ferric reducing antioxidant capacity. *Food chemistry*, 444, 138516. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138516>

SEAPI. Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação. Câmara Setorial das Oliveiras apresenta números da safra 2023/2024. 2023. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br>. Acesso em: 11 nov. 2024.

Coppa, C. F. S. C., Rosim, R. E., Oliveira, C. A. F. de , Rodrigues, C. E. da C., & Gonçalves, C. B.. (2017). Extração de oleuropeína a partir de folhas de oliveira utilizando solvente hidroalcoólico. *Brazilian Journal of Food Technology*, 20, e2016169. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.16916>

Cavalheiro C. V., Rosso V. D., Eloi P., Cichoski A. J., Wagner R., de Menezes C. R. & Barin J. S. Composição química de folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) da região de Caçapava do Sul, RS. *Tecnologia de Alimentos, Ciência Rural*. 2014;44(10):1874-1879. doi:10.1590/0103-8478cr20131139.

Bortolini, V. M. de S., Santos, M. P. de los, Rockenbach, R., Shirmann, G. da S., Bragança, G. C. M., Mota, B. B., Verbes, M. P., & Peres, W. (2021). Efeito da infusão de folhas de oliveira (*olea europaea* l) em diferentes concentrações em um modelo experimental / Effect of infusion of olive leaves (*olea europaea* l) in different concentrations in an experimental model. *Brazilian Journal of Health Review*, 4(4), 16538–16545. <https://doi.org/10.34119/bjhrv4n4-169>

Martiny TR, et al. Filmes biodegradáveis preparados com carragenana e extrato de folhas de oliveira. *Revista da 15ª Jornada de Pós-graduação e Pesquisa, Congrega Urcamp*. 2018;15(15). ISSN 2526-4397

Pereira, W. L., Oliveira, T. T., Kanashiro, M., & Costa, M. R.. (2015). Ação antiproliferativa do flavonoide morina e do extrato da folha de oliveira (*Olea europaea* L.) contra a linhagem de célula H460. *Revista Brasileira De Plantas Medicinais*, 17(4), 798–806. [https://doi.org/10.1590/1983-084X/14\\_020](https://doi.org/10.1590/1983-084X/14_020)

de Góis, A. T. S., Fonseca, A. M., Nunes, J. S., de Oliveira, J. S., Silva, L. A. S., Souza, M. G. de S., Rodrigues, R. F. da S., & Souza, M. T. de S. (2023). Ação da vitamina D e vitamina C em pacientes com COVID 19. *Brazilian Journal of Health Review*, 6(4), 15695–15713. <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n4-136>

Olędzki, R., & Harasym, J. (2024). Acerola (*Malpighia emarginata*) Anti-Inflammatory Activity-A Review. *International journal of molecular sciences*, 25(4), 2089. <https://doi.org/10.3390/ijms25042089>

Jacobs V, Souza AC, Silva M, et al. Produção e caracterização de biofilmes de amido incorporados com polpa de acerola. *Rev Iberoam Polímeros*. 2020;21(3):107-119. ISSN 1988-4206

Monte Junior, F. A. C., Evangelista, T. Y. L., Aguiar, C. D., Cavalcante, E. S., Cunha, J. G. da ., Pereira, G. A., Souza, F. de F., & Silva Júnior, G. B. da .. (2024). Agronomic characterization of acerola tree genotypes in the Gurgueia Valley region, Piauí, Brazil. *Ciência Rural*, 54(9), e20230055. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20230055>

Magalhães MPD, Gandra, K. M. B., Cunha L. R.& Lima E. M. F. (2021). Obtenção da farinha do resíduo do processamento de acerola e avaliação de compostos bioativos e nutritivos. *Res Soc Dev*.10(14):e188101420714. doi:10.33448/rsd-v10i14.20714.

Bland M. L. (2023). Regulating metabolism to shape immune function: Lessons from *Drosophila*. *Seminars in cell & developmental biology*, 138, 128–141. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2022.04.002>

Bajgiran, M., Azlan, A., Shamsuddin, S., Azzam, G., & Halim, M. A. (2021). Data on RNA-seq analysis of *Drosophila melanogaster* during ageing. *Data in brief*, 38, 107413. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2021.107413>

Qush, A., Al Khatib, H. A., Rachid, H., Al-Tamimi, H., Al-Eshaq, A., Al-Adwi, S., Yassine, H. M., & Kamareddine, L. (2023). Intake of caffeine containing sugar diet remodels gut microbiota and perturbs *Drosophila melanogaster* immunity and lifespan. *Microbes and infection*, 25(7), 105149. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2023.105149>

May, C. E., Vaziri, A., Lin, Y. Q., Grushko, O., Khabiri, M., Wang, Q. P., Holme, K. J., Pletcher, S. D., Freddolino, P. L., Neely, G. G., & Dus, M. (2019). High Dietary Sugar Reshapes Sweet Taste to Promote Feeding Behavior in *Drosophila melanogaster*. *Cell reports*, 27(6), 1675–1685.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.04.027>

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol*. 1995;28(1):25-30.

Rufino MS, Alves RE, Brito ES, et al. (2007). Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical DPPH. *Embrapa Agroindústria Tropical – Comunicado Técnico*.

Swain T. & Hillis WE. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agric.* 1959;10(1):63-68.

Souza RSD, Novais TS, Batista FO, & Zúñiga ADG. Análise sensorial de cookies desenvolvidos com farinha da casca de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merril). *Res Soc Dev.* 2020;9(4).

Radunz M, Nickel J., Gularde M. A & Helbig E. (2016) Desenvolvimento, composição centesimal e análise sensorial de barras à base de grãos de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) submetidos a diferentes tratamentos térmicos. *Rev Bras Ciência Alim.*;11(4).

Instituto Adolfo Lutz. *Procedimentos e determinações gerais*. In: Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4<sup>a</sup> ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.

Konica Minolta. Entendendo O Espaço De Cor Lab\*. 2020. Available From: <Https://Sensing.Konicaminolta.Us/Br/Blog/Entendendo-O-Espaco-De-Cor-Lab/>.

AOAC – Association of Official Analytical Chemistry. *Official methods of analysis*. 19th ed. Gaithersburg: AOAC; 2012. 3000 p.

Silva CA. (2020) *Métodos de análise físico-química de alimentos*. 2nd ed. São Paulo: Editora Blucher; 2020.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 711, de 1º de julho de 2022. Dispõe sobre os requisitos sanitários dos amidos, biscoitos, cereais integrais, cereais processados, farelos, farinhas, farinhas integrais, massas alimentícias e pães. *Diário Oficial da União*. Brasília; 1 jul. 2022.

Pineau N., Schlich P., Cordelle S., Mathonnière C., Issanchou S., Bert A. Im., Rogeaux M., Etévant P & Köster. (2009). Temporal dominance of sensations: construction of the TDS curves and comparison with time-intensity. *Food Qual Prefer.* 2009;20(6):450-455. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2009.03.006>.

Pinheiro, A. C. M., Nunes, C. A., & Vietoris, V.. (2013). SensoMaker: a tool for sensorial characterization of food products. *Ciência E Agrotecnologia*, 37(3), 199–201. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542013000300001>

Nunes CA, Pinheiro ACM. (2012). SensoMaker, version 1.0. UFLA, Lavras.

Meichtry, L. B., Poetini, M. R., Dahleh, M. M. M., Araujo, S. M., Musachio, E. A. S., Bortolotto, V. C., de Freitas Couto, S., Somacal, S., Emanuelli, T., Gayer, M. C., Roehrs, R.,

Guerra, G. P., & Prigol, M. (2020). Addition of Saturated and Trans-fatty Acids to the Diet Induces Depressive and Anxiety-like Behaviors in Drosophila melanogaster. *Neuroscience*, 443, 164–175. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.07.042>

Jimenez-Del-Rio, M., Guzman-Martinez, C., & Velez-Pardo, C. (2010). The effects of polyphenols on survival and locomotor activity in Drosophila melanogaster exposed to iron and paraquat. *Neurochemical research*, 35(2), 227–238. <https://doi.org/10.1007/s11064-009-0046-1>

Musachio, E. A. S., Araujo, S. M., Bortolotto, V. C., de Freitas Couto, S., Dahleh, M. M. M., Poetini, M. R., Jardim, E. F., Meichtry, L. B., Ramborger, B. P., Roehrs, R., Petri Guerra, G., & Prigol, M. (2020). Bisphenol A exposure is involved in the development of Parkinson like disease in Drosophila melanogaster. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 137, 111128. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111128>

Ávila, B. M., Zanini, B. M., Luduvico, K. P., Oliveira, T. L., Hense, J. D., Garcia, D. N., Prosczek, J., Stefanello, F. M., da Cruz, P. H., Giongo, J. L., Vaucher, R. A., Mason, J. B., Masternak, M. M., & Schneider, A. (2024). Effect of senolytic drugs in young female mice chemically induced to estropause. *Life sciences*, 357, 123073. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2024.123073>

Oliveira, G. L. S. (2015). Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. *Revista Brasileira De Plantas Medicinais*, 17(1), 36–44. [https://doi.org/10.1590/1983-084X/12\\_165](https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_165)

Ferreira IC, et al. Brazilian varieties of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) produced under tropical semi-arid conditions: bioactive phenolic compounds, sugars, organic acids, and antioxidant capacity. *J Food Biochem.* 2021;45(8):e13829. doi:10.1111/jfbc.13829.

Viana E.S., Fonseca M. D., Reis R. C., de Andrade M. V. S. & Ritzinger R. (2021). Physicochemical and bioactive compound evaluation of acerola genotypes. *Rev Virtual Quím.* 2021;13(4):993-998. doi:10.21577/1984-6835.20210024.

Difonzo G, Russo A., Trani A., Paradiso V.M., Ranieri M., Pasqualone A., Summo C., Tamma G., Silletti R & Trani A. (2017). Green extracts from Coratina olive cultivar leaves: Antioxidant characterization and biological activity. *J Funct Foods.* 2017;31:63-70. Accessed August 23, 2024. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.03.011>

De Oliveira MG, Batista MO, Ramos DVB. Avaliação da atividade antioxidante da *Bauhinia splendens* pelo método DPPH. *Braz J Dev.* 2021;7(12):112714-112725. doi:10.34117/bjdv7n12-178. Accessed August 23, 2024.

Xu M, et al. Metabolomic analysis of acerola cherry (*Malpighia emarginata*) fruit during ripening development via UPLC-Q-TOF and contribution to the antioxidant activity. *Food Res Int.* 2020;130:108915.

Bertolo MRV, et al. (2023). Acerola (*Malpighia emarginata*) and açaí (*Euterpe oleracea*) extracts as active compounds of starch/gelatin-based solutions: Rheological characterization. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.*; 676(B):132288. Acesso em: 24 ago 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2023.132288>.

Cozzolino SMF. & Cominetti C. Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença. 1st ed. São Paulo: Manole; 2013. Chapter 2.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 711, de 1º de julho de 2022. Dispõe sobre os requisitos sanitários dos amidos, biscoitos, cereais integrais, cereais processados, farelos, farinhas, farinhas integrais, massas alimentícias e pães. Diário Oficial da União. Brasília; 1 jul 2022.

Dias, J. de S. R., Mendes, F. Z. C., Nolasco, M. V. F. M., & Bogo, D. (2020). Obtenção de farinha de inhame para elaboração de barra de cereal como suplemento alimentar e funcional / Obtaining yam flourfor the preparation of cereal bar as a food and functional supplement. *Brazilian Journal of Development*, 6(3), 15716–15735. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n3-446>

Faccioli, L. S., et al. (2021). Development of crackers with the addition of olive leaf flour (*Olea europaea* L.): Chemical and sensory characterization. *LWT.*; 141: 110848.

World Health Organization (WHO). Healthy diet. April 29, 2020. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>. Accessed September 14, 2024.

Difonzo, G., Pasqualone, A., Silletti, R., Cosmai, L., Summo, C., Paradiso, V. M., & Caponio, F. (2018). Use of olive leaf extract to reduce lipid oxidation of baked snacks. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 108, 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.034>

Aquino ACMS, et al. (2010). Avaliação físico-química e aceitação sensorial de biscoitos tipo cookies elaborados com farinha de resíduos de acerola. *Rev Inst Adolfo Lutz.*;69(3):379-386.

Karunanithi S, et al. (2024). Valorization of betel leaves byproducts: A novel ingredient for sustainable cookie development. *Food Chem Adv.* 2024;5:100799.

Paciulli M, et al. (2023). Microencapsulated olive leaf extract enhances physicochemical stability of biscuits. *Future Foods.*;7:100209.

Dada AP, Cestário AC de O, Pintro PTM, Rosa CILF. (2024). Extrato de folha de oliveira em revestimento comestível aplicado à tomates cereja. *Observat Lat Am Econ.*;22(6):e5493. doi:10.55905/oelv22n6-241.

Mancebo CM, Picón J, Gómez M. (2015). Effect of flour properties on the quality characteristics of gluten free sugar-snap cookies. *LWT Food Sci Technol.*;64:264-269. doi:10.5555/20153282770.

Gusmão RP, et al. (2018). Caracterização tecnológica de cookies produzidos com diferentes concentrações de farinha de algaroba durante armazenamento por 120 dias. *Braz J Food Technol.*;21:e2017116. Available from: <https://www.scielo.br/j/bjft/a/T3jNTD67TSP4kXXYb9BxqBJ/?lang=pt>.

Jan K, et al. (2018). Optimization of antioxidant activity, textural and sensory characteristics of gluten-free cookies made from whole Indian quinoa flour. *Food Chem.*;93(8):573-582.

Sarques JD, da Silva LGM, Garcia JAD, Boas BMV, & Nachtigall AM. (2024). Physical-chemical characteristics of gluten-free cookies, chocolate flavor, made with cocoa bran, rice flour and corn starch. *Obs Econ Latinoam.*;22(2):e3193. doi:10.55905/oelv22n2-078.

Bessa AJB, et al. (2023) Qualidade microbiológica de hambúrgueres comercializados no município do Rio de Janeiro. *Rev Higiene Aliment.*;37(297):e1128. doi:10.37585/HA2023.02hamburgueres.

Pereira WL, Oliveira TT, Kanashiro M, Costa M. (2015) Ação antiproliferativa do flavonoide morina e do extrato da folha de oliveira (*Olea europaea* L.) contra a linhagem de célula H460. *Rev Bras Plantas Med.*;17(4, supl. I):798-806. Available from: [scielo.br/j/rbpm/a/HkxWWJmmrBcFQm4GpR3JFSL/?format=pdf&lang=pt](https://www.scielo.br/j/rbpm/a/HkxWWJmmrBcFQm4GpR3JFSL/?format=pdf&lang=pt).

Macedo LD, Ávila BP, Saraiva JFR, et al. (2020). Chemical and sensory characterization of cookies formulated with creole grains and pine nut (*Araucaria angustifolia*) starch. *Res Soc Dev.*;9(12):e3491210677. doi:10.33448/rsd-v9i12.10677. Available from: <https://rsdjurnal.org/index.php/rsd/article/view/10677>.

Bonilla E, et al. (2006) Paraquat-induced oxidative stress in *Drosophila melanogaster*: effects of melatonin, glutathione, serotonin, minocycline, lipoic acid, and ascorbic acid. *Neurochem Res.*;31:1425-1432.

Poleto KH, et al. (2024) p-Coumaric acid potential in restoring neuromotor function and oxidative balance through the Parkin pathway in a Parkinson disease-like model in *Drosophila melanogaster*. *Food Chem Toxicol.*;193:115002. doi:10.1016/j.fct.2024.115002.

Antunes B Da F, De Leon Cac, Lorini A, Nogueira Cc, Helbig E, Zambiazi Rc. Efeito Biológico Do Extrato De Folhas De Oliveira (*Olea Europaea* L.) Em Ratos Submetidos À Dieta Hiperlipídica. Demetra: Alimentação, Nutrição & Saúde. 2018;13(4):1041–1055. Doi: [Https://Doi.Org/10.12957/Demetra.2018.37273](https://doi.org/10.12957/Demetra.2018.37273).

Huang Z, Liu Y, Qi G, Brand D, Zheng SG. Role of Vitamin A in the immune system. *J Clin Med.* 2018;7(9):258.

## **Considerações finais**

As análises realizadas demonstraram que a folha de oliveira possui excelente potencial de aplicação em alimentos. As análises realizadas com sua adição associada a acerola em cookies e barras de cereal mostrou grande potencial na promoção da saúde, oferecendo benefícios antioxidantes e anti-inflamatórios. A análise dos efeitos em *Drosophila melanogaster* sugere que esses ingredientes podem ser eficazes na modulação de parâmetros bioquímicos associados à saúde e longevidade. A combinação desses ingredientes em produtos alimentícios pode contribuir para o desenvolvimento de alimentos funcionais com propriedades benéficas, atendendo à crescente demanda por produtos alimentícios que ofereçam benefícios além da nutrição básica.

## Referências Bibliográficas

- ACAR-TEK, N.; AĞAGÜNDÜZ, D. Olive leaf (*Olea europaea L. Folium*): Potential effects on glycemia and lipidemia. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 76, p. 63-68, 2020.
- ADEDARA, A. O. et al. Antioxidant responses driven by Hesperetin and Hesperidin counteract Parkinson's disease-like phenotypes in *Drosophila melanogaster*. **Neurotoxicology**, v. 101, p. 117–127, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2024.02.006>. Acesso em: 26 jan. 2023.
- ADEDAYO, B. C. et al. In the quest for the ideal sweetener: Aspartame exacerbates selected biomarkers in the fruit fly (*Drosophila melanogaster*) model of Alzheimer's disease more than sucrose. **Aging Brain**, v. 4, p. 100090, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nbas.2023.100090>. Acesso em: 01 ago. 2023.
- AGUIAR, C. A. *Hereditariedade e Evolução: Guia de Trabalhos Práticos*. Departamento de Biologia, 2015. Relatório de investigação. Disponível em: <https://hdl.handle.net/1822/53653>. Acesso em: 30 jan. 2023.
- AMORETTY, P. R. de et al. Uso de *Drosophila melanogaster* como modelo para o estudo do relógio circadiano em insetos vetores. **Acta Scientia&Technicae**, v. 1, n. 1, p. 88-97, fev. 2013. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/11559>. Acesso em: 30 jan. 2023.
- ANTUNES, B. da F. et al. Efeito biológico do extrato de folhas de oliveira (*Olea europaea L.*) em ratos submetidos à dieta hiperlipídica. **Demetra: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 13, n. 4, p. 1041–1055, 2018. DOI: <https://doi.org/10.12957/demetra.2018.37273>.
- AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. Official methods of analysis. 19. ed. Gaithersburg: AOAC, 2012. 3000 p.
- AQUINO, A. C. M. S. et al. Avaliação físico-química e aceitação sensorial de biscoitos tipo cookies elaborados com farinha de resíduos de acerola. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, [S.I.], v. 69, n. 3, p. 379-386, 2010.

ÁVILA, Bianca M. et al. Effect of senolytic drugs in young female mice chemically induced to estropause. *Life Sciences*, v. 357, p. 123073, 15 nov. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2024.123073>. Acesso em: 02 dez. 2024.

AVRAAMIDES, M.; FATTA, D. Resource consumption and emissions from olive oil production: a life cycle inventory case study in Cyprus. *Journal of Cleaner Production*, v. 16, p. 809–821, 2008. doi: 10.1016/j.jclepro.2007.04.002.

BAILLY, T. P. M. et al. Social modulation of oogenesis and egg laying in *Drosophila melanogaster*. *Current Biology: CB*, v. 33, n. 14, p. 2865–2877.e4, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.05.074>. Acesso em: 30 jan. 2024.

BAJGIRAN, M.; AZLAN, A.; SHAMSUDDIN, S.; AZZAM, G.; HALIM, M. A. Data on RNA-seq analysis of *Drosophila melanogaster* during ageing. *Data in Brief*, v. 38, 107413, 2021. DOI: 10.1016/j.dib.2021.107413.

BARROS, D. M.; SILVA, A. P. F.; MOURA, D. F.; et al. The influence of food and nutritional transition on the increase in the prevalence of chronic non-communicable diseases. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 7, p. 74647-74664, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n7-579.

BELISÁRIO, Celso Martins; et al. Carotenoides, açúcares, ácido ascórbico, fenólicos totais e atividade antioxidante do murici do Cerrado brasileiro durante armazenamento refrigerado. *Ciência Rural*, v. 50, n. 4, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180620>. Disponível em: SciELO - Brasil - Carotenoides, açúcares, ascorbato, fenólicos totais e atividade antioxidante do murici do Cerrado brasileiro durante armazenamento refrigerado. Acesso em: 25 mai. 2024.

BERTOLO, M. R. V. et al. Acerola (*Malpighia emarginata*) and açaí (*Euterpe oleracea*) extracts as active compounds of starch/gelatin-based solutions: Rheological characterization. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, [S.I.], v. 676, p. 132288, 2023. Acesso em: 24 ago. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2023.132288>.

BESSA, A. J. B. et al. Qualidade microbiológica de hambúrgueres comercializados no município do Rio de Janeiro. *Revista de Higiene Alimentar*, [S.I.], v. 37, n. 297, e1128, 2023. doi: 10.37585/HA2023.02hamburgueres.

BLAND, M. L. Regulating metabolism to shape immune function: Lessons from *Drosophila*. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, v. 138, p. 128-141, 2023. DOI: 10.1016/j.semcdb.2022.04.002.

BONILLA, E. et al. Paraquat-induced oxidative stress in *Drosophila melanogaster*: effects of melatonin, glutathione, serotonin, minocycline, lipoic acid, and ascorbic acid. *Neurochemical Research*, [S.I.], v. 31, p. 1425-1432, 2006.

BORTOLINI, V. M. de S.; SANTOS, M. P. de los; ROCKENBACH, R.; et al. Efeito da infusão de folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) em diferentes concentrações em um modelo experimental. *Braz. J. Health Rev.*, v. 4, n. 4, p. 16538-45, 2021. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/33991>.

BOUDHARIOUA, N. et al. Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 29, n. 2-3, p. 412-419, 2009.

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

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 711, de 1º de julho de 2022. Dispõe sobre os requisitos sanitários dos amidos, biscoitos, cereais integrais, cereais processados, farelos, farinhas, farinhas integrais, massas alimentícias e pães. *Diário Oficial da União*. Brasília, 1 jul. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC Anvisa nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 23 set. 2005. Seção 1.

CATALANI, E. et al. Neuroprotective role of plumbagin on eye damage induced by high-sucrose diet in adult fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 166, p. 115298, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115298>. Acesso em: 30 out. 2023.

CAVALHEIRO, C. V.; MARTINS, C. S.; LIMA, T. F.; et al. Composição química de folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) da região de Caçapava do Sul, RS. *Tecnologia de Alimentos, Ciência Rural*, v. 44, n. 10, p. 1874-1879, 2014. DOI: 10.1590/0103-8478cr20131139.

COPPA, C. F. S. C.; SOUZA, S. A.; ANDRADE, A.; et al. Extração de oleuropeína a partir de folhas de oliveira utilizando solvente hidroalcóolico. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 20, 2017. DOI: 10.1590/1981-6723.16916.

CORREIA JUNIOR, C. A.; COSTA, L. R.; SANTOS, J. R.; et al. Sustentabilidade na gastronomia contemporânea. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 9, p. e39510917508, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i9.17508.

COZZOLINO, S. M. F.; COMINETTI, C. *Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença*. 1. ed. São Paulo: Manole, 2013. Capítulo 2.

DADA, A. P.; CESTÁRIO, A. C. de O.; PINTO, P. T. M.; ROSA, C. I. L. F. Extrato de folha de oliveira em revestimento comestível aplicado a tomates cereja. *Observatório de Economia Latino-Americana*, [S.I.], v. 22, n. 6, e5493, 2024. doi: 10.55905/oelv22n6-241.

DE GÓIS, A. T. S.; FONSECA, A. M.; NUNES, J. S.; et al. Ação da vitamina D e vitamina C em pacientes com COVID-19. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 6, n. 4, p. 15695-15713, 2023. DOI: 10.34119/bjhrv6n4-136.

DE OLIVEIRA, M. G.; BATISTA, M. O.; RAMOS, D. V. B. Avaliação da atividade antioxidante da *Bauhinia splendens* pelo método DPPH. *Brazilian Journal of Development*, [S.I.], v. 7, n. 12, p. 112714-112725, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n12-178. Acesso em: 23 ago. 2024.

DIAS, J. de S. R. et al. Obtenção de farinha de inhame para elaboração de barra de cereal como suplemento alimentar e funcional. *Brazilian Journal of Development*, [S.I.], v. 6, n. 3, p. 15716-15735, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n3-446. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/8196>. Acesso em: 26 ago. 2024.

DIFONZO, G. et al. Green extracts from Coratina olive cultivar leaves: Antioxidant characterization and biological activity. *Journal of Functional Foods*, [S.I.], v. 31, p. 63-70, 2017. Acesso em: 23 ago. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.03.011>.

DIFONZO, G. et al. Use of olive leaf extract to reduce lipid oxidation of baked snacks. *Food Research International*, [S.I.], v. 108, p. 48-56, 2018. doi: 10.1016/j.foodres.2018.03.034. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.034>. Acesso em: 14 set. 2024.

DU, X. et al. Naringin ameliorates H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage in cells and prolongs the lifespan of female *Drosophila melanogaster* via the insulin signaling pathway. *Food Science and Human Wellness*, v. 13, n. 3, p. 1231-1245, maio 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2024.03.001>. Acesso em: 20 mai. 2024.

ESPESO, J. et al. Olive leaf waste management. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, p. 660582, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.660582>.

FACCIOLI, L. S. et al. Development of crackers with the addition of olive leaf flour (*Olea europaea* L.): Chemical and sensory characterization. *LWT - Food Science and Technology*, [S.I.], v. 141, p. 110848, 2021.

FERREIRA, I. C. et al. Brazilian varieties of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) produced under tropical semi-arid conditions: bioactive phenolic compounds, sugars, organic acids, and antioxidant capacity. *Journal of Food Biochemistry*, [S.I.], v. 45, n. 8, e13829, 2021. DOI: 10.1111/jfbc.13829.

GOMES, P. *Título: Olivicultura no Brasil*. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1979.

GUSMÃO, R. P. et al. Caracterização tecnológica de cookies produzidos com diferentes concentrações de farinha de algaroba durante armazenamento por 120 dias. *Brazilian Journal of Food Technology*, [S.I.], v. 21, e2017116, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjft/a/T3jNTD67TSP4kXXYb9BxqBJ/?lang=pt>. Acesso em: 10 out. 2024.

HADDADI, M.; HAGHI, M.; REZAEI, N.; KIANI, Z.; AKKÜLAH, T.; CELIK, A. APOE and Alzheimer's disease: Pathologic clues from transgenic *Drosophila melanogaster*. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, v. 123, p. 105420, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archger.2024.105420>. Acesso em: 26 jan. 2023.

HIRTH, F. *Drosophila melanogaster* in the study of human neurodegeneration. *CNS Neurology Disorders Drug Targets*, v. 9, n. 4, p. 504-523, ago. 2010. doi: 10.2174/187152710791556104. PMID: 20522007; PMCID: PMC2992341.

HUANG, Z. et al. Role of Vitamin A in the immune system. *Journal of Clinical Medicine*, [S.I.], v. 7, n. 9, p. 258, 2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Procedimentos e determinações gerais. In: *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.  
JACOBS, V.; SOUZA, A. C.; SILVA, M.; et al. Produção e caracterização de biofilmes de amido incorporados com polpa de acerola. *Revista Ibero-Americana de Polímeros*, v. 21, n. 3, p. 107-119, 2020. ISSN 1988-4206.

JAIN, A.; BEHERA, B.; PARAMASIVAN, B. Evaluation of physicochemical procedures for pigment extraction from mixed microalgal consortium. *Bioresour Technol Rep.*, v. 15, p. 100775, 2021.

JAN, K. et al. Optimization of antioxidant activity, textural and sensory characteristics of gluten-free cookies made from whole Indian quinoa flour. *Food Chemistry*, [S.I.], v. 93, n. 8, p. 573-582, 2018.

JIMENEZ-DEL-RIO, M.; GUZMAN-MARTINEZ, C.; VELEZ-PARDO, C. The effects of polyphenols on survival and locomotor activity in *Drosophila melanogaster* exposed to iron and paraquat. *Neurochemical Research*, [S.I.], v. 35, p. 227-238, 2010.

KARUNANITHI, S. et al. Valorization of betel leaves byproducts: A novel ingredient for sustainable cookie development. *Food Chemistry Advances*, [S.I.], v. 5, p. 100799, 2024.

KAYODE, O. T. et al. Antioxidant and antilipidemic action of ketogenic diet and tomato powder mix in high sugar and fat fed Harwich fruit flies. *Helijon*, v. 9, n. 10, e20411, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e20411>. Acesso em: 30 out. 2023.

KHELOUF, I. et al. Comparative chemical composition and antioxidant activity of olive leaves *Olea europaea* L. of Tunisian and Algerian varieties. *Helijon*, v. 9, n. 12, p. e22217, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22217>.

KHEMAKHEM, I. et al. Structural, antioxidant and antibacterial activities of polysaccharides extracted from olive leaves. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 106, p. 425-432, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.037>.

KONICA MINOLTA. Entendendo o espaço de cor Lab\*. 2020. Disponível em: <https://sensing.konicaminolta.us/br/blog/entendendo-o-espaco-de-cor-lab/>. Acesso em: 15 dez. 2024.

KUMAR, P. P. et al. Dietary supplementation with thymoquinone inhibits rotenone induced developmental toxicity in *Drosophila melanogaster*: Focus on ovary and larval development. *Food Bioscience*, v. 62, p. 105233, dez. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105233>. Acesso em: 02 dez. 2024.

LEE, S.-H.; MIN, K.-J. *Drosophila melanogaster* as a model system in the study of pharmacological interventions in aging. *Translational Medicine of Aging*, v. 3, p. 98-103, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tma.2019.04.002>. Acesso em: 30 jan. 2023.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987.

LINFORD, N. J.; BILGIR, C.; RO, J.; PLETCHER, S. D. Measurement of lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, n. 71, p. 50068, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3791/50068>. Acesso em: 20 mar. 2023.

LINS, P. G. et al. In vitro antioxidant activity of olive leaf extract (*Olea europaea* L.) and its protective effect on oxidative damage in human erythrocytes. **Journal of Medicinal Food**, v. 4, n. 9, p. e00805, 2018.

LOOTS, D. T.; VAN DER WESTHUIZEN, F. H.; BOTES, L. Aloe ferox leaf gel: Phytochemical content, antioxidant capacity, and possible health benefits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 6891-6896, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf071110t>.

LOPES, T. P. et al. Pharmacological activities of allylbenzene and allylanisole phenylpropanoids: Inhibition of antibiotic resistance targets and toxicity profile in a *Drosophila melanogaster* model. *Journal of King Saud University - Science*, v. 34, n. 4, p. 101995, jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101995>. Acesso em: 30 jan. 2023.

MACEDO, L. D. et al. Chemical and sensory characterization of cookies formulated with creole grains and pine nut (*Araucaria angustifolia*) starch. *Research, Society and Development*, [S.I.], v. 9, n. 12, e3491210677, 2020. doi: 10.33448/rsd-v9i12.10677. Disponível em: <https://rsdjurnal.org/index.php/rsd/article/view/10677>. Acesso em: 14 set. 2024.

MAGALHÃES, M. P. D.; SILVA, M. A.; SANTOS, J. C. B.; et al. Obtenção da farinha do resíduo do processamento de acerola e avaliação de compostos bioativos e nutritivos. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 14, e188101420714, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i14.20714.

MANCEBO, C. M.; PICÓN, J.; GÓMEZ, M. Effect of flour properties on the quality characteristics of gluten free sugar-snap cookies. *LWT - Food Science and Technology*, [S.I.], v. 64, p. 264-269, 2015. doi: 10.5555/20153282770.

MANZANARES, P. et al. Residual biomass potential in olive tree cultivation and olive oil industry in Spain: valorization proposal in a biorefinery context. *Spanish Journal of Agricultural Research*, v. 15, p. 1–12, 2017. DOI: 10.5424/sjar/2017153-10868.

- MANZOOR, S. et al. Green extraction of bioactives from apple pomace and olive leaves: Characterisation and their effect on the heat-induced trans fatty acid formation in edible oils during frying process. **Food Chemistry Advances**, v. 6, p. 100858, 2025.
- MARKHALI, F. S.; TEIXEIRA, J. A. Comparative study of different particle sizes of added olive leaves for the content of target polyphenols in virgin olive oil. **Sustainable Food Technology**, v. 1, n. 6, p. 896-905, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1039/d3fb00108c>.
- MARTÍN-GARCÍA, B. et al. Box-Behnken experimental design for a green extraction method of phenolic compounds from olive leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 154, p. 112741, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112741>.
- MARTINS, K. P. S.; SILVA, A. P. F.; MOURA, D. F.; et al. Transição nutricional no Brasil de 2000 a 2016, com ênfase na desnutrição e obesidade. *Asklepion: Informação em Saúde*, v. 1, n. 2, p. 113-132, 2021. DOI: 10.21728/asklepcion.2021v1n2.p113-132.
- MARTINY, T. R.; COSTA, C.; OLIVEIRA, F.; et al. Filmes biodegradáveis preparados com carragenana e extrato de folhas de oliveira. *Revista da 15ª Jornada de Pós-graduação e Pesquisa, Congrega Urcamp*, v. 15, p. 15, 2018. ISSN 2526-4397.
- MAY, C. E. et al. High dietary sugar reshapes sweet taste to promote feeding. *Cell Reports*, [S.I.], v. 27, p. 1675-1685, 2019. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.04.027.
- MEENA, Abhishek et al. Life stage-specific effects of heat stress on spermatogenesis and oogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Thermal Biology*, v. 125, p. 104001, out. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2024.104001>. Acesso em: 30 out. 2024.
- MEICHTRY, L. B. et al. Addition of saturated and trans-fatty acids to the diet induces depressive and anxiety-like behaviors in *Drosophila melanogaster*. *Neuroscience*, [S.I.], v. 443, p. 164-175, 2020. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2020.07.042.
- MISKINIS, R. A. S., et al. Bioactive compounds from acerola pomace: A review. *Food Chemistry*, v. 404, p. 134613, 15 mar. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134613>.
- MONTE JUNIOR, F. A. C. Agronomic characterization of acerola tree genotypes in the Gurgueia Valley region, Piauí, Brazil. *Ciência Rural*, v. 54, n. 9, e20230055, 2024. DOI: 10.1590/0103-8478cr20230055.
- MOURA, H. C.; COSTA, M. S.; SANTOS, A. V.; et al. Características e aplicações dos glicosaminoglicanos: uso de subprodutos da indústria de alimentos. *Brazilian Applied Science Review*, v. 4, n. 3, p. 1421-1436, 2020. DOI: 10.34115/basrv4n3-053.
- MUSACHIO, E. A. S. et al. Bisphenol A exposure is involved in the development of Parkinson-like disease in *Drosophila melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*, [S.I.], v. 137, p. 111128, 2020.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Compound Summary for CID 46783370, b-Carotene. 2024. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/b-Carotene>.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Compound Summary for CID 446925, Lycopene. 2024. Recuperado em: 14 dez. 2024, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lycopene>.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Compound Summary for CID 5281243, Lutein. 2024. Recuperado em: 14 dez. 2024, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lutein>.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Compound Summary for CID 5280899, Zeaxanthin. 2024. Recuperado em: 14 dez. 2024, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Zeaxanthin>.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Compound Summary for CID 5281224, Astaxanthin. 2024. Recuperado em: 14 dez. 2024, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Astaxanthin>.

NICHELLE, G. P.; MELLO, F. R. *Bromatologia*. São Paulo: Sagah Educação, 2018.

NUNES, C. A.; PINHEIRO, A. C. M. *SensoMaker*, versão 1.0. UFLA, Lavras, 2012.

OLEĐZKI, R.; HARASYM, J. Acerola (*Malpighia emarginata*) anti-inflammatory activity—A review. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 4, p. 2089, 2024. DOI: 10.3390/ijms25042089.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, [S.I.], v. 17, n. 1, p. 1-15, 2015. DOI: 10.1590/1983-084X/12\_165.

SOUZA, Gabriela Silva. Avaliação da relação entre a cor e degradação da vitamina C em suco de laranja. *Conjecturas*, v. 22, n. 9, p. 374–381, ago. 2022. DOI: 10.53660/CONJ-1433-AG11. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/362785072\\_Avaliacao\\_da\\_relacao\\_entre\\_a\\_cor\\_e\\_degradacao\\_da\\_vitamina\\_C\\_em\\_suco\\_de\\_laranja](https://www.researchgate.net/publication/362785072_Avaliacao_da_relacao_entre_a_cor_e_degradacao_da_vitamina_C_em_suco_de_laranja). Acesso em: 25 mai. 2024.

OYALUNA, Z. E. et al. Chemical analysis of Alliin-Rich *Allium sativum* (Garlic) extract and its safety evaluation in *Drosophila melanogaster*. *Toxicology Reports*, v. 13, p. 101760, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2024.101760>. Acesso em: 30 out. 2024.

ÖZCAN, M. M.; MATTHÄUS, B. A review: Benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. **European Food Research and Technology**, v. 243, p. 89–99, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2726-9>.

PACIULLI, M. et al. Microencapsulated olive leaf extract enhances physicochemical stability of biscuits. *Future Foods*, [S.I.], v. 7, p. 100209, 2023.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: An overview. *J. Nutr. Sci.*, v. 5, p. e47, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>.

PEREIRA, W. L.; OLIVEIRA, T. T.; KANASHIRO, M.; COSTA, M. Ação antiproliferativa do flavonoide morina e do extrato da folha de oliveira (*Olea europaea* L.) contra a linhagem de célula H460. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, [S.I.], v. 17, n. 4, supl. I, p. 798-806, 2015. Disponível em: <https://scielo.br/j/rbpm/a/HkxWWJmmrBcFQm4GpR3JFSL/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 13 abr. 2024.

PEREIRA, W. L.; OLIVEIRA, T. T.; KANASHIRO, M.; et al. Ação antiproliferativa do flavonoide morina e do extrato da folha de oliveira (*Olea europaea* L.) contra a linhagem de célula H460. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 17, n. 4, supl. I, p. 798-806, 2015.

PINEAU, N. et al. Temporal dominance of sensations: construction of the TDS curves and comparison with time-intensity. *Food Quality and Preference*, [S.I.], v. 20, n. 6, p. 450-455, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2009.03.006>. Acesso em: 12 nov. 2024.

PINHEIRO, A. C.; NUNES, C. A.; VIETORIS, V. SensoMaker: a tool for sensorial characterization of food products. *Ciência e Agrotecnologia*, [S.I.], v. 37, n. 3, p. 199-201, 2013.

POLETO, K. H. et al. p-Coumaric acid potential in restoring neuromotor function and oxidative balance through the Parkin pathway in a Parkinson disease-like model in *Drosophila melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*, [S.I.], v. 193, p. 115002, 2024. doi: 10.1016/j.fct.2024.115002. Acesso em: 26 jan. 2023.

PRAKASH, A.; BASKARAN, R. Acerola, an untapped functional superfruit: A review on latest frontiers. *Journal of Food Science and Technology*, v. 55, p. 3373-3384, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3309-5>.

QUSH, A. et al. Intake of caffeine containing sugar diet remodels gut microbiota and perturbs *Drosophila melanogaster* immunity and lifespan. *Microbes and Infection*, [S.I.], v. 25, n. 7, p. 105149, 2023. DOI: 10.1016/j.micinf.2023.105149.

RADUNZ, M. et al. Desenvolvimento, composição centesimal e análise sensorial de barras à base de grãos de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) submetidos a diferentes tratamentos térmicos. *Revista Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, [S.I.], v. 11, n. 4, 2016.

RAMDYA, P.; BENTON, R. Evolving olfactory systems on the fly. *Trends in Genetics: TIG*, v. 26, n. 7, p. 307-316, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2010.04.004>. Acesso em: 26 jan. 2023.

REIS, Ana Luísa Moreira; et al. Avaliação do efeito anticarcinogênico do morango (*Fragaria x ananassa*) em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. *Research, Society and Development*, v. 12, n. 10, e48121043349, 2023. DOI:

<http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v12i10.43349>. Disponível em:  
[https://www.researchgate.net/publication/374561806\\_Avaliacao do efeito anticarcinogenico do morango Fragaria](https://www.researchgate.net/publication/374561806_Avaliacao do efeito anticarcinogenico do morango Fragaria)

RIBAS, J. C. R. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of leaves from olive trees grown in Paraná, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 58, p. e03025, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2023.v58.03025>.

RIBEIRO, B .S.; FREITAS, S. T. Maturity stage at harvest and storage temperature to maintain postharvest quality of acerola fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 260, p. 108901, 27 jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108901>.

ROBERTS, D. B. *Drosophila, A Practical Approach*. 2. ed. New York, NY: Oxford University Press, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/oso/9780199636617.001.0001>. Acesso em: 30 out. 2023.

ROMERO-GARCÍA, J. M. et al. Biorefinery based on olive biomass: state of the art and future trends. **Bioresource Technology**, v. 159, p. 421-432, 2014.

ROMERO-MÁRQUEZ, J. M. et al. Effect of olive leaf phytochemicals on the anti-acetylcholinesterase, anti-cyclooxygenase-2 and ferric reducing antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 444, p. 138516, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138516>.

ROSA, G. S. da et al. Eco-friendly extraction for the recovery of bioactive compounds from Brazilian olive leaves. **Sustainable Materials and Technologies**, v. 28, p. e00276, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2021.e00276>.

RUFINO, M. S.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical DPPH. *Embrapa Agroindústria Tropical – Comunicado Técnico*, [S.I.], 2007.

SAINT-HILAIRE, Auguste de. *Viagem ao Rio Grande do Sul*. Tradução de Adroaldo Mesquita da Costa. Brasília: Senado Federal, Conselho Editorial, 2002. 575 p. Coleção O Brasil visto por estrangeiros. Disponível em: <http://www2.senado.leg.br/bdsf/handle/id/1064>. Acesso em: 12 nov. 2023.

SARQUES, J. D.; DA SILVA, L. G. M.; GARCIA, J. A. D.; BOAS, B. M. V.; NACHTIGALL, A. M. Physical-chemical characteristics of gluten-free cookies, chocolate flavor, made with cocoa bran, rice flour and corn starch. *Observatório de Economia Latino-Americana*, [S.I.], v. 22, n. 2, e3193, 2024. doi: 10.55905/oelv22n2-078.

SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA, PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E IRRIGAÇÃO. Plantio de oliveira expande produção de azeite no pampa gaúcho. 24 set. 2013. Disponível em: <<https://plantio de oliveira expande produção de azeite no pampa gaúcho - secretaria da agricultura, pecuária, produção sustentável e irrigação>>. Acesso em: 10 set. 2023.

SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA, PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E IRRIGAÇÃO. Produção de azeite de oliva cresce 29% no estado. 04 ago. 2023. Disponível em: <<https://produção de azeite de oliva cresce 29% no estado - portal do estado do rio grande do sul>>. Acesso em: 12 set. 2023.

SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA, PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E IRRIGAÇÃO. Câmara Setorial das Oliveiras apresenta números da safra 2023/2024. 2023. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br>. Acesso em: 11 nov. 2024.

SILVA, C. A. Métodos de análise físico-química de alimentos. 2. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2020.

SILVA, C. M., et al. Vitamina C para aumento da imunidade: efeitos benéficos e efeitos adversos. *Revista JRG de Estudos Acadêmicos*, v. 5, n. 11, p. 561-571, jul.-dez. 2022. (CC BY 4.0). ISSN 2595-1661.

SOUZA, R. S. D.; NOVAIS, T. S.; BATISTA, F. O.; ZÚÑIGA, A. D. G. Análise sensorial de cookies desenvolvidos com farinha da casca de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merril). *Research, Society and Development*, [S.I.], v. 9, n. 4, 2020.

STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBÁŇ, V. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables: evaluation of spectrophotometric methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, n. 3, p. 607-616, 2006.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, [S.I.], v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

ULLAH, A. et al. Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. *Molecules*, v. 25, n. 22, p. 5243, 2020.

VIANA, E. S. et al. Physicochemical and bioactive compound evaluation of acerola genotypes. *Revista Virtual de Química*, [S.I.], v. 13, n. 4, p. 993-998, 2021. DOI: 10.21577/1984-6835.20210024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Healthy diet. 29 abr. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>. Acesso em: 14 set. 2024.

XU, M. et al. Metabolomic analysis of acerola cherry (*Malpighia emarginata*) fruit during ripening development via UPLC-Q-TOF and contribution to the antioxidant activity. *Food Research International*, [S.I.], v. 130, p. 108915, 2020.

ZANELLA, S.; FARIA, D.; SILVEIRA, M.; et al. Perfil nutricional e epidemiológico de pacientes atendidos em clínica de nutrição em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento*, v. 11, n. 68, p. 677-684, 2018.

