

DETERMINAÇÃO DE CAROTENÓIDES E CLOROFILAS EM FARINHA DE FOLHA DE OLIVEIRA (*Olea europaea* L.) OBTIDA POR LIOFILIZAÇÃO

ANDRESSA CAROLINA JACQUES¹, BRUNA DA FONSECA ANTUNES², LUCAS GOMES DOS SANTOS³

Resumo

As folhas da oliveira (*Olea europaea* L.) são resíduos agroindustriais resultantes da poda e/ou da colheita da azeitona, e são utilizadas na alimentação animal, como fertilizante orgânico e como fonte de extração de compostos para diversas aplicações. Este subproduto da indústria oleícola é rico em compostos com atividade antioxidante, dentre eles destacam-se as clorofilas que são pigmentos verdes naturais encontrados nos cloroplastos da célula vegetal e os carotenoides que possuem cores variando do amarelo ao vermelho, podendo alguns, serem precursores de vitamina A. A elaboração de farinha a partir destas folhas, é uma alternativa viável para o aproveitamento deste resíduo e para incorporar compostos antioxidantes em produtos, elevando seu valor biológico. Em face do exposto, o objetivo deste estudo foi o de elaborar farinha a partir das folhas de oliveira, através do método de liofilização a fim de avaliar a possibilidade de incorporação desta em produtos alimentícios. Foram utilizadas folhas da cultivar Arbequina e através de método espectrofotométrico, foram determinados os conteúdos de carotenoides totais e clorofilas, comparando as folhas *in natura* com a farinha após liofilização. Foram encontrados teores de carotenoides, clorofilas α , β e clorofilas totais, na folha *in natura* respectivamente de: 2,46; 6,46; 5,405 e 11,81 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Já para a farinha obtidas das folhas, foram encontrados teores de 0,304; 5,370; 3,600; 8,985 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. As maiores perdas foram observadas nos carotenoides, visto se tratar de uma classe de compostos altamente instáveis ao processamento. Apesar das perdas observadas nos compostos antioxidantes, pode-se destacar a importância da utilização desta fonte não convencional na elaboração de farinhas, visto que ao diminuir o descarte na natureza, também eleva-se o valor agregado em produtos, tornando-o com alto valor biológico com possibilidade de desenvolvimento de produtos.

Palavra-chave: farinha de fonte não convencional, compostos antioxidantes, resíduos

Abstract

Olive leaves (*Olea europaea* L.) are agroindustrial residues resulting from pruning and / or olive harvesting, and are used in animal feed, as an organic fertilizer and as a source of extraction of compounds for various applications. This by-product of the olive industry is rich in compounds with antioxidant activity, among them stand out the chlorophylls that are natural green pigments found in the chloroplasts of the vegetable cell and the carotenoids that have colors varying from yellow to red, and

some may be precursors of vitamin A. The elaboration of flour from these leaves, is a viable alternative for the use of this residue and to incorporate antioxidant compounds in products, increasing its biological value. In view of the above, the objective of this study was to elaborate flour from the olive leaves, using the freeze-drying method in order to evaluate the possibility of incorporation of this in food products. The leaves of the Arbequina cultivar were used and by spectrophotometric method, the contents of total carotenoids and chlorophylls were determined, comparing the leaves in natura with the flour after lyophilization. Carotenoids, chlorophylls α , β and total chlorophyll content were found in the in natura leaf respectively of: 2,46; 6.46; 5.405 and 11.81 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. For the flour obtained from the leaves, contents of 0.304 were found; 5,370; 3,600; 8,985 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. The highest losses were observed in the carotenoids, since it is a class of compounds highly unstable to the processing. Despite the losses observed in the antioxidant compounds, it is possible to emphasize the importance of the use of this unconventional source in the preparation of flours, since in decreasing the discard in nature, also increases the added value in products, making it with high value with the possibility of product development.

Key words: unconventional source meal, antioxidant compounds, residues

Introdução

A Oliveira (*Olea europaea L.*) é pertencente à família botânica *Oleaceae*, sendo considerada uma das frutíferas mais antigas cultivadas pelo homem. A *Olea europaea L.* é a única espécie desta família com frutos comestíveis. Os frutos da oliveira servem como matéria-prima para extração de azeite e produção de conserva, que são produtos muito apreciados (COUTINHO, 2007). Além do azeite e da azeitona, a oliveira também permite o uso de suas folhas que são subprodutos da indústria e que são ricas em compostos antioxidantes e com ação antimicrobiana, hipoglicemiante, anti-inflamatória, entre outras. Assim, a partir das propriedades benéficas das folhas de oliveira associadas à necessidade de valorizar estes subprodutos se faz importante através da investigação do seu real valor. Sua exploração industrial, além de representar uma potencial diminuição da poluição ambiental, serve como opção de valoração ao subproduto em virtude do aumento da procura pelos produtos naturais por vários segmentos industriais, como alimentar e farmacêutico. A partir disso, tem-se aprimorado o desenvolvimento de produtos bioativos a partir de produtos naturais (FERNÁNDEZ-BOLAÑOS et al., 2006;

GUINDA, 2006; ROIG *et al.*, 2006), sendo o caso da utilização de folhas de oliveira com este objetivo.

Dentre os compostos antioxidantes presentes na folha, destacam-se os carotenoides e as clorofilas. Os carotenóides são encontrados em diversas frutas, legumes e verduras, dividindo-se em carotenos e xantofilas. São responsáveis pela coloração de tons de amarelo ao vermelho pela sua característica de ser um pigmento, além de atuar como precursor da vitamina A. São caracterizados por serem lipossolúveis, também por possuir atividade antioxidante no organismo humano combatendo os radicais livres quando discutido sobre o tema nutricional. Nos organismos fotossintetizantes, participam como coadjuvantes no processo de fotossíntese ajudam a proteger contra possíveis injúrias causados pela luz. Assim como os carotenoides, as clorofilas também possuem características antioxidantes. São encontradas em plantas, algas e algumas bactérias que apresenta como característica mais marcante sua coloração verde. A clorofila absorve luz nos comprimentos de luz violeta, azul e vermelho e, por esse motivo, reflete a luz verde. A clorofila é o pigmento responsável por captar a luz e garantir que organismos fotossintetizantes consigam produzir seu alimento por meio do processo da fotossíntese, sendo que o mesmo possui atividade antioxidante e como corante em alimentos.

A utilização de alimentos alternativos para o combate à fome na população de baixa renda é assunto que tem recebido atenção no Brasil nos últimos anos, especialmente em razão do drama crescente da população carente. Diante do quadro social e econômico da população brasileira, o estudo da utilização integral de hortaliças no uso doméstico, bem como sua incorporação na elaboração de produtos industrializados, pode contribuir substancialmente para aumentar a disponibilidade de nutrientes, sendo uma fonte de baixo custo de proteínas, fibras, vitaminas e minerais. (JUNIOR & OLIVEIRA 2013). A elaboração de farinhas, porém, deve levar em consideração as perdas dos compostos potencialmente presentes nos vegetais, com isso a liofilização torna-se viável por se tratar de um método onde não se utilizam altas temperaturas. Em face do exposto, o objetivo deste trabalho, foi o de elaborar farinha a partir da liofilização de folhas de Oliveiras produzidas na Região

da campanha gaúcha e avaliar seu potencial antioxidante a partir da determinação de carotenoides e clorofilas, comparando as folhas com a farinha liofilizada.

Material e métodos

Foram utilizadas folhas de oliveira da cultivar Arbequina, obtidas de produtor da Região de Candiota/RS, safra 2016. As folhas foram avaliadas na forma *in natura* e logo após congeladas à -80°C em ultra-freezer para posterior liofilização. As avaliações foram realizadas no Laboratório dos Olivais da Universidade Federal do Pampa e a farinha da folha liofilizada foi armazenada a temperatura ambiente.

Liofilização: Para liofilização, as folhas foram congelados à -80°C e após liofilizados por 24 horas, em liofilizador da marca Liotop, modelo L101 com temperatura de trabalho de -55°C.

Elaboração da farinha: Após a liofilização, foi feita a trituração das folhas para obtenção da farinha, utilizando moinho de facas. Logo após a mesma foi peneirada. A farinha elaborada seguiu padrões previstos na legislação com relação a umidade, obedecendo o máximo de 15%.

Clorofilas totais, 'a' e 'b' e Carotenoides totais: Foram realizados conforme metodologia descrita por LICHTENTHALER (1987), com a utilização de espectrofotômetro e leitura em diferentes comprimentos de onda e quantificados através das equações (eq. 1, 2, 3,4), respectivamente.

$$\text{Chl totais} = 7,15(A663) + 18,71(A647) \quad \text{eq.1}$$

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

$$\text{Chl 'b'} = 21,50(A647) - 5,10(A663) \quad \text{eq.3}$$

$$\text{Carotenoides totais} = [1000(A470) - 1,82 \text{ Chl 'a'} - 85,02 \text{ Chl 'b'}] / 198 \quad \text{eq.4}$$

A partir dos resultados, foram realizados: análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias (Tukey) ao nível de significância de 5%.

Resultados e discussões

Tabela 1: Teores de carotenoides e clorofila nas folhas e farinha de folhas liofilizada

	Carotenoides	Clorofila α	Clorofila β	Clorofilas
	Totais $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	totais $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
Folha <i>in natura</i>	2,46 \pm 0,21a	6,46 \pm 0,63a	5,405 \pm 0,37a	11,881 \pm 0,70a
Farinha de folhas liofilizada	0,304 \pm 0,05b	5,37 \pm 0,88a	3,6 \pm 0,10b	8,985 \pm 0,55b

\pm desvio padrão. Letras diferentes na coluna indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

A partir da Tabela 1, pode-se observar que com a elaboração da farinha das folhas de oliveira, ocorreu diferença estatística em todas as avaliações, com exceção das clorofilas α , demonstrando que ocorreram perdas a partir do processamento. As clorofilas vem sendo empregadas como corantes naturais e antioxidantes, para restabelecer o teor natural destas moléculas em produtos alimentares ou para preparar produtos enriquecidos, para isso devem ser modificadas quimicamente antes da adição aos alimentos, visto a instabilidade deste compostos a ácidos, calor e luz (BRITTON, 1995; SCHOEFS, 2002). A decomposição das clorofilas em alimentos processados inicia-se com o rompimento de tecido pelas forças externas do processamento. Isto resulta em alterações químicas, enzimáticas e, possivelmente de expressão gênica, que conduzem a uma redução da concentração de clorofilas (HEATON et al., 1996 citado por STREIT et al., 2005). Oliveira et. al (2016), encontraram teores de 4,04 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de clorofilas também na cultivar Arbequina, sendo este resultado inferior ao encontrado neste estudo (11,881 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), confirmando a teoria de que diferentes épocas de colheita e região, podem gerar grandes alterações no conteúdo destes compostos. Segundo Bauer et al.,(2011) durante o período de amadurecimento dos frutos de azeitona, o conteúdo de clorofila

diminuiu de $285 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para $3,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (variedade Arbequina). Desta forma, pode-se verificar que as folhas de oliveira apresentam maior conteúdo de clorofilas do que os frutos da azeitona, visto que as clorofilas totais encontradas foram de $11,881 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. As perdas mais significativas foram observadas no conteúdo dos carotenoides, visto que a redução do seu teor inicial foi de 87%. Estes compostos são extremamente suscetíveis à degradação, visto que sua estrutura altamente insaturada lhe confere sensibilidade ao calor, oxigênio e luz. Mesmo com a utilização da liofilização como método de retirada de água, as perdas foram significativas. De acordo com Meléndez-Martinez et al., 2004 estima-se que nas folhas, os carotenoides estejam nos cloroplastos, mascarados pela clorofila, ou seja, os carotenoides acompanham as clorofilas numa relação de três a quatro partes de clorofilas por uma parte de carotenoides, ao contrário do que ocorre nas frutas. Com isto, confirma-se o resultado encontrado neste estudo, onde o teor de clorofila α foi em torno de três vezes maior do que o de carotenoides. Destaca-se que a Clorofila α é o pigmento utilizado para realizar a fase fotoquímica da fotossíntese, enquanto que os demais pigmentos auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação, sendo assim chamados de pigmentos acessórios (clorofila β e carotenoides) (TAIZ & ZIEGER, 2004). Pode-se destacar com este estudo, que são escassos os dados que quantificam estes antioxidantes em folhas de oliveira e não foram encontradas pesquisas que elaborem farinha a partir deste tipo de cultura, necessitando de dados complementares de sua completa composição fitoquímica. Apesar das perdas significativas dos compostos antioxidantes presentes nas folhas, pode-se destacar a importância da elaboração de farinhas com fontes não convencionais, tornando-se uma alternativa para a diminuição do impacto ambiental assim como incremento de valor agregado em produtos que poderão ser elaborados a partir desta farinha.

Conclusão

A partir deste estudo, pode-se concluir que apesar das perdas significativas observadas a partir da elaboração da farinha a partir das folhas de oliveira, é viável a elaboração de farinha de fontes não convencionais em virtude do aproveitamento de alimentos pouco utilizados e descartados, com alto teor de compostos com capacidade antioxidante, como os carotenoides e clorofilas, naturalmente presentes em produtos de origem vegetal, necessitando de estudos complementares para adição da mesma em produtos alimentícios.

Agradecimentos

Trabalho executado com recursos do Edital 01/2014 – Programa de Apoio aos Pólos Tecnológicos – Secretaria da Ciência, Inovação e Desenvolvimento Tecnológico do Estado do Rio Grande do Sul e Banco Mundial. Projeto: Desenvolvimento tecnológico e inovação aplicados aos olivais da Região da Campanha

Referencias

BAUER, V. R. P; DUTRA, F. L. G; ZAMBIAZI. Caracterização do fruto da oliveira (variedade corolea) cultivada na região sul do Brasil. Alim. Nutr., Araraquara v. 22, n.1, p. 79-87, jan./mar. 2011.

BRITTON, G. UV/ visible spectroscopy. In: BRITTON, G. et al. (Eds). Carotenoids, spectroscopy. Birkhauser, 1995. V.1, p.13-62.

COUTINHO, E. F.; JORGE, R. O. Botânica e Morfologia da Oliveira. In: COUTINHO, E. F. (Org.). A cultura da Oliveira. 1. ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 19-29, 2007.

FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J.; RODRÍGUEZ, G.; RODRÍGUEZ, R.; GUILLÉN, R.; JIMÉNEZ, A. Potential use of olive by-products, Extraction of interesting organic compounds from olive oil waste, Grasas y Aceites, 57: 95-106, 2006.

GUINDA, A. Use of solid residue from the olive industry. Grasas Y Aceites. 57:107-115, 2006.



JUNIOR, O.M.C.; OLIVEIRA, A.P. Caracterização físico-química da farinha da folha de cenoura (*daucus carota*) e a aplicação na elaboração de produtos alimentícios. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 07; n.02; 2013

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol., v. 148, p. 350-381, 1987.

MELÉNDEZ-M ARTINEZ, A.J.; VICARIO, I.M.; HEREDIA, F.J. Estabilidad de los pigmentos carotenoides em los alimentos. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, Caracas, v.54; n.2, p.209-215; 2004

OLIVEIRA, F.M.; ANTUNES, B.F; JACQUES, A.C.; ZAMBIAZI, R.C.. Teor de clorofila em folhas de oliveira cultivadas na região da campanha gaúcha. 15ª Mostra da Produção Universitária - MPU Rio Grande/RS, Brasil, ISSN: 2317-4420, 2016

STREIT, N.M.; PEDROLO, L.P. CANTERLE; CANTO, M.W.; HECKTHEUER, L.H.H. As clorofilas. Ciência Rural, Santa Maria, v.35, n.3, p.748-755, 2005

TAIZ, L.; ZIEGLER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed.Porto Alegre : Artmed, p.693; 2004