

EFEITO DA SEQUÊNCIA DE EXTRAÇÃO NA OBTENÇÃO DE INGREDIENTES FUNCIONAIS A PARTIR DE SUBPRODUTOS DA PRODUÇÃO DE OLIVEIRAS

Livian Yumi Iwaoka (PIBIC/CNPq/UEM), Bianka Saraiva Rocha (Co-orientadora), Aline Cristini Santos Silva, Paula Toshimi Matumoto Pinto (Orientadora), e-mail: ptmpintro@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Maringá, PR.

Ciências Agrárias/ Agronomia

Palavras-chave: proteína alternativa; subproduto agrícola; valorização de resíduo.

RESUMO

As folhas de oliveiras (*Olea europaea* L. cv. Leccino), subproduto abundante da cadeia oleícola, representam uma alternativa sustentável para obtenção de ingredientes funcionais. Este estudo avaliou a influência da ordem de utilização dos solventes (solução etanólica seguida de solução alcalina; e solução alcalina seguida de solução etanólica) e das condições de processo (tempo, temperatura e concentrações de etanol e NaOH) na extração de proteínas e polifenóis. As folhas foram secas, moídas e submetidas à extração em duas sequências. O delineamento experimental utilizado foi o Box–Behnken e as variáveis foram: NaOH, etanol, tempo e temperatura. O teor proteico foi quantificado pelo método de Bradford e os polifenóis totais pelo método de Folin–Ciocalteu. Na primeira sequência etanólica para alcalina, foi possível extrair de 17,39–24,21 mg EAG/g de polifenóis e de 2,28–28,48 mg/g de proteínas, enquanto na sequência, extração alcalina para etanólica, os valores obtidos variaram de 12,09–19,73 EAG mg/g de polifenóis e 10,3–32,4 mg/g de proteínas. A análise de desejabilidade apontou que condições intermediárias favoreceram a maximização conjunta das respostas na segunda sequência de extração, enquanto na primeira sequência apenas o tempo foi utilizado no seu valor máximo no ponto ótimo, sendo as outras variáveis em condições intermediárias. Conclui-se que utilizar a sequência etanólica para alcalina é mais eficiente para a recuperação dos compostos bioativos, enquanto a sequência alcalina para etanólica favorece as proteínas, confirmando o potencial das folhas de oliveira para a obtenção de novos ingredientes.

INTRODUÇÃO

Os frutos da oliveira (*Olea europaea* L.), uma planta perene nativa das áreas costeiras do Mediterrâneo, são muito estimados pela produção do azeite e a azeitona também tem sido muito comercializada na forma de conservas (Espeso et al., 2021). As folhas de oliveiras (FO) apresentam composição nutricional importante, rica em nutrientes, compostos fenólicos, antioxidantes, corantes (Ribas et al., 2022), mas que acabam sendo subvalorizados. Métodos convencionais de extração

apresentam limitações quanto à seletividade e rendimento, sendo a escolha de solventes e das condições de processo determinantes para a recuperação de compostos de maior valor agregado. Nesse contexto, a extração sequencial utilizando solventes com diferentes características físico-químicas configura uma abordagem promissora para potencializar a obtenção simultânea de proteínas e polifenóis. As proteínas oriundas de subprodutos podem ser aplicadas como aditivos na produção de alimentos à base de plantas e até mesmo em carne cultivada, um segmento do setor alimentício que vem crescendo e ganhando destaque. O objetivo do trabalho foi avaliar qual a sequência mais vantajosa de extração para a produção de ingredientes provenientes de subprodutos de folhas de oliveiras em relação as propriedades proteicas e funcionais por meio do delineamento experimental e condições ótimas de processo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Matéria-prima

As folhas da cultivar Leccino foram coletadas na Colônia Witmarsum (Palmeira, Paraná) em 2022, sanitizadas, secas em estufa (55 °C), moídas (60 mesh) e armazenadas ao abrigo da luz.

Delineamento Experimental

Foi conduzido um experimento de extração sequencial de compostos bioativos e proteínas solúveis a partir de resíduos de folhas de oliveira da cultivar Leccino. As extrações foram realizadas em duas ordens distintas: na primeira sequência, utilizou-se inicialmente álcool etílico (50–90%) seguido de solução alcalina de hidróxido de sódio (0,02–0,06 M), enquanto na segunda sequência o processo foi invertido, iniciando-se com a solução alcalina e, posteriormente, o álcool etílico. O delineamento experimental adotado foi do tipo Box–Behnken, com 17 ensaios e duas repetições no ponto central, em três níveis codificados (–1, 0, 1). As concentrações de NaOH testadas foram 0,02 M (–1), 0,04 M (0) e 0,06 M (1), enquanto os teores de etanol corresponderam a 50% (–1), 70% (0) e 90% (1). O tempo de extração variou entre 25, 50 e 75 minutos, e a temperatura foi ajustada para 20, 40 e 60 °C, sendo mantidas iguais em ambas as sequências, diferenciando-se apenas quanto ao solvente inicial.

Análises

A concentração de proteínas solúveis foi determinada pelo método de Bradford, enquanto os polifenóis totais foram quantificados pelo método de Folin-Ciocalteu.

Análises Estatísticas

A análise estatística dos dados foi realizada com o software Statistica v12.0, utilizando modelos de superfície de resposta e a ferramenta de desejabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

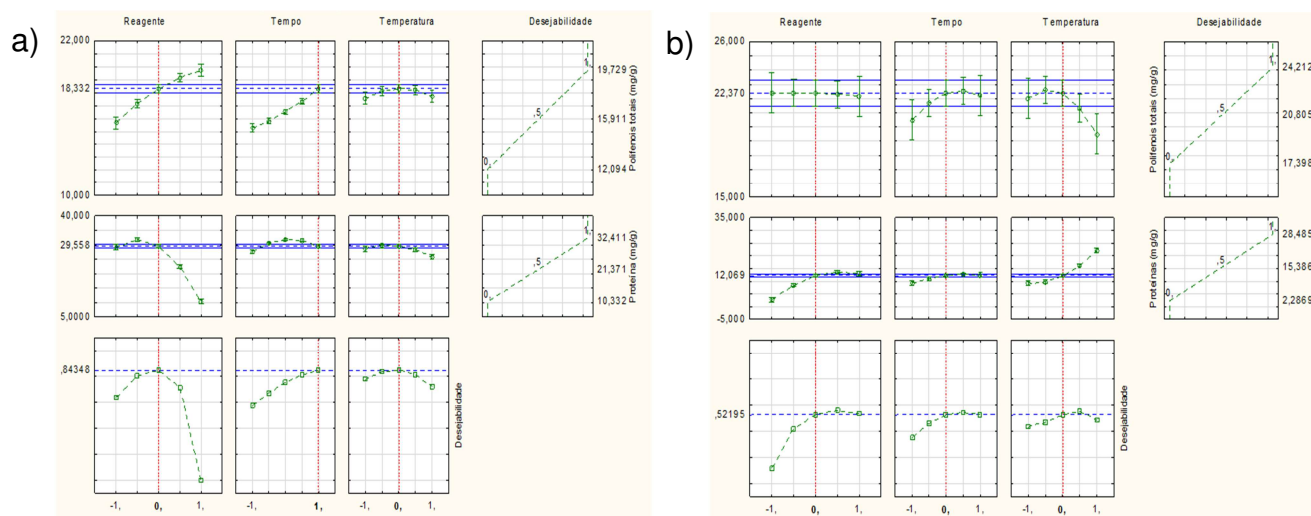
O delineamento Box–Behnken possibilitou avaliar o efeito dos fatores experimentais na extração de polifenóis e proteínas solúveis das folhas de oliveira. Os valores obtidos variaram de 12,1 a 24,21 mg EAG/g de subproduto para polifenóis e de 10,33 a 32,41 mg/g para proteínas (Tabela 1). Verificou-se que a sequência iniciada com a extração etanólica, seguida pela extração alcalina, resultou nos maiores teores de polifenóis (17,4–24,21 mg EAG/g). Por outro lado, a sequência inversa, iniciada com a extração alcalina e seguida pela etanólica, favoreceu a recuperação de proteínas (10,33–32,41 mg/g).

Tabela 1 – Efeito da sequência de extração na recuperação de polifenóis totais e proteínas solúveis de folhas de oliveira

Sequência	Polifenóis (EAG mg/g) mínimo – máximo	Proteínas (mg/g) mínimo – máximo
Etanólico → Alcalino	17,39 – 24,21	2,28 – 28,48
Alcalino → Etanólico	12,09 – 19,73	10,33 – 32,41

Resultados expressos em mg/g de subproduto. EAG: equivalente de ácido gálico.

Essa diferença sugere que a ordem de aplicação dos solventes exerce influência direta sobre a seletividade do processo de extração, atuando de forma distinta sobre



compostos fenólicos e proteicos.

Figura 1. Determinação do ponto ótimo de extração pela ferramenta desejabilidade para otimizar a extração de polifenóis totais e proteínas solúveis em conjunto; a) Efeito extração alcalina seguida da etanólica; b) Efeito da extração etanólica seguida da alcalina.

A análise de desejabilidade (Figura 1) evidenciou que concentrações intermediárias de solventes e condições moderadas de processo foram determinantes para a recuperação simultânea de polifenóis e proteínas. No gráfico (a), a modelagem indicou que NaOH 0,04 M e etanol 70%, a 40 °C por 75 min resultaram no melhor equilíbrio global entre as respostas. No gráfico (b), correspondente à extração etanólica seguida da alcalina, verificou-se que 70% de etanol seguido de NaOH 0,04 M, a 40 °C por

50 min, favoreceram a maximização conjunta, alcançando teores de até 24,2 EAG mg/g de polifenóis e 28,4 mg/g de proteínas. Quando a extração foi iniciada em meio etanólico, observou-se maior liberação de polifenóis. Isso ocorre porque o etanol, por apresentar polaridade intermediária, rompe ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas presentes no resíduo vegetal, promovendo a solubilização desses compostos. Contudo, essa etapa pode provocar a desnaturação parcial de proteínas, reduzindo sua posterior solubilização. Por outro lado, quando a sequência começou em solução alcalina, houve maior recuperação proteica, já que o pH elevado aumenta a ionização dos grupos funcionais das cadeias laterais, gerando repulsão eletrostática entre cargas negativas e, consequentemente, maior solubilidade em água. Esse efeito está diretamente associado ao aumento da carga líquida negativa das proteínas em meios alcalinos, que impede a agregação e favorece a extração (Saraiva et al., 2021). De forma complementar, a solubilidade proteica também depende da natureza estrutural de cada fração, o que determina sua afinidade por solventes aquosos ou alcoólicos (Damodaran; Parkin; Fennema, 2017). Dessa forma, a ordem de aplicação dos solventes direciona seletivamente o processo: o etanol inicial favorece polifenóis, enquanto o meio alcalino inicial potencializa a extração.

Conclusões

A ordem de utilização dos solventes influenciou diretamente a recuperação dos compostos, sendo a sequência iniciada com etanol mais eficiente para polifenóis, enquanto a iniciada em meio alcalino favoreceu a extração de proteínas. Os resultados demonstram o potencial das folhas de oliveira como fonte sustentável de compostos bioativos e proteínas vegetais, reforçando seu aproveitamento como ingrediente funcional e contribuindo para a valorização da cadeia oleícola.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa de iniciação científica, à UEM e ao grupo de pesquisa em alimentos funcionais (GPAF).

REFERÊNCIAS

- BRADFORD, M. A. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 48-254, 1976.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de alimentos de Fennema**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2018.
- ESPESO, J.; ISAZA, A.; LEE, J.Y.; SÖRENSEN, P.M.; JURADO, P.; AVENABUSTILLOS, R. de J.; OLAIZOLA, M.; ARBOLEYA, J.C. Olive leaf waste management. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v.5, art.660582, 2021.
- RIBAS, J. C. R.; LAZZARI, A.; GONZALEZ, L. B. F.; SILVA, C. M. D.; ADAMUCHIO, L. G.; CUQUEL, F. L.; SAKURADA, R.; PINTRO, P. T. M. Bioactive compounds and antioxidant activity of leaves from olive trees grown in Paraná, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 58, e03025, 2023.

34º Encontro Anual de Iniciação Científica
14º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



12 e 13 de novembro de 2025

SARAIVA, B. R. et al. Soluble protein isolate from brewing by-product (trub) using the Box-Behnken design. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 10, 18 ago. 2021.