



Valorização de bolotas de *Quercus pyrenaica* como potencial fonte de óleo rico em compostos bioativos

Nelson Vitale Junior

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar, no âmbito de dupla diplomação com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Supervisão por:

Soraia Isabel Domingues Marcos Falcão

Miguel José Rodrigues Vilas Boas

Edilaine Mauricia Gelinski Grabicoski

Esta dissertação não inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri.

Bragança

2024

Trabalho financiado pelo Projeto ACORNDEW (MTS/SAS/0099/2020), financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT), no âmbito Programa Internacional de Investigação sobre Montesinho “Montesinho International Research Awards”. Este trabalho foi também parcialmente financiado pelo CIMO UID/AGR/00690/2020) e SusTEC (LA/P/0007/2021).



AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha mãe, que foi minha maior inspiração e um pilar de apoio ao longo de toda a minha trajetória acadêmica. Sua força, amor e dedicação foram o combustível que me impulsionou nos momentos mais desafiadores. Embora ela não esteja mais fisicamente entre nós, dedico este trabalho a ela com todo o meu coração, na certeza de que, onde quer que esteja, ela está em paz e orgulhosa. Sua memória vive em cada conquista minha.

A minha irmã Melissa, que sempre esteve ao meu lado, com palavras de apoio e gestos de carinho. Sua constante presença e encorajamento foram fundamentais ao longo dessa jornada. Agradeço por cada conversa, cada conselho e cada momento que compartilhamos, e por ser uma força tão importante em minha vida.

Os meus sinceros agradecimentos aos meus orientadores Doutora Soraia Isabel Domingues Marcos Falcão, Doutor Miguel José Rodrigues Vilas Boas e Doutora Edilaine Maurícia Gelinski Grabicoski por todos os ensinamentos, pela paciência e por ter acreditado em mim e nas minhas capacidades. Agradeço ainda a motivação e o alento que me proporcionou, pois deu-me a força necessária para continuar a trabalhar. Além disso, transmitiu-me o seu apreço por este tema fascinante que é a Bolota.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão aos meus professores da Universidade Tecnológica do Paraná. Agradeço não apenas pela dedicação e empenho em compartilhar conhecimento, mas também pela orientação e apoio ao longo da minha jornada acadêmica. Cada aula, discussão e feedback contribuíram significativamente para meu crescimento pessoal e profissional. A paixão que vocês têm pelo ensino e pela pesquisa inspirou-me a buscar sempre a excelência e a curiosidade científica. Sou verdadeiramente grato por ter tido a oportunidade de aprender com vocês e por todo o incentivo que recebi para superar desafios e realizar meus objetivos.

Aos meus queridos amigos Rosangela Aparecida da Silva, Kleberson Luis Menezes e Marilini Borges meus mais sinceros agradecimentos. As palavras de encorajamento sempre me trouxeram conforto e força para continuar, mesmo nos momentos mais desafiadores. A presença e a sabedoria foram fundamentais para manter o equilíbrio ao longo dessa caminhada. A parceria e o companheirismo de vocês foram inestimáveis, e cada conquista que alcanço é reflexo das amizades verdadeiras que me acompanharam nessa jornada. Sou profundamente grato por tê-los ao meu lado.

Agradeço profundamente à minha melhor amiga, Karine Oliveira Campos, pelo apoio incondicional em todos os momentos desta jornada. Sua amizade e incentivo foram fundamentais para que eu pudesse enfrentar cada desafio com mais confiança e leveza. Sou imensamente grato por tê-la ao meu lado, sempre pronta para oferecer palavras de motivação e companheirismo. Este trabalho é também uma celebração da amizade e do apoio que encontrei em você.

Dedico este trabalho aos meus demais amigos, que foram verdadeiros companheiros ao longo desta jornada. Pelos momentos de descontração que equilibraram a tensão, pelas palavras de incentivo nos momentos difíceis, e pelo apoio incondicional em cada passo. Vocês ficaram ao meu lado, compartilhando vitórias e desafios, e por isso, essa conquista é também de vocês. Sou imensamente grato por cada amizade que tornou essa trajetória mais leve.

RESUMO

O Parque Natural de Montesinho (PNM) é uma área protegida caracterizada por uma paisagem de relevo, onde as florestas de carvalhos *Quercus pyrenaica* desempenham um papel predominante, sendo utilizados maioritariamente para a produção de madeira, desprezando-se o valor dos frutos, a bolota, apesar dos seus usos ancestrais na alimentação humana e animal. Este produto florestal não lenhoso é nutricionalmente rico, apresentando elevados valores de amido, proteínas, minerais e gordura. Em particular, o óleo extraído das bolotas apresenta características comparáveis às do azeite, com uma composição rica em compostos bioativos e, portanto, um maior potencial para ser considerado para fins industriais. Alguns estudos relativos à bolotas de outras espécies descrevem o óleo como uma fonte de ácidos gordos insaturados e compostos bioativos, sendo que a informação relativa ao óleo de bolota de *Q. pyrenaica* é escassa. Este trabalho proposto tem como principal objetivo avaliar os métodos de extração do óleo e a sua composição do óleo extraído da bolota de *Q. pyrenaica* desses métodos, no sentido de valorizar o produto. Para isso, para a otimização do processo de extração, duas metodologias de extração, soxhlet e ultrasons, foram avaliadas para o conteúdo lipídico, bem como o perfil em ácidos graxos, vitamina D e tocoferóis. Em resumo, o método Soxhlet com hexano demonstrou ser eficiente, resultando em extratos concentrados e de alta qualidade. Essa técnica se mostra promissora para estudos de óleos vegetais, especialmente em espécies com potencial bioativo ainda pouco explorado. O estudo reforça a importância de métodos de extração otimizados para aumentar o rendimento e a qualidade dos compostos bioativos, tornando o Soxhlet com hexano uma escolha recomendada para futuras pesquisas sobre essa espécie.

Palavras: Bolota, carvalho negral, óleo, valor nutricional, composição química

ABSTRACT

The Montesinho Natural Park (PNM) is a protected area characterized by a relief landscape, where *Quercus pyrenaica* oak forests play a predominant role, being used mainly for the production of wood, disregarding the value of the fruit, the acorn, despite its ancestral uses in human and animal food. This non-wood forest product is nutritionally rich, with high levels of starch, protein, minerals and fats. In particular, the oil extracted from acorns has characteristics comparable to those of olive oil, with a composition rich in bioactive compounds and therefore greater potential to be considered for industrial purposes. Some studies on the acorns of other species describe the oil as a source of unsaturated fatty acids and bioactive compounds, while information on the acorn oil of *Q. pyrenaica* is scarce. The main objective of this work is to evaluate oil extraction methods and the composition of the oil extracted from *Q. pyrenaica* acorns, in order to enhance the value of the product. To this end, for the optimization of the extraction process, two methods, Soxhlet and ultrasound, were evaluated for lipidic content, as well as the fatty acid profile of vD and tocopherols. This technique shows promise for studies of vegetable oils, especially in species with bioactive potential that has yet to be explored. The study reinforces the importance of optimized extraction methods to increase the yield and quality of bioactive compounds, making Soxhlet with hexane a recommended choice for future research on this species.

Keywords: acorn, black oak, oil, nutritional value, chemical composition

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	13
2.OBJETIVO	15
2.1. OBJETIVO GERAL	15
2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1. GÊNERO Quercus	16
3.1.1. Classificação botânica	16
3.1.2. Origem e distribuição	17
3.1.3. Especificidades botânicas do Quercus pyrenaica	19
3.1.4. Importância da bolota	20
3.1.5. Composição geral	22
3.1.5.1. Ácido graxos	23
3.1.5.2. Vitaminas D	26
3.1.5.3. Vitaminas E	27
3.1.5.4. Importância e aplicação do óleo de bolota	28
3.2. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO	30
3.2.1. Método de extração por prensa a frio	30
3.2.2. Método de extração por soxhlet	30
3.2.3. Método de extração por ultrassom	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1. MATERIAL	33
4.2. EXTRAÇÕES	33
4.2.1. Extração do óleo de bolota	33
4.2.1.1. Extração por Soxhlet	33
4.2.1.2. Extração por prensa a frio	35
4.2.1.3. Extração por Ultrassom	35
4.2.2. Determinação de ácidos graxos	36
4.2.3. Determinação de vitaminas	37
4.2.3.1. Análise do conteúdo em tocoferóis	37
4.2.3.2. Análise de vitamina D	39
4.2.4. Determinação de atividade antioxidante	40
4.2.4.1. Atividade antioxidante através do radical DPPH.	40
4.2.4.2. Poder redutor	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1. EXTRAÇÕES MECÂNICA, SOXHLET E ULTRASSOM	42
5.1.1. Extração mecânica	42
5.1.2. Extração soxhlet	42
5.1.3. Extração por ultrassom	44

5.2. ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS POR SOXHLET E ULTRASSOM	45
5.2.1. Análise de ácidos graxos obtidos por extração por soxhlet	45
5.2.2. Resultados da análise de ácidos graxos por ultrassom	48
5.2.3. Comparação entre os dois métodos de extrações	50
5.2.3.1. Análise de tocoferóis	51
5.2.3.2. Análise de vitamina D	53
5.2.4. Comparação com os dos métodos de extração	54
5.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	56
5.3.1. Análise DPPH com óleo extraído pelo método de soxhlet e ultrassom	56
5.3.2. Análise DPPH comparando os métodos de extração	58
5.4. ANÁLISE DE PODER REDUTOR +	58
5.4.1. Análise de poder redutor da extração por Soxhlet	59
6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS	60
7. REFERÊNCIAS	63

TABELA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa da presença de Quercus pyrenaica em Portugal	18
Figura 2 - Carvalho negral	
Figura 3 - Folhas e Bolota de Quercus	20
Figura 4 - Ácidos graxos mais abundantes na bolota.	24
Figura 5 - Estrutura tocoferóis	28
Figura 6 - Prensa hidráulica	30
Figura 7 - Sistema de extração Soxhlet	31
Figura 8 - Sistema de extração ultrassom	
Figura 9 - Sistema de extração ultrassom	32
Figura 10 - Cartuchos preparados para a extração de soxhlet.	34
Figura 11 - Óleo de Bolota	34
Figura 12 - Sistema de prensa	35
Figura 13 - Processo de separação entre hexano e óleo	36
Figura 14 - Célula eletroquímica usada para medição	
Figura 15 - Soluções diluídas óleo de bolota	39

TABELA DE DADOS

Tabela 1 - Espécies do gênero Quercus no mundo	19
Tabela 2 - Ácidos graxos encontrados na extração por soxhlet utilizando solvente hexano do óleo de Bolota da espécie Quercus pyrenaica	26
Tabela 3 - Estudo de análises de vitamina D em diferentes tipos de óleo	27
Tabela 4 - Compostos que formam a Vitamina E	28
Tabela 5 - Extração por soxhlet rendimento	43
Tabela 6 - Experimentos de extração óleo de bolota Quercus pyrenaica por ultrassom considerando, aspectos físicos, solvente, temperatura e teor foi utilizado 50% da potência de 500, que seria 250W .	44
Tabela 7 - Extração realizado por Ultrassom 60% em Bragança- Portugal	45
Tabela 8 - Tabela de resultados análise ácido graxos obtidos por extração de soxhlet em porcentagem.	46
Tabela 9 - Ácidos graxos Resultados da análise de ácidos graxos por ultrassom em porcentagem.	49
Tabela 10 – Resultados do conteúdo em tocoferóis obtido por DPV, valor expresso em mg/Kg (valor médio± desvio padrão).	52
Tabela 11 - Beta e Gama de diferentes espécies de Quercus	53
Tabela 12 - Comparação com os dos métodos de extração	54
Tabela 13 - Resultados da análise de antioxidante do óleo de bolota extraído por Soxhlet em mg/mL	56
Tabela 14 -Resultado das análises feitas do poder redutor extração por soxhlet	59

TABELA DE ABREVIATURAS

Símbolos e Siglas:

α : (alfa)

β : (beta)

γ : (gama)

ω : (ômega)

Parâmetros e Unidades:

Ag/AgCl: (prata/cloreto de prata)

Ca²⁺: (cálcio)

Cl⁻: (cloreto)

cm²: (centímetro quadrado)

CV: (Coeficiente de Variação)

DPPH: (1,1-difenil-2-picrilhidrazil)

dpv: (Voltametria de Impulso Diferencial)

dw: ("Dry Weight", peso seco, em inglês)

EC50: (Concentração necessária para inibir 50% da atividade)

FAME: (Fatty Acid Methyl Ester – ésteres metílicos de ácidos graxos)

GAE: (Gallic Acid Equivalent – equivalente de ácido gálico)

GC-FID: (Instrumento DANI modelo GC 1000, Milão, Itália)

GPES: (General Purpose for Electrochemical Systems, Autolab®)

HPLC: (Cromatografia Líquida de Alta Pressão)

HPLC-UV: (Sistema de HPLC acoplado a um detector UV, Knauer Smartline 2500, Berlim, Alemanha)

kHz: (quilohertz, ou rotações por minuto em alguns contextos)

mg: (miligrama)

mg/g: (miligrama por grama)

mg/kg: (miligrama por quilograma)

mg/mL: (miligrama por mililitro)

mL: (mililitro)

mL/min: (mililitro por minuto)

mol.dm⁻³: (mol por decímetro cúbico)

nm: (nanômetro)

pH: (Potencial Hidrogeniônico)

SD: (Desvio Padrão)

S: (Soxhlet)

U: (Ultrassom)

UV: (Ultravioleta)

v/v: (Proporção volume por volume)

v/v/v: (Proporção específica, como 2:1:1)

V: (volts)

µL: (microlitro)

µm: (micrômetro)

1.INTRODUÇÃO

O gênero *Quercus* spp, pertencente à família das Fagaceae, revela-se um universo fascinante composto por aproximadamente 300 espécies de árvores que povoam distintos cantos do nosso planeta. Nesse mosaico arbóreo, pode se destacar a *Quercus pyrenaica*, ou carvalho negral, cujos frutos, denominados bolotas, são um tesouro que pode ser empregado na indústria.

A ancestralidade dessas espécies remonta a vastas florestas naturais, hoje preservadas em pequenas áreas onde predominam os carvalhos do gênero *Quercus*. Em Portugal, foram identificadas oito espécies desse gênero, cada uma adaptada a diferentes regiões e condições ecológicas: *Quercus suber* (sobreiro), *Q. faginea*, *Q. pyrenaica/nigra* (carvalho-negral), *Q. ilex/rotundifolia*, *Q. robur*, *Q. canariensis*, *Q. coccifera* e *Q. lusitanica*. Devido às condições ambientais tem sua particularidade na região norte de Portugal abriga florestas densas e diversificadas, onde *Quercus robur* e *Q. pyrenaica* são as espécies mais abundantes (Ferreira-Dias et al., 2003).

A bolota está se tornando uma nova alternativa como um alimento funcional promissor e uma alternativa rica em nutrientes para a indústria alimentícia. Estudos destacam seu valor nutricional e os benefícios que pode oferecer à saúde, seja quando consumida como fruta, transformada em farinha ou utilizada na forma de óleo. Esse crescente reconhecimento tem impulsionado a pesquisa e o desenvolvimento de produtos inovadores que exploram seu potencial, promovendo alternativas saudáveis e competitivas que atendem à demanda por ingredientes naturais e funcionais no mercado (Brochado.F.B.J.I, 2020).

Na área da saúde, a bolota destaca-se como um alimento funcional devido à presença de compostos fenólicos em todas as espécies de *Quercus*. Esses compostos são associados a uma variedade de benefícios para a saúde, incluindo propriedades antioxidantes, antibacterianas, antimicrobianas, antifúngicas, antiinflamatórias, anticancerígenas, antidiabéticas, anti acneicas e cardioprotetoras. Esses efeitos tornam a bolota uma opção promissora para o desenvolvimento de produtos que promovam a saúde e o bem-estar (Monteiro.R.E et all, 2023).

A bolota de *Quercus pyrenaica* tem uma composição nutritiva e bioativa de grande interesse nutricional e funcional. Sua composição rica em carboidratos, lipídios e proteínas, é uma fonte energética relevante. Seus ácidos graxos predominantes incluem oleico, linoleico e palmítico, proporcionando gorduras saudáveis. Além disso, contém compostos antioxidantes, como tocoferóis, e outros fitoquímicos que combatem o estresse oxidativo. A presença de vitaminas e minerais essenciais, como vitamina D (Pinheiro Pacheco.R.A, 2015 ; Fatima. Z, 2018).

O ácido oleico, o principal ácido graxo monoinsaturado presente nas bolotas, pertence à série ômega-9 e é amplamente reconhecido por seus benefícios à saúde cardiovascular. O consumo de alimentos ricos em ácido oleico pode auxiliar na redução dos níveis de colesterol LDL (lipoproteínas de baixa densidade) e do colesterol total, o que contribui para a diminuição do risco de desenvolver doenças cardiovasculares (Tejerina et al., 2011 ; Almeida et al., 2018).

Aplicação do óleo da bolota é uma aposta para um futuro, no desenvolvimento de novos produtos, já que é comprovado que em sua composição possui vitamina A e vitamina E. A vitamina A é muito utilizada em sua forma de retinol, um antioxidante muito utilizado na indústria de cosméticos, já a vitamina E é utilizada para produção de hidratantes (Tejerina et al., 2011 ; Almeida et al., 2018)

Em resumo, o método Soxhlet utilizando hexano mostrou-se eficaz, proporcionando extratos mais concentrados e de alta qualidade. Isso indica que essa técnica pode ser amplamente aplicada em pesquisas de óleos vegetais, especialmente em espécies com potencial bioativo ainda pouco explorado.

2.OBJETIVO

2.1. OBJETIVO GERAL

Efetuar o levantamento e otimização do processo de extração do óleo de bolotas de *Quercus pyrenaica*, com origem no Parque Natural de Montesinho, em Bragança, como fonte de óleo alimentar e avaliação do seu valor nutricional.

2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- a) Avaliar o rendimento da extração do óleo de *Quercus pyrenaica*;
- b) Determinar o melhor método de extração;
- c) Determinar parâmetros de qualidade da extração do óleo;
- d) Determinar a composição química;
- e) Determinar de forma quantitativa a vitamina E e vitamina D;
- f) Determinar as propriedades bioativas do óleo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. GÊNERO *Quercus*

3.1.1. Classificação botânica

O gênero *Quercus* tem sido historicamente importante para os botânicos devido à sua importância na indústria, fornecendo uma gama diversificada de produtos valiosos, como madeira de alta qualidade, cortiça, frutas comestíveis e substâncias utilizadas em processos de curtimento e tinturaria. Além disso, suas espécies frequentemente impressionam pelo seu porte imponente, o que adiciona outro nível de fascínio para aqueles que estudam essas plantas (Coutinho.X.P.A, 1888).

O gênero *Quercus spp.* da família Fagaceae, abrange cerca de 300 espécies de árvores em todo o mundo, produzindo a conhecida bolota, essencial para humanos e animais. As bolotas têm uma longa história de uso nutricional, com destaque para o leste dos EUA, Argélia e Marrocos, onde o óleo de bolota é empregado tanto na culinária quanto como unguento para queimaduras e ferimentos. Esse legado evidencia a importância multifacetada desses frutos na vida humana ao longo do tempo (Bainbridge, 2001).

Durante a época romana e antes disso, as bolotas eram amplamente utilizadas como alimento na região mediterrânea, especialmente durante períodos de escassez de alimentos. No entanto, ao longo do tempo, o consumo humano regular de bolotas diminuiu significativamente, e atualmente elas são principalmente consumidas por animais de pastoreio. A espécie *Quercus pyrenaica* é uma espécie de carvalho muito comum na Espanha e Norte de Portugal, em que a bolota também é utilizada para alimentação animal e humana. (Lassoued.R, Abderrabba e M, Mejri.j, 2018, Benyoussef. B, 2022, Martins RB et al, 2022).

As espécies de gênero *Quercus* apresentam uma semelhança notável, pode se dizer que seus frutos, as bolotas têm uma época específica para serem geradas pelo carvalho quando estes atingem sua idade adulta entre 15 a 20 anos de idade. O

embrião é composto por dois cotilédones que incluem o endosperma onde se acumulam as reservas energéticas. Deve-se ressaltar que o embrião é uma parte delicada da constituição da semente que necessita de condições apropriadas para sua germinação (Abreu.A.I.M, 2020).

3.1.2. Origem e distribuição

No mundo antigo, antes da ampla disseminação do cultivo de cereais na Grécia e, posteriormente, em algumas regiões montanhosas da Grécia antiga, os frutos silvestres eram a principal fonte de alimento para as populações. Entre esses frutos, destacavam-se as castanhas, sendo consideradas mais nobres entre as bolotas (Soares. C e Ribeiro.S.G, 2018).

O consumo, algo crucial em tempos em que a manipulação de alimentos precisa ser eficiente. Além disso, as bolotas fornecem nutrientes essenciais, sendo uma fonte acessível de energia em um período anterior à agricultura intensiva. Sua importância se estende além do valor nutricional, pois também oferece flexibilidade em sua utilização, tanto cruas quanto cozidas, sendo um alimento vital para comunidades que dependem dos recursos (Soares. C e Ribeiro.S.G, 2018).

Portugal tem extensas áreas de carvalhos, cujas bolotas eram antigamente consideradas um alimento essencial na Europa, Ásia, Norte de África e Médio Oriente. Atualmente, apenas uma pequena parte é usada na alimentação animal, apesar do potencial desses recursos (Bainbridge, 2001).

Em Portugal, o consumo humano de bolota tem origens pré-históricas e foi amplamente praticado até meados do século XX, especialmente na região do Alentejo, quando a qualidade de vida piorou. A bolota se tornou um alimento alternativo neste período de escassez, se tornando símbolo de esperança (Monteiro.R.E et all, 2023).

No século XX, a alimentação da população portuguesa passou por mudanças significativas em algumas regiões de Portugal. Devido ao agravamento das condições de vida, provocado por fatores adversos como o racionamento de recursos durante a Segunda Guerra Mundial e os efeitos da Guerra Civil Espanhola, a população rural teve que se adaptar. Em um cenário de escassez de alimentos e

simultânea abundância de bolotas, tradicionalmente usadas para alimentação de porcos, esses frutos foram ressignificados e passaram a ser consumidos como substitutos dos cereais, ajudando a suprir a fome (Fonseca.A e Barata.T.F, 2018).

A sua ancestralidade é uma vasta área de floresta natural localizada em pequenos acervos, onde se encontram os carvalhos do género *Quercus*. Foram identificadas oito espécies em Portugal: *Quercus.suber*, *Q.faginea*, *Q.pyrenaica/nigra*, *Q. ilex/rotundifolia*, *Q.robur*, *Q.canariensis*, *Q.coccifera*, *Q.lusitanica*. O norte de Portugal, devido às suas condições ecológicas, apresenta florestas ricas em *Quercus robur* e *Q. pyrenaica* (Ferreira-Dias et al., 2003).

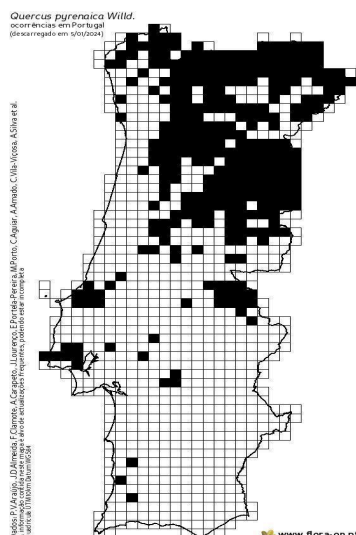


Figura 1 - Mapa da presença de *Quercus pyrenaica* em Portugal
Os pontos pretos no mapa de Portugal, representam as regiões onde se encontram as espécies *Quercus*.

Fonte: Flora.on, 2023

O género *Quercus* de carvalho é muito comum em algumas regiões no mundo, com variações de altura, tamanho de folhas e como a forma de sua bolota e suas propriedades químicas e nutricionais. A tabela 1 nos apresenta diferentes regiões ao redor do mundo que indica as diferentes espécies de *Quercus*.

Tabela 1 - Espécies do gênero *Quercus* no mundo

Região	Espécie
Turquia	<i>Q. pontica</i> <i>Q. robur</i> <i>Q. hatwissiana</i> <i>Q. frainetto</i> <i>Q. petraea</i> <i>Q. vulcanica</i> <i>Q. ithaburensis</i> <i>Q. brantii</i> <i>Q. libani</i> <i>Q. trojana</i>
Espanha	<i>Q. faginea</i> <i>Q. suber</i> <i>Q. pyrenaica</i> <i>Q. coccifera</i> <i>Q. ilex</i>
Portugal	<i>Q. faginea</i> <i>Q. ilex</i> <i>Q. nigra</i> <i>Q. pyrenaica</i> <i>Q. suber</i>
Alergia	<i>Q. aelgilops</i> <i>Q. infectoria</i> <i>Q. calliprinos</i>
Letónia	<i>Q. rubra</i> <i>Q. robur</i>
Sérvia	<i>Q. robur</i> <i>Q. cerris</i>

Fonte: Benyoussef.B, 2022

3.1.3. Especificidades botânicas do *Quercus pyrenaica*

O *Quercus pyrenaica* é um carvalho de tamanho médio, alcançando geralmente de 20 a 25 metros de altura (Figura 2). Suas folhas podem ser caducas ou persistentes, especialmente em árvores jovens e brotos. Elas possuem cortes profundos e irregulares, cobertas por pêlos estrelados em ambos os lados, conferindo uma cor acinzentada e aumentando sua resistência à seca (Figura 3).

Esta espécie é comumente encontrada em solos de origem siliciosa, em altitudes que variam de 400 a 1600 metros, podendo ocasionalmente ser encontrada até 2000 metros (Lorite. J et al., 2013).

A bolota apresenta características específicas como, a falta do endosperma e a presença de um embrião aclorofilado. O gênero *Quercus* apresenta muitas espécies, que têm entre si diferenças na filogenética e nos fatores ecológicos de crescimento. Deve-se ressaltar que entre espécies de carvalho, o tamanho da bolota está positivamente correlacionado com a duração do seu período de desenvolvimento e com as chuvas (Vinha et al., 2016).



Figura 2 - *Carvalho negral*
Fonte: Flora, 2023



Figura 3 - *Folhas e Bolota de Quercus*
Fonte: Flora, 2023

3.1.4. Importância da bolota

A bolota está emergindo como alimento funcional e fonte alternativa de ingredientes valorizados na indústria alimentícia. Seu potencial na nutrição humana, seja como fruta, farinha ou óleo de cozinha, tem sido destacado em estudos

recentes devido ao seu valor nutricional e benefícios para a saúde. Este reconhecimento impulsiona a pesquisa para desenvolver novos produtos saudáveis e competitivos (Brochado. F. B. J. I, 2020).

O potencial na prevenção e tratamento de várias condições de saúde, como distúrbios gastrointestinais (diarreia e indigestão), infecções do trato urinário e da pele, asma e proteção contra a doença de Alzheimer, embora sejam necessários mais estudos para confirmar esses efeitos. Na medicina tradicional, o miolo dessa substância é utilizado como adstringente, antidiarreico e antídoto para mordidas de serpentes (Monteiro. R. E et all, 2023).

Na área da saúde a bolota apresenta ter uma funcionalidade como alimento funcional, por possuir teores de compostos fenólicos, presentes em todas as espécies de *Quercus*. Estes estão associados a ações antioxidantes, antibacterianas, antimicrobianas, antifúngicas, antiinflamatórias, anticancerígenas, anti diabéticas, antiacneicas e cardioprotetoras (Monteiro. R. E et all, 2023).

O consumo de bolotas tem sido registrado desde o século XIV, embora atualmente seja principalmente utilizado na alimentação de suínos. Considerados frutos secos, basicamente classificados como frutos de casca rija, as bolotas possuem níveis significativos de lipídios. Elas podem ser consumidas *in natura*, na forma de farinha ou óleo (Pacheco. P. R. A, 2015).

É crucial encontrar fontes alternativas sem glúten para atender às necessidades dos pacientes celíacos. Considerando que a bolota é um alimento não proteico, destaca-se a importância de utilizar sua farinha na produção de produtos de padaria para esses indivíduos. Embora os produtos sem glúten sejam geralmente considerados de baixo valor nutricional, o uso da farinha de bolota oferece uma alternativa viável (Korus et al., 2015; Kasarda, 2013).

Em decorrência dos avanços nas áreas agrícola e genética, têm surgido propostas promissoras para a utilização de novas culturas selvagens visando a produção de óleos comestíveis. Entre essas opções, as bolotas se destacam como frutos comestíveis altamente valorizados em várias regiões do Mediterrâneo, encontrando aplicação na culinária, na indústria cosmética e na medicina tradicional. Embora a maioria das espécies apresenta teores de óleo que não ultrapassam os 12%, estudos recentes têm revelado exceções a esse padrão, com alguns

exemplares chegando a apresentar teores mais elevados, chegando a 30% em determinadas condições (Pacheco. P .R .A, 2015).

3.1.5. Composição geral

As bolotas de *Quercus pyrenaica* possuem uma composição rica em nutrientes e compostos bioativos, tornando-a um alimento de interesse tanto nutricional quanto funcional. Em geral, a bolota é composta por uma alta porcentagem de carboidratos, seguida por lipídios e proteínas, o que contribui para seu valor energético (Pacheco.R.A, 2015). Seus ácidos graxos predominantes incluem ácidos oleico, linoleico e palmítico, destacando-a como uma fonte de gorduras saudáveis. Além disso, é rica em compostos antioxidantes, como tocoferóis (vitamina E) e outros fitoquímicos que desempenham um papel protetor contra o estresse oxidativo. A bolota também apresenta vitaminas e minerais essenciais, incluindo vitamina D, cálcio, potássio e magnésio, que são importantes para a saúde óssea e a função imunológica. Essa composição torna a bolota de *Quercus pyrenaica* um alimento de alto potencial para aplicações na alimentação e em produtos nutracêuticos (Pinheiro Pacheco.R.A, 2015 ; Fatima. Z, 2018).

Em termos de compostos fenólicos, estão presentes na bolota, ácido elágico e seus derivados e ácido gálico e seus derivados (como derivados galoi- e ésteres hexa-, hidroxí-, difenílicos de glicose e O- ou C- glicosídeos) e vários flavonóides, substâncias que podem trazer muitos benefícios ao ser humano. Estes compostos são essenciais, com alta capacidade de serem agentes antioxidantes, estando ligados a uma diminuição do risco de doenças cardiovasculares, doenças inflamatórias, diabetes, alguns tipos de câncer, infecção microbiana, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e outras doenças. (Vinha et al., 2016).

Os compostos fenólicos estão intrinsecamente ligados com as propriedades antioxidantes, essenciais para retardar a oxidação de compostos vitais na vida, impedindo a iniciação ou propagação de reações em cadeia. Essa atividade é crucial na prevenção da oxidação de alimentos, medicamentos e cosméticos, além de desempenhar um papel fundamental na proteção contra diversas doenças, como câncer, doenças cardiovasculares, inflamatórias, neurodegenerativas e autoimunes

(Pinheiro Pacheco. R. A, 2015).

Os minerais presentes nas bolotas, como flúor, cobre, zinco, manganês, cálcio, magnésio, fósforo e potássio, desempenham papéis cruciais em processos metabólicos, atuando como cofatores enzimáticos essenciais para a digestão, absorção e fornecimento de energia. A composição do solo, o clima e a flora microbiana podem influenciar significativamente o teor de minerais nas bolotas, afetando assim seus atributos sensoriais e valor nutricional (Pacheco. P. R. A, 2015).

As bolotas são reconhecidas como uma fonte rica de vitaminas, especialmente A e E, além de fitosteróis, com destaque para o β -sitosterol, e álcoois alifáticos, principalmente tetracosanol. Estudos sugerem que uma dieta contendo fitosteróis, que possuem uma estrutura química semelhante ao colesterol, pode reduzir a absorção de colesterol e os níveis de colesterol no sangue, competindo pela absorção nos intestinos (Brochado Ferreira. B. J. I, 2020).

Nos últimos tempos, o óleo de bolota tem despertado um interesse renovado, principalmente devido às suas propriedades distintas, incluindo a presença de vitaminas lipossolúveis em sua composição. Este foco renovado tem suscitado um olhar mais atento para o potencial nutricional e as possíveis aplicações dessas sementes em diversos campos, destacando sua relevância em estudos e pesquisas relacionados à saúde e à alimentação.

3.1.5.1. Ácido graxos

As bolotas de *Quercus pyrenaica*, o carvalho-negral, apresentam um perfil lipídico diversificado e interessante do ponto de vista nutricional e industrial. Ricas em ácidos graxos, especialmente monoinsaturados, as bolotas têm despertado interesse pelo seu potencial em produtos alimentícios e na alimentação animal, proporcionando benefícios tanto para a saúde humana quanto para a qualidade dos produtos derivados. O principal ácido graxo monoinsaturado encontrado nas bolotas é o ácido oléico (C18:1n-9), da série ômega-9, conhecido por suas propriedades benéficas à saúde cardiovascular (Figura 4). O consumo de alimentos ricos em ácido oleico ajuda a reduzir os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol) e o colesterol total, o que pode contribuir para a redução do risco de

doenças cardiovasculares. Em estudos sobre alimentação animal, a carne de porcos criados com dietas à base de bolotas apresentou uma proporção elevada de ácido oleico e uma redução nos ácidos graxos saturados, como o ácido palmítico (C16:0) e o ácido esteárico (C18:0). Essa modificação no perfil lipídico torna a carne mais saudável e atrativa para o consumo humano, além de influenciar positivamente o sabor dos produtos finais (Tejerina et al., 2011 ; Almeida et al., 2018).

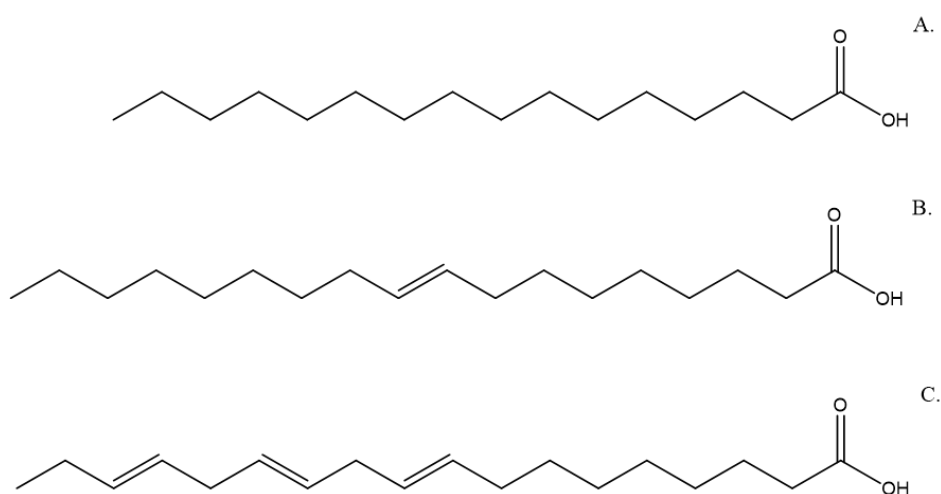


Figura 4 .Ácidos graxos mais abundantes na bolota.
A: ácido palmítico; B: ácido oleico; C: ácido linolênico.

O ácido linolênico (C18:3), (Figura 4), da série ômega-3, é outro componente importante nas bolotas de *Quercus pyrenaica*. Este ácido graxo poli-insaturado é essencial para a saúde humana, mas não pode ser sintetizado pelo organismo, devendo ser obtido pela dieta. Fontes comuns incluem vegetais como soja, linhaça e nozes . A presença de ácido linolênico nas bolotas agrega valor nutricional e promove um perfil lipídico saudável (Norris, 2021).

Os ácidos graxos relevantes, incluem o ácido tetradecanóico (C14:0), também conhecido como ácido mirístico. Este ácido graxo saturado de 14 carbonos é comumente encontrado em alimentos de origem vegetal e animal, como na noz-moscada, e é utilizado pela indústria alimentícia como um componente de sabor.

No entanto, em sua forma pura, pode causar irritação na pele e nos olhos. O ácido araquídico (C20:0), um triglicerídeo de cadeia longa, também está presente nas bolotas, conferindo estabilidade oxidativa ao óleo e aumentando seu potencial para aplicações industriais (Burdock & Carabin, 2006; Callegari, 2015; Antoniassi & Freitas, 2021).

Os ácidos palmítico (C16:0), (Figura 4), e esteárico (C18:0) desempenham papéis importantes na indústria de laticínios. Quando suplementados na alimentação de ruminantes, como vacas e ovelhas, contribuem para o aumento da produção e do teor de gordura do leite, o que é especialmente vantajoso para a produção de derivados lácteos com alto teor de gordura (Loften et al., 2014).

O ácido palmitoleico (C16:1), um ácido graxo monoinsaturado também chamado de ácido n-hexadecano, é amplamente aplicado nas indústrias farmacêutica e de biotecnologia devido às suas propriedades bioativas, destacando-se como um ingrediente valioso em produtos de saúde e cosméticos (Abreu, 2017).

O ácido linoleico (C18:2), da série ômega-6, é encontrado em óleos vegetais como os de semente de linho, soja e canola. Pesquisas apontam que o ácido linoléico tem a capacidade de inibir a carcinogênese em animais de laboratório, sugerindo um potencial efeito protetor contra o câncer. Essa propriedade, somada aos benefícios conhecidos dos ácidos graxos ômega-6 na modulação de processos inflamatórios e na saúde do sistema imunológico, torna o ácido linoleico um componente relevante para a indústria de alimentos funcionais (Zacarchenco, 2012).

O perfil de ácidos graxos das bolotas de *Quercus pyrenaica* revela seu alto valor nutricional e potencial de aplicação em diversas indústrias, incluindo a alimentícia, cosmética, farmacêutica e até na biotecnologia (Tabela 2). Esse conjunto de ácidos graxos não apenas beneficia a saúde humana, mas também contribui para a valorização de produtos derivados, ampliando o aproveitamento sustentável dessa espécie em ecossistemas mediterrâneos e promovendo uma integração entre natureza e inovação industrial.

Tabela 2 - Ácidos graxos encontrados na extração por soxhlet utilizando solvente hexano do óleo de Bolota da espécie *Quercus pyrenaica*

Nome	Fórmula química	Quantidade (%)
Ácido tetradecanóico	C:14:0	0,18
Ácido palmítico	C16:0	12,17
Ácido esteárico	C18:0	3,23
Ácido eicosanoico	C20:0	0,54
Ácido palmítico	C16:1	0,38
Ácido oleico	C18:1	57,46
Ácido Linoleico	C18:2	21,30
Alfa Linolênico	C18:3	0,80

Fonte: Taib.M et al, 2020

3.1.5.2. Vitaminas D

A vitamina D é uma vitamina lipossolúvel, importante pois ela pode ser encontrada em diversas fontes de alimentos, além de poder ser absorvida por meio da sintetização da luz do sol. Ela pode ser encontrada em 2 formas primárias de vitamina D são D2, ergocalciferol e D3, colecalciferol. O ergocalciferol pode ser obtido de fontes vegetais, enquanto o colecalciferol pode ser obtido de alimentos de origem animal e exposição à luz solar (Ming. C, et al, 2016).

A vitamina D exerce funções semelhantes às dos hormônios esteróides e tireoidianos, com efeitos tanto genéticos quanto não-genômicos. No intestino, ela facilita a absorção rápida de cálcio (Ca^{2+}), enquanto nos osteoblastos promove a ativação de canais de cloreto (Cl^-). Além disso, a vitamina D está envolvida na secreção de insulina pelas células β -pancreáticas e na regulação da migração celular em células musculares lisas e endoteliais, desempenhando um papel crucial em vários processos fisiológicos (Ferraz. L, et al, 2018).

A Tabela 3 apresenta um estudo conduzido por Laleye et al. (2009), que avaliou a presença e a concentração de vitamina D em diferentes tipos de óleos vegetais. Os óleos analisados foram obtidos por meio do método de extração Soxhlet. Este estudo destaca as variações na composição de vitamina D entre os

óleos, fornecendo dados relevantes para sua aplicação nutricional e industrial. Em sequência a tabela 3.

Tabela 3 - Estudo de análises de vitamina D em diferentes tipos de óleos

Tipo de amostra	Número de amostras analisadas	Média (mg/100 g)
Óleo de palmoleína	7	2,18
Óleo de girassol	4	1,82
Óleo hidrogenado	3	3,51

Fonte: Laleye et al. 2009

3.1.5.3. Vitaminas E

A vitamina E, embora essencial, difere da maioria dos nutrientes por não desempenhar um papel específico nas funções metabólicas. Sua principal função biológica é atuar como um antioxidante inespecífico, combatendo radicais livres e interrompendo reações oxidativas. Além disso, tem propriedades imunomoduladoras e pode influenciar a expressão gênica ao modular enzimas envolvidas na transdução de sinal (Galmes & Palou, 2018; Alonso et al., 2018).

A vitamina E, composta por oito vitâmeros (quatro tocoferóis e quatro tocotrienóis), um detalhe importante é que é exclusivamente sintetizada por plantas. Ela desempenha um papel crucial na proteção contra os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio, exercendo um papel como antioxidante natural. É importante ressaltar a valorização na preservação de produtos alimentícios devido às suas propriedades antioxidantes (Yoshida et al. 2003). As estruturas dos quatro tocoferóis estão na Figura 5.

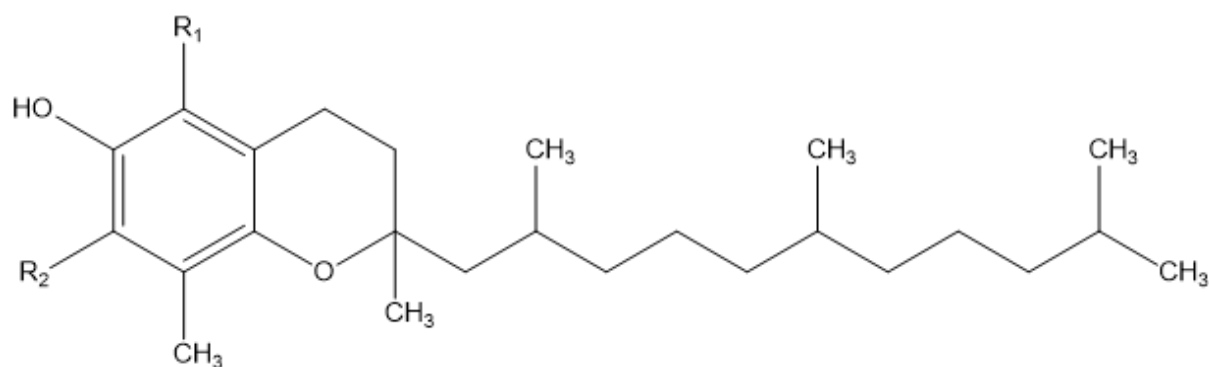
A tabela abaixo apresenta dados do estudo realizado por (Taib et al. 2020), que investigou a quantidade de tocoferóis presentes na vitamina E na espécie *Quercus pyrenaica*. Os resultados destacam a concentração de diferentes isômeros de tocoferóis, fornecendo informações relevantes sobre o perfil antioxidante desta espécie e contribui para a valorização dos óleos derivados de *Quercus pyrenaica* como fontes naturais de compostos bioativos, particularmente de vitamina E. A

vitamina E pode ser apresentada os seus respectivos valores na tabela 4.

Tabela 4 - Compostos que formam a Vitamina E extraídos do óleo da espécie *Quercus pyrenaica*.

Composto	mg/kg
α -Tocoferol	10,25
β -Tocoferol	0
γ -Tocoferol	21,44
ω -Tocoferol	0,60

Fonte: Taib.M et al, 2020



R ₁	R ₂	Tocoferol
CH ₃	CH ₃	A
CH ₃	H	B
H	CH ₃	Γ
H	H	Δ

Figura 5 - Estrutura tocoferóis

3.1.5.4. Importância e aplicação do óleo de bolota

O óleo de bolota, extraído de espécies do gênero *Quercus*, possui diversas aplicações, principalmente na área alimentícia. Ele é amplamente utilizado como substituto do azeite devido às suas características organolépticas semelhantes e é um ingrediente tradicional na culinária regional de algumas regiões de Portugal. Estudos realizados na Turquia com diferentes espécies de *Quercus* revelaram uma composição rica em ácidos graxos, como ácido oleico, linoleico e palmítico, além de compostos antioxidantes e tocoferóis. Além de seu valor nutricional, o óleo de bolota também apresenta grande potencial na indústria cosmética, sendo aplicado na formulação de cremes hidratantes, antioxidantes e até em produtos inovadores, como sérums ou águas micelares, devido às suas propriedades hidratantes e regeneradoras (Fátima Z. Makhoulouf, Giacomo Squeo et al, 2018).

Pesquisas mais aprofundadas corroboram com a viabilidade de utilizar o óleo extraído das amêndoas das bolotas na produção de biodiesel. Apresenta compostos de relevância, tais como ácido láctico, bioetanol e biobutanol, fortalecendo seu potencial para contribuir significativamente para a indústria de biocombustíveis. (Paweł G, Magdalena R, Anna Grygier et al 2019).

As bolotas são amplamente valorizadas no Mediterrâneo por seu uso em culinária, cosmética e medicina tradicional. Estudos mostram que o teor de óleo desses frutos geralmente não ultrapassa 12%, embora investigações mais antigas relatem teores de até 30%. O óleo extraído das bolotas possui características físico-químicas e nutricionais semelhantes ao azeite, incluindo cor, índice de saponificação, coeficiente de extinção UV e perfil lipídico. Além do valor nutricional, destaca-se pela excelente estabilidade oxidativa. O perfil de ácidos graxos das espécies *Quercus suber* e *Quercus ilex* é comparável ao de óleos edíveis como os de girassol, amendoim, abacate e azeite, e também ao óleo de lentisco, ressaltando seu potencial como alternativa sustentável para a produção de óleos comestíveis e funcionais (Pacheco. P .R .A, 2015).

3.2. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO

3.2.1. Método de extração por prensa a frio

O óleo de bolota pode ser extraído por diferentes métodos, sendo a prensagem a frio um dos mais conhecidos. Esse processo utiliza uma pressão de 0,5 MPa (figura 6) e é considerado o método mais viável, pois consome menos energia em comparação com outras técnicas de extração. No entanto, uma desvantagem dessa abordagem é que, em algumas espécies de bolota, o teor de óleo pode ser relativamente baixo, como no estudo (Taib. M et al, 2020) o teor de óleo das espécies de bolota variou de 5% a 20%, dependendo da variedade e da localização da amostra coletada exigindo uma quantidade maior de bolotas para se obter um volume satisfatório de óleo (Taib. M et al, 2020).



Figura 6 - Prensa hidráulica

3.2.2. Método de extração por soxhlet

A extração por Soxhlet (figura 7) utiliza solventes orgânicos, como hexano e éter de petróleo, que são utilizados para a obtenção de óleo de bolota. Esta

metodologia, empregada há mais de um século, é considerada altamente eficiente. Entre suas principais vantagens estão a simplicidade do processo, que não requer filtração após a etapa de lixiviação, e o baixo consumo de energia. No entanto, o uso de solventes tóxicos representa um desafio, pois são difíceis de eliminar completamente, o que pode resultar em uma contaminação significativa dos produtos finais (Taib. M et al, 2020).



Figura 7 - Sistema de extração Soxhlet

É um sistema de extração sólido-líquido amplamente utilizado em laboratório para obter compostos solúveis de materiais sólidos, sendo eficiente e ideal para análises de óleos e gorduras.

3.2.3. Método de extração por ultrassom

Entre as técnicas modernas utilizadas, a extração assistida por ultra-sons figuras 8 e 9, destaca-se por empregar ondas de alta frequência que geram bolhas cavitacionais. Essas bolhas causam rupturas na parede celular das plantas,

facilitando a liberação das substâncias intracelulares para o solvente. Além disso, essa técnica tem se mostrado eficaz como um método de intensificação no processo de extração de óleo de amêndoa, melhorando tanto a eficiência quanto a qualidade do produto final. A vantagem dessa extração é que ela é mais rápida, porém é necessário se fazer várias repetições para se obter um resultado significativo (Oliveira. L. C, et all, 2018).

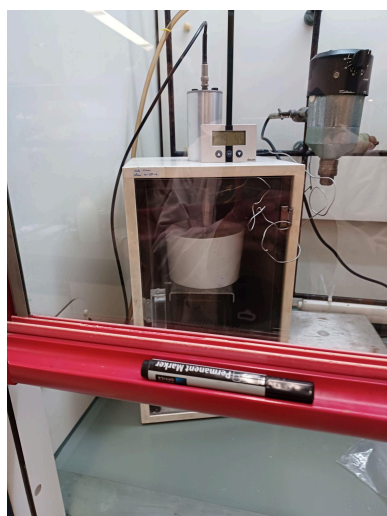


Figura 8 - Sistema de extração ultrassom



Figura 9 - Sistema de extração ultrassom

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Instituto Politécnico de Bragança. As análises serão realizadas nos laboratórios do Centro de Investigação de Montanha (a definir conforme infraestrutura e disponibilidade).

4.1. MATERIAL

As amostras de bolotas de *Quercus pyrenaica*, 500g, foram coletadas no Parque Natural de Montesinho, em diferentes localidades do concelho de Vinhais, no estágio final de maturação, em outubro de 2023. Após a coleta, as amostras foram imediatamente congeladas a -20 °C para posterior extração e análise. Posteriormente, retirou-se o pericarpo e a cúpula às bolotas e os frutos foram de seguida trituradas utilizando um processador (modelo Bimby, TM6, marca Vorwerk), em dois estágios distintos: uma parte foi moída até se obter grãos e a outra até se transformar em farinha. Após a trituração, ambas as amostras foram liofilizadas (tipo de liofilizador, Telstar modelo LYOQUEST-55 PLUS) e, em seguida, armazenadas em um refrigerador. As amostras permaneceram armazenadas à temperatura ambiente até o momento da extração final.

4.2. EXTRAÇÕES

4.2.1. Extração do óleo de bolota

4.2.1.1. Extração por Soxhlet

No processo de extração utilizando o equipamento Soxhlet (marca Behrotest, *NF ISO 8262-3, 2006*), foi utilizado o solvente hexano. Para cada extração foram colocados 10 g de bolota tritura em grânulos nos cartuchos (figura 10) de Soxhlet e colocado dentro do dedal do aparelho. Foram adicionados no equipamento 90 mL de solvente hexano. O sistema foi aquecido até atingir a temperatura de ebulição do

solvente (70°C para hexano) em banho-maria foram deixados por 6 h. O solvente foi evaporado a pressão reduzida a 40°C até o peso constante. Após o processo de extração as amostras de óleo (figura 11) foram colocadas no rota-evaporador em uma temperatura de 70 °C e em uma rotação de com temperatura de 40°C para evaporar todo o hexano presente no óleo. Após obter o óleo, as amostras em triplicata foram pesadas para cálculo dos rendimentos de extração (Brochado. F. B. J. I, 2020).

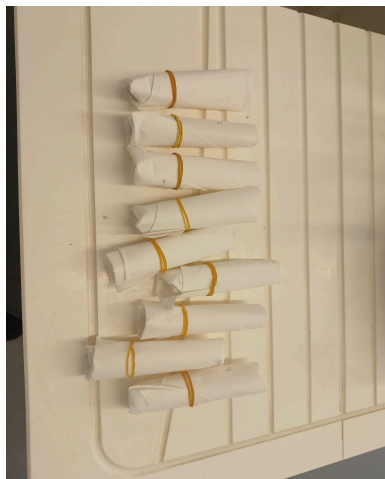


Figura 10 - Cartuchos preparados para a extração de soxhlet.



Figura 11 - Óleo de Bolota

4.2.1.2. Extração por prensa a frio

Foi utilizado uma prensa hidráulica (figura 12) para a extração do óleo de forma mecânica das sementes das amostras. O equipamento está disponível no laboratório de química do Centro de Investigação de Montanha do Instituto Politécnico de Bragança (IPB). Trata-se de um pistão acionado hidraulicamente para comprimir a matéria prima disposta em um cilindro com um orifício que sairá o óleo, pode ser utilizado o calor para que o processo.



Figura 12 - Sistema de prensa

4.2.1.3. Extração por Ultrassom

O óleo de bolota foi extraído usando uma solução de hexano 50% (v/v) na proporção de 1:60 (m). Para o procedimento, os beakers contendo 6,3g bolotas trituradas e o solvente foram colocados em um banho ultrassônico (Q1.8/40, ECOSONICS) figura 13 e 14 com temperatura controlada de 45°C e frequência ultrassônica de 40 kHz. A extração foi realizada em triplicata, com durações de 15 (T15) e 30 (T30) minutos. Após o banho ultrassônico, a solução foi filtrada com papel filtro e o líquido resultante foi para o rota-evaporador (figura 15) e depois armazenado em temperatura ambiente no laboratório (Sganzerla.M, 2009).

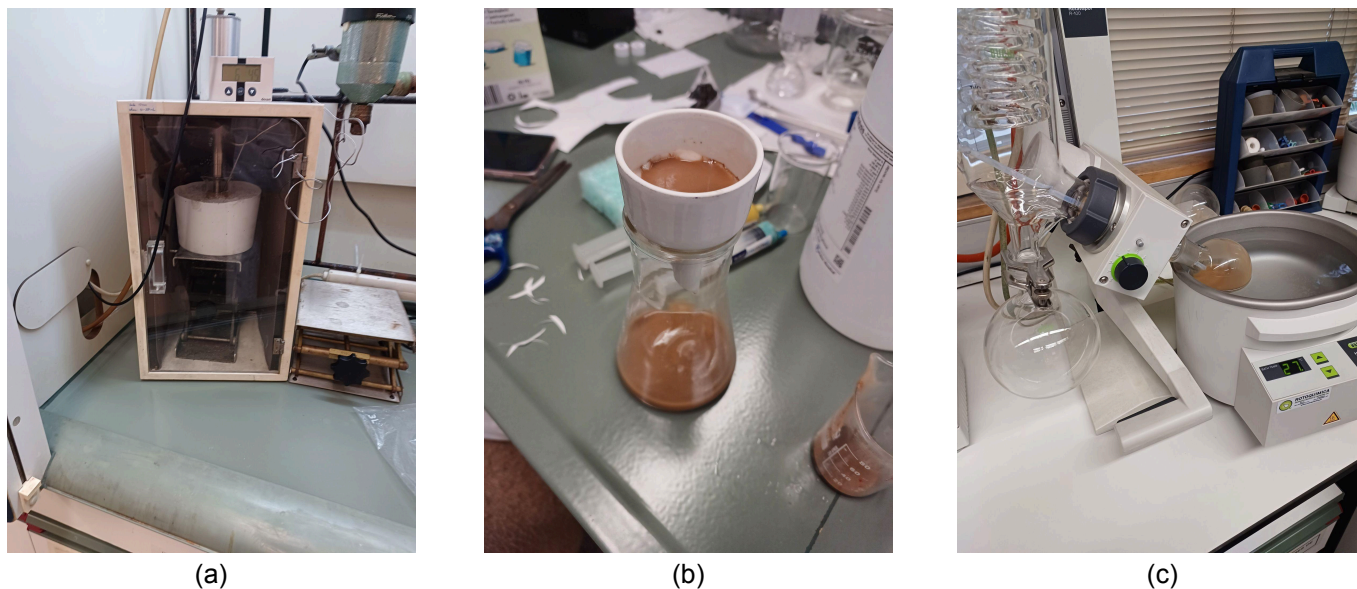


Figura 13 - Processo de separação entre hexano e óleo

(a - Sistema de *ultrassom*; b - Sistema de *filtração*; c - Sistema de *evaporador*)

4.2.2. Determinação de ácidos graxos

Os ácidos gordos foram determinados por cromatografia gasosa acoplada a um detetor de ionização por chama (GC-FID, instrumento DANI modelo GC 1000, Milão, Itália), conforme descrito por Barros et al. (2013). O extrato lipídico obtido após extração por Soxhlet (ver subtítulo 4.3.1.) foi submetido a um processo de derivatização para obtenção de ácidos gordos passíveis de volatilização, denominados FAME (Fatty acid methyl ester – ésteres metílicos de ácidos gordos). Para isso, ao extrato lipídico foi adicionado 5 mL de uma solução de metanol/ácido sulfúrico/tolueno na proporção 2:1:1 (v/v/v), e colocado em banho-maria a 50 °C durante 12 horas sob agitação de 160 rotações por minuto (rpm). Após o qual, com o intuito de potencializar a separação das fases, foi adicionado 3 mL de água destilada e 3 mL de éter etílico no qual se dissolveram os FAME. Para eliminar qualquer

resíduo de água, o sobrenadante foi colocado em contacto com uma pequena porção de sulfato de sódio anidro, recuperando-se a amostra e filtrando-a (filtro de nylon 0,2 µm) para um vial com tampa de membrana de teflon. A identificação do perfil de ácidos gordos foi feita através de um sistema GC (Modelo DANI GC 1000) equipado com um injetor split/splitless, detetor de ionização de chama (FID, 260 °C) e uma coluna Macherey-Nagel (30 m × 0,32 mm × 0,25 µm df). O forno foi programado com os seguintes parâmetros: a temperatura inicial da coluna foi 100 °C, durante 2 min; em seguida, aumentou-se a temperatura a 10 °C/min até 140 °C, 3 °C/min até 190 °C, 30 °C/min até 260 °C durante 2 min. O hidrogénio (gás de transporte) tinha um caudal de 4,0 mL/min (0,61 bar), medido a 50 °C. A injeção split (1:50) foi realizada a 250 °C. Para cada análise injetou-se 1 µL da amostra. A identificação de ácidos gordos foi feita com base nos tempos de retenção relativos dos picos da mistura padrão de 37 FAMES e das amostras. Para o processamento dos resultados utilizou-se o programa software Clarity 4.0.1.7 (DataApex, Podohradská, República Checa), tendo sido expressos os resultados em percentagem relativa (%) de cada ácido gordo detectado.

4.2.3. Determinação de vitaminas

4.2.3.1. Análise do conteúdo em tocoferóis

Preparação das amostras

O processo de quantificação de α , β , γ e δ -tocoferol foi realizado a partir de soluções preparadas dissolvendo-se extratos em uma mistura contendo ácido sulfúrico (H₂SO₄), eletrólito de suporte (perclorato de tetrabutylamônio) e hexano. A proporção final entre hexano e etanol foi de 4:6 (v/v), com concentração de extrato ajustada para 2 mg/mL. Essas soluções foram analisadas por voltametria de impulso diferencial (DPV), utilizando uma faixa de potencial de 0 a 1 V, com uma velocidade de varredura de 0,03 V/s e amplitude de impulso de 0,06 V. A quantificação foi baseada na intensidade dos picos de oxidação observados nos voltamogramas, os quais foram comparados com curvas de calibração de padrões comerciais de

α -tocoferol ($y=0,0474x+0,1282$; $R^2=0,997$), β , γ -tocoferol ($y=0,0482x+0,365$; $R^2=0,98$) e δ -tocoferol ($y=0,0209x+0,0091$; $R^2=0,999$), dentro de um intervalo de concentração de 1 a 20 $\mu\text{g/mL}$ (Cardoso, R. V. C.; Fernandes, et al, 2021).

Condições eletroquímicas

A análise da composição de vitamina E, incluindo os isômeros α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol e δ -tocoferol, foi realizada no óleo de bolota da espécie *Quercus pyrenaica* utilizando voltametria de impulso diferencial (DPV). Esta técnica, conhecida por sua alta sensibilidade na detecção de tocoferóis, já foi amplamente utilizada em estudos com outros extratos naturais. As medições eletroquímicas foram realizadas com o auxílio de um potenciostato/galvanostato Autolab® PGSTAT 302, controlado por um software especializado (GPES - General Purpose for Electrochemical Systems) da Autolab®. O sistema de medição foi montado em uma célula eletroquímica de três eletrodos. O eletrodo de referência foi de Ag/AgCl saturado com KCl (3 mol.dm^{-3}) (figura 16), fornecido pela Methrom, enquanto o eletrodo de trabalho consistia em um carbono vítreo com uma área de $0,314 \text{ cm}^2$, fabricado pela Bioanalytical Systems. Para o contra-eletrodo, foi utilizada uma folha de platina. Esse arranjo permitiu uma análise precisa dos processos redox dos tocoferóis no extrato (figura 17), facilitando a quantificação desses compostos essenciais para avaliação da vitamina E no óleo de bolota da espécie *Quercus pyrenaica*.

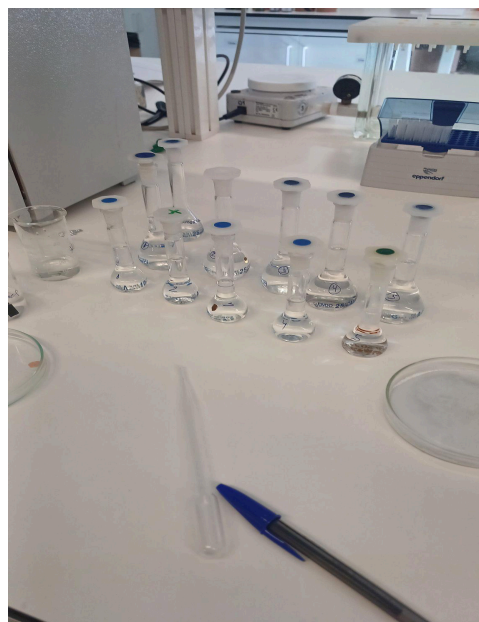
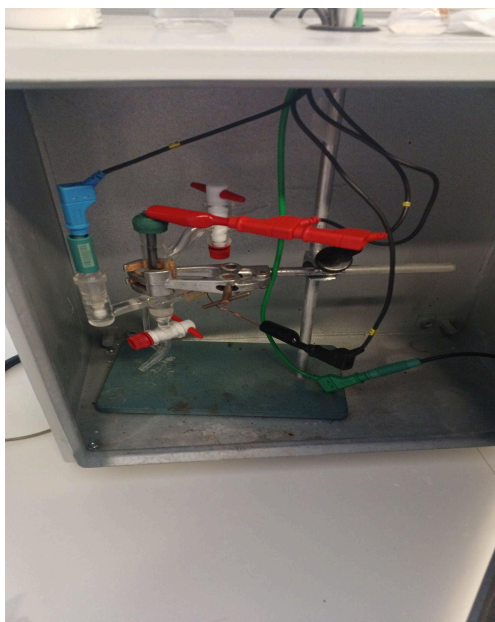


Figura 14 - Célula eletroquímica usada para medição Figura 15 - Soluções diluídas óleo de bolota

Antes de cada utilização, o eletrodo de trabalho de carbono vítreo foi submetido a um rigoroso processo de limpeza para garantir a integridade das medições eletroquímicas. Inicialmente, o eletrodo foi polido com uma suspensão aquosa de alumina ($0,3 \mu\text{m}$, Beuhler) sobre um disco de lixa fina Master-Tex (Beuhler), seguido de lavagem com água deionizada. Em seguida, foi realizado um tratamento químico em duas etapas. O eletrodo foi imerso em uma solução de HCl $6 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ por 1 minuto, seguido de imersão em metanol (MeOH) por mais 1 minuto, ambos em um banho de ultrassom. Este procedimento foi repetido antes de cada medição para garantir a remoção eficiente de quaisquer substâncias orgânicas adsorvidas na superfície eletroativa, assegurando assim a precisão e a reprodutibilidade das análises voltamétricas.

4.2.3.2. Análise de vitamina D

O óleo (0,5 g) foi pesado em microtubos em uma balança analítica. Posteriormente, 500 μL de solvente de extração (metanol/2-propanol, 50:50) foram adicionados à

amostra, que foi agitada em vórtex por 1 minuto e, em seguida, centrifugada por 5 minutos a 4000 rpm. A fase superior foi então transferida para outro frasco, com a extração sendo repetida duas vezes. A solução obtida foi evaporada sob nitrogênio gasoso, reconstituída com 200 µL de metanol e injetada no sistema de HPLC-UV para análise (Cardoso, R. V. C.; Fernandes, et al, 2021).

Condições do HPLC-UV

O sistema de HPLC (sistema Knauer, Smartline 1000, Berlim, Alemanha) acoplado a um detector de UV (Knauer Smartline 2500) foi usado nas mesmas condições descritas e otimizadas por Barreira et al. A separação cromatográfica foi realizada com uma coluna de fase reversa Inertsil 100A ODS-3 (5 µm, 250 × 4,6 mm, BGB Analytik AG, Boeckten, Suíça) a 35 °C. A fase móvel utilizada foi acetonitrila/metanol (70:30, v/v) a uma taxa de fluxo de 1 mL/min, com um volume de injeção de 20 µL e comprimento de onda de 280 nm. Posteriormente, os resultados foram analisados usando o software Clarity 2.4 (DataApex, Pod Ohradská, República Tcheca). A vitamina D2 foi quantificada com base em uma curva de calibração obtida de um padrão comercial de vitamina D2, e os resultados foram expressos em µg por g de peso seco (dw) (Cardoso, R. V. C.; Fernandes, et al, 2021).

4.2.4. Determinação de atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi medida por dois testes, o primeiro utilizando o radical DPPH e o segundo pelo poder redutor.

4.2.4.1. Atividade antioxidante através do radical DPPH

O ensaio de eliminação do radical livre DPPH foi realizado conforme Tomás et al.,2003, com modificações. Foram utilizados 0,15 mL de óleo em concentrações de 0,03 a 0,43 mg/mL, misturados com 0,15 mL de DPPH (50 mg/L). A absorbância

foi medida a 515 nm em um leitor de microplacas, e a inibição do radical foi calculada pela fórmula: % de inibição = $[(ADPPH - ASample) / ADPPH] \times 100$. O valor de EC_{50} , necessário para reduzir a concentração de DPPH em 50%, foi obtido através da curva de inibição em função da concentração do extrato.

4.2.4.2. Poder redutor

O ensaio de poder redutor, baseado em Falcão et al., utilizou 0,25 mL de extrato etanólico (1 mg/mL) misturado com tampão fosfato e ferricianeto de potássio. Após aquecimento a 50 °C por 20 minutos, foi adicionado ácido tricloroacético a 10%, seguido de centrifugação. A parte superior da solução foi misturada com água e $FeCl_3$, com leitura de absorbância a 700 nm. O ácido gálico foi o padrão de referência, e os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de amostra seca (mg GAE/g).

O ensaio foi conduzido com extrato etanólico a uma concentração de 1 mg/mL. Inicialmente, 0,25 mL da amostra foi combinada com 1,25 mL de tampão fosfato (0,2 M, pH 6,6) e 1,25 mL de solução de ferricianeto de potássio a 1%. Essa mistura foi mantida em banho-maria a 50 °C por 20 minutos para permitir as reações necessárias. Após esse período, foi adicionada uma solução de ácido tricloroacético a 10% (1,25 mL), seguida de centrifugação a 3000× g por 10 minutos, utilizando um centrifugador da série Centurion K2R (Chichester, Reino Unido) (Falcão et al, 2017).

Após a centrifugação, a camada superior resultante foi cuidadosamente retirada, e 1,25 mL dessa fração foi misturada com 1,25 mL de água deionizada e 0,25 mL de uma solução de cloreto férrico ($FeCl_3$) a 0,1%. A absorvância da mistura foi medida a 700 nm utilizando um espectrofotômetro, sendo o ácido gálico utilizado como padrão de referência. Os resultados finais foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de peso seco da amostra (mg GAE/g), indicando a capacidade antioxidante do extrato analisado (Falcão et al, 2017).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho envolveram a aplicação de três métodos de extração: prensa, soxhlet e ultrassom. Após a realização das extrações, foi realizada uma análise detalhada de cada método, com o objetivo de determinar a quantidade de óleo obtido de forma eficiente. A comparação entre os métodos permitiu identificar qual técnica proporcionou a maior recuperação de óleo, considerando a quantidade significativa necessária para análises posteriores. Os dados obtidos a partir dessas análises fornecem informações essenciais sobre a eficácia de cada método, contribuindo para a escolha da técnica mais adequada para a extração de óleos de *Quercus pyrenaica*

5.1. EXTRAÇÕES MECÂNICA, SOXHLET E ULTRASSOM

5.1.1. Extração mecânica

A extração mecânica realizada com bolotas trituradas não resultou na obtenção de óleo de bolota. Em vez disso, o processo produziu uma massa residual úmida, caracterizada como uma torta, sem sinais perceptíveis de óleo. Esse resultado pode estar associado a fatores como o teor de óleo da própria espécie que já é baixo (Bermejo. S. C. M. S, 2014).

5.1.2. Extração soxhlet

Após a otimização das condições de extração do óleo por extração de soxhlet, onde foram testados dois valores distintos de quantidade de amostra, a em sequência a Tabela 5, verificou-se que durante o processo de extração de óleo de bolota, foram utilizadas aproximadamente 500 g de matéria-prima com tempo de 5 horas em ambos os processos de extração, resultando em um rendimento final de 3,8 mL de óleo. Esse valor reflete um teor de óleo relativamente baixo, indicando uma baixa eficiência de extração para essa amostra específica. A operação

demandou um consumo significativo de hexano, totalizando 7,5 L ao longo do processo.

Tabela 5 - Extração por soxhlet rendimento de óleo de bolota de *Quercus pyrenaica*

Quantidade (g) de bolota em grânulos	Média de teor de óleo (%)
5	3,52± 0,37
10	4,57±0,04

Esse consumo elevado não apenas elevou os custos operacionais, mas também impactou negativamente a viabilidade econômica e ambiental do processo. Além disso, o tempo investido na extração foi desproporcional ao volume de óleo obtido, reforçando a necessidade de otimização das condições de processo, seja em termos de concentração de solvente, temperatura ou tempo de extração, com vistas a aumentar a eficiência de recuperação de óleo. Avaliar outras metodologias, como o uso de extração assistida por ultrassom ou métodos de extração a frio, pode ser fundamental para melhorar a viabilidade do processo.

No processo de extração de óleo da bolota *Quercus pyrenaica*, os testes com 5 g e 10 g de bolota foram promissores para avaliar o teor de óleo. O melhor rendimento foi obtido com 10 g, que resultou em 4,57% de teor de óleo, sendo observada maior eficácia de extração ao usar pó de bolota em comparação aos grânulos.

Existem estudos na literatura sobre a extração de óleo de bolota, especialmente com espécies da mesma família. Um estudo realizado na Argélia, por exemplo, utilizou a espécie *Quercus suber* e obteve um rendimento de 9% de óleo com a mesma metodologia de extração por soxhlet. Em comparação, o processo com a *Quercus pyrenaica* demonstrou um rendimento inferior, sendo de 3,57% para uma quantidade de 5 g de bolota.

Esses dados sugerem que, embora a extração com pó de bolota mostra resultados ligeiramente superiores, como evidenciado pelo rendimento de 4,57% com 10 g de amostra, o teor de óleo da *Quercus pyrenaica* é consideravelmente mais baixo do que o observado na *Quercus suber*. Além disso, estudos com bolota

em pó (4,5 g) resultaram em 5 mL de óleo, reforçando que a moagem da bolota pode influenciar positivamente a eficiência de extração.

Em conclusão, os resultados obtidos indicam que o rendimento do óleo extraído da *Quercus pyrenaica* foi baixo, possivelmente devido às características específicas da espécie e ao método de extração por Soxhlet.

5.1.3. Extração por ultrassom

Nos experimentos de extração por ultrassom, avaliou-se se a bolota seria mais adequada para extração de óleo em forma de grânulos ou de farinha. Além disso, testes adicionais foram conduzidos para identificar o solvente mais eficaz, visando maximizar a quantidade de óleo extraído. Efectuou-se, em primeiro lugar, uma extração com ultrassom a 50%, onde se variaram diferentes parâmetros, os dados estão na tabela 6.

Tabela 6 - Experimentos de extração óleo de bolota *Quercus pyrenaica* por ultrassom considerando, aspectos físicos, solvente, temperatura e teor foi utilizado 50% da potência de 500, que seria 250W .

Aspecto	Solvente	Tempo (min)	Teor (%)
grânulos	hexano	30	1.47
grânulos	hexano	15	2,09
grânulos	etanol	30	14.08
grânulos	etanol	15	8.40
pó	hexano	30	0.85
pó	hexano	15	5.30
pó	etanol	30	4.00
pó	etanol	15	5.00

Também se realizaram estudos da extração tendo em consideração o tempo, temperatura, tamanho do grânulo ou pó, em que foi utilizado 60% da potência do equipamento que seria 300W, apresentado na tabela 7.

Tabela 7 - Extração realizado por Ultrassom 60% em Bragança- Portugal

Quantidade	Solvente	Tempo(minuto)	Teor (%)
6 g	Hexano	15	1,08 ± 0,04,
6 g	Hexano	30	4,58 ± 4,56

Nesse processo de extração foi observado que a extração mais eficaz foi pelo solvente hexano, utilizando 50% do ultrassom. Na literatura, não existem muitos estudos que possam comparar o método ultrassom com um uma outra espécie utilizando o mesmo método.

As extrações realizadas por ultrassom mostraram um resultado mais satisfatório comparado com as extrações por soxhlet, onde foi possível fazer a extração com um tempo menor e com menos reagente, e garantindo um teor de óleo satisfatório com relação a matéria prima. Observando o gasto de reagente que teve, foi comprovado que a extração por soxhlet consumiu muito solvente comparando com a quantidade de óleo obtida.

5.2. ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS POR SOXHLET E ULTRASSOM

5.2.1. Análise de ácidos graxos obtidos por extração por soxhlet

Neste estudo, identificou-se uma diversidade de ácidos graxos, com destaque para três principais componentes. O ácido oleico (C18:1n9c), um ácido graxo monoinsaturado, apresentou a maior concentração, atingindo 43,58% da composição total, conforme mostrado na Tabela 8. O ácido linoleico (C18:2n6c), um ácido graxo poli-insaturado da família ômega-6, foi encontrado em uma quantidade expressiva, representando 30,02% da amostra. Além disso, o ácido palmítico (C16:0), um ácido graxo saturado de cadeia longa, compôs 18,11% da amostra, evidenciando a presença significativa de diferentes tipos de ácidos graxos. Esses

resultados reforçam a complexidade do perfil lipídico da amostra analisada, com uma predominância de ácidos graxos insaturados e uma contribuição importante de ácidos graxos saturados (Taib.M et al, 2020). A seguir os ácidos graxos e resultados da análise obtidos por extração de soxhlet em porcentagem na tabela 8.

Tabela 8 - Tabela de resultados análise ácido graxos obtidos por extração de soxhlet em porcentagem.

Composto	Média (%)	SD	CV
C14:0	0,18	0,008	4,714
C15:0	0,0855	0,001	0,827
C16:0	18,117	0,007	0,039
C16:1	0,5765	0,002	0,368
C17:0	0,1195	0,008	6,509
C17:1	0,0705	0,001	1,002
C18:1n9t	2,237	0,004	0,190
C18:1n9c	43,58	0,081	0,185
C18:2n6t	0,179	0,001	0,396
C18:2n6c	30,014	0,021	0,070
C18:3n3	2,703	0,016	0,576
C20:0	0,588	0,001	0,120
C20:1	0,548	0,029	5,295
C20:2	0,093	0,001	0,764
C20:3n6	0,076	0,005	6,556
C22:0	0,430	0,023	5,262
C23:0	0,123	0,011	8,588
C24:1	0,286	0,013	4,705

SD- Desvio Padrão

CV- Coeficiente de variação

O ácido oléico (C18:1n9c) é o composto majoritário encontrado no óleo de *Quercus pyrenaica*. É um ácido graxo insaturado pertencente à família dos ômega-9, sendo essencial para diversas funções no organismo humano, especialmente no metabolismo lipídico. Composto por 18 átomos de carbono e uma única dupla ligação em sua estrutura, ele é classificado como um ácido graxo de cadeia longa e monoinsaturado. Sua principal função no corpo está relacionada à síntese de hormônios e ao equilíbrio dos lipídios no sangue, o que contribui para a saúde cardiovascular. Obtido principalmente através da hidrólise de gorduras animais e óleos vegetais. Entre os óleos vegetais, o óleo de oliva (azeite) se destaca por sua alta concentração de ácido oleico, que pode ultrapassar 70%, tornando-o uma das fontes mais ricas nesse nutriente. Devido a essas características, o ácido oleico é amplamente reconhecido por seus benefícios à saúde, incluindo a promoção de um perfil lipídico saudável, a redução da inflamação e o apoio ao sistema imunológico. Além de seu papel biológico, o ácido oleico é valorizado em diversas indústrias, desde a alimentícia até a cosmética, por suas propriedades emolientes e nutritivas. Dessa forma, ele desempenha um papel crucial tanto na saúde interna quanto na aplicação externa em produtos para a pele e cabelo (Jorge.N ,2010, Mendes.B.D, 2012).

O ácido linoléico (C18:2n6c), é o segundo mais abundante no óleo de bolota de *Quercus pyrenaica*. Ele é considerado um ácido graxo insaturado que pode ser obtido facilmente e a um custo acessível, sendo encontrado em grandes quantidades em óleos de sementes como girassol, canola e linhaça. Possui um benefício na cicatrização de feridas que indicam que ele ajuda a controlar a resposta inflamatória do corpo e a reduzir a produção de óxido nítrico, uma substância que, em níveis elevados, pode atrasar o processo de recuperação. Dessa forma, o ácido linoleico auxilia na aceleração do processo de cura, favorecendo a regeneração do tecido de maneira mais eficiente (Altenhofen.M.L, 2013).

Neste processo de extração, o composto ácido palmítico (C:16) foi identificado em uma concentração de 18,11%, valor superior ao registrado na literatura, que menciona uma média de 12,17%. Esse ácido graxo é amplamente utilizado nas indústrias farmacêutica e de biotecnologia devido às suas propriedades específicas. Além disso, o ácido palmítico (C16:1) foi encontrado em 0,31% na

extração, ligeiramente abaixo da proporção descrita na literatura, que aponta uma concentração de 0,38%. Esse composto é particularmente relevante na indústria de cosméticos por seu valor funcional. O ácido tetradecanóico (C:14) foi detectado com um valor de 0,18%, valor que era idêntico ao documentado nas referências científicas. Já o ácido araquídico (C:20) foi registrado em uma quantidade um pouco menor, 0,54%, em comparação com o valor de 0,58% relatado na literatura (Abreu, C.D., 2017; Taib, M. et al., 2020).

Neste estudo, além dos ácidos graxos comumente identificados em pesquisas semelhantes, foram encontrados outros ácidos graxos em pequenas quantidades, que raramente aparecem em estudos anteriores. Entre eles, destacam-se o C18:1n9t com 2,237%, o C18:2n6t com 0,179% e o C18:3n3, que atingiu 2,703%. O ácido pentanóico (C15:0) foi detectado em 0,0855%, enquanto o ácido eicosanóico (C20:0) apresentou uma concentração de 0,588%. Também foram identificados o ácido alfa-linolênico (C20:3n6) com 0,076%, além dos ácidos eicosanoico (C22:0), tricosanoico (C23:0) e nervônico (C24:1), que, apesar de presentes em baixas concentrações, não costumam ser relatados em outros estudos similares.

5.2.2. Resultados da análise de ácidos graxos por ultrassom

Os resultados da extração por ultrassom utilizando o solvente hexano mostraram-se os mais eficazes ao longo desta pesquisa. Efetuou-se também o estudo da composição lipídica dos óleos obtidos por esta metodologia. Como não há estudos disponíveis sobre a espécie *Quercus pyrenaica* para comparação, os resultados serão contrastados com o estudo de óleos obtidos de bolotas *Quercus rubra*. Os achados foram bastante promissores, com destaque para a alta concentração de determinados compostos presentes na Tabela 9.

Tabela 9 - Ácidos graxos Resultados da análise de ácidos graxos por ultrassom em porcentagem.

Composto	MÉDIA (%)	SD	CV
C12:0	0,025	0,001	2,886
C14:0	0,153	0,008	5,100
C15:0	0,095	0,004	4,466
C16:0	18,00	0,064	0,357
C16:1	0,523	0,005	0,947
C17:0	0,135	0,009	6,834
C17:1	0,104	0,001	0,683
C18:0	2,728	0,029	1,063
C18:1n9c	43,559	0,164	0,377
C18:2n6t	0,288	0,033	11,29
C18:2n6c	28,458	0,076	0,266
C18:3n6	0,229	0,010	4,323
C18:3n3	3,254	0,021	0,652
C20:0	0,673	0,071	10,620
C20:1	0,6235	0,012	1,928
C20:2	0,210	0,001	0,338
C20:3n6	0,0725	0,004	4,877
C22:0	0,691	0,047	6,754
C23:0	0,179	0,007	3,950

SD- Desvio Padrão

CV- Coeficiente de variação

A maior quantidade encontrada de ácido oleico (C18:1n9c) de 43,56%. O de ácido linoléico (C18:2n6c) com 28,46% foi o segundo composto mais abundante no óleo e comparando com o estudo feito com *Quercus rubra* onde se obteve 13,8%. O ácido oleico apresenta benefícios já citados. (Altenhofen.M.L, 2013; Gornas.P et al, 2019).

O terceiro composto com mais abundante na composição desse óleo foi o ácido palmítico (C16:0) com 18%. Comparando com a espécie *Quercus rubra* que foi de 4,7%, o valor aqui obtido foi superior.(Mendes.B.D, 2012; Altenhofen.M.L, 2013; Abreu, C.D., 2017; Gornas. P et al, 2019; Fernandez.L.H.P, 2022)

Os demais compostos identificados apresentaram concentrações menores. No entanto, os compostos C:16:1, C:18, C:20, C:20:1 e C:22 merecem destaque, pois podem ser comparados com estudos realizados sobre a espécie *Quercus rubra*. Foi observado que, em *Quercus rubra*, esses compostos foram encontrados em quantidades significativamente maiores em relação aos resultados obtidos no estudo com *Quercus pyrenaica*. Essa diferença aponta para variações importantes entre as espécies, tanto na composição quanto na abundância dos ácidos graxos presentes (Gornas.P et al, 2019).

Os compostos com pequena quantidade foram identificados nesse estudo os quais apresentam pouca relevância para aplicações industriais por possuírem pequena quantidade. Nesse caso os compostos encontrados e que não possuem um estudo no qual possam ser comprados são: C:12, C:14, C:15, C:17, C18:3n3, C18:3n6, C20:3n6, C20:2 e C:23.

5.2.3. Comparação entre os dois métodos de extrações

Neste estudo, alguns aspectos merecem destaque, pois foram comprovados por meio de pesquisas semelhantes, ajudando a determinar qual método é mais eficaz para a extração de óleo da *Quercus pyrenaica* com uma concentração significativa de ácidos graxos. Foram utilizadas duas metodologias principais: soxhlet e ultrassom. A comparação entre os ácidos graxos extraídos por ambos os métodos mostrou que, embora os mesmos compostos tenham sido identificados nas

duas técnicas, houve variação nas quantidades extraídas por cada método, revelando diferenças na eficiência de extração entre eles.

Os ácidos graxos com a maior quantidade encontrado em ambos os métodos neste estudo são o ácido oleico (C18:1n9c) de 43,56% por meio do ultrassom e com o soxhlet foi 43,77%, ácido linoléico (C18:2n6c) com 28,46% por meio do ultrassom e com o soxhlet 30% e o último ácido palmítico (C16:0), que apresentou o mesmo valor, 18%, tanto por meio do ultrassom, como por soxhlet. Analisando esses dados podemos concluir que o método soxhlet foi o que apresentou resultados mais satisfatórios para esses ácidos que são muito empregados na indústria (Tejerina et al., 2011; Gornas. P et al, 2019).

Além dos compostos identificados em maior abundância, também foram detectados outros em quantidades menores. Devido a essa baixa concentração, esses compostos não apresentam grande vantagem para aplicação industrial. Embora o método soxhlet seja o mais eficiente para a extração de ácidos graxos, facilitando o processo, a baixa quantidade de alguns desses componentes torna sua utilização menos viável para fins comerciais (Tejerina et al., 2011; Gornas. P et al, 2019).

5.2.3.1. Análise de tocoferóis

A composição de vitamina E no óleo de bolota da espécie *Quercus pyrenaica* foi investigada utilizando voltametria de impulso diferencial (DPV), uma técnica sensível para detecção de tocoferóis (α -, β -, γ - e δ -tocoferol). As medições eletroquímicas, conduzidas com o potenciostato Autolab® PGSTAT 302 e uma célula de três eletrodos (referência Ag/AgCl, carbono vítreo como eletrodo de trabalho e platina como contra-eletrodo), permitiram uma análise detalhada dos tocoferóis (tabela 10), assegurando uma quantificação precisa desses compostos no óleo analisado.

Tabela 10 – Resultados do conteúdo em tocoferóis obtido por DPV, valor expresso em mg/Kg (valor médio \pm desvio padrão).

Compostos	E/V - Soxhlet	Média mg/Kg	E/V - Ultrasons	Média mg/Kg
β - e γ -Tocoferol	0,625	23,94 \pm 2,69E-06	0,577	23,94 \pm 4,82E-07
δ -Tocoferol	0,77	38,23 \pm 4,23E-07	0,76	38,23 \pm 1,05E-07
Total Tocoferóis		62,18 \pm 2,79E-06		62,18 \pm 5,83E-07

ND – Não detectado

D- Detectado.

No geral, na análise do óleo de bolota detectaram-se 2 processos de oxidação distintos a 0,6 V e a 0,8 V, correspondendo o primeiro à oxidação dos β - e γ - tocoferóis, que apresentam um potencial de oxidação semelhante, e o último ao δ -tocoferol, não tendo sido detectado α -tocoferol nestas amostras, conforme a tabela 10. Para avaliar quantitativamente a presença de vitamina E nas amostras, efetuou-se o estudo do comportamento do processo de oxidação dos padrões numa gama de concentração entre 5 e 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Nos resultados das análises dos tocoferóis, observou-se que o óleo extraído pelo método Soxhlet apresentou uma concentração de 24,28 mg/kg, sendo essa quantidade superior à do óleo de bolota extraído por ultrassom, que obteve 23,94 mg/kg. Ao comparar esses resultados com estudos anteriores em (Taib.M et al, 2020) *Quercus pyrenaica*, usando o mesmo processo de extração soxhlet e hexano como solvente, obteve-se um valor de 21,44 mg/Kg, o que demonstra uma variabilidade significativa nas concentrações de tocoferóis, mesmo entre amostras da mesma espécie e gênero. No estudo atual, a concentração de tocoferóis foi mais alta do que a reportada no estudo de caso. Essa variação pode ser influenciada pela localização geográfica das espécies analisadas: as amostras deste estudo são do norte de Portugal, enquanto as do estudo comparativo provêm de uma região da Espanha. Diferentes condições ambientais e climáticas entre as regiões podem contribuir para as discrepâncias nos níveis de nutrientes e compostos bioativos (Taib.M et al, 2020).

Em estudos anteriores, os valores de β - e γ - tocoferóis foram os seguintes: para *Quercus ilex* 403.59 mg/kg, *Quercus suber* 389.60 mg/kg e *Quercus coccifera*

422.02mg/kg. Esse estudo utilizou o óleo dessas espécies que foram extraídos por soxhlet e utilizaram o solvente hexano. Fazendo uma comparação entre essas espécies desse estudo e a *Quercus pyrenaica* que por soxhlet obteve se 24,28 mg/kg, concluímos que ela possuiu uma quantidade menor de β - e γ - que as outras espécies que possuem uma quantidade muito elevada, esse fator se deve por conta da localização geográfica, nutrição, clima entre outros (Fatima.Z, 2018).

Tabela 11 - Beta e Gama de diferentes espécies de Quercus

Espécie	mg/kg
<i>Quercus ilex</i>	16,33
<i>Quercus suber</i>	13,66
<i>Quercus coccifera</i>	19,73

Fonte: Adaptada de Taib.M et al, 2020

Como foi observado o resultado da análise de detecção de tocoferóis, um dos seus componentes δ -tocoferol, também foi encontrado nas duas metodologias de extração. O resultado foi de 38,23 mg/kg neste estudo, que comparando com resultados anteriores, para a mesma espécie de *Quercus* (Taib.M et al, 2020), apresentou o resultado de 0,60 mg/kg, sendo o valor obtido neste estudo superior, utilizando o mesmo método e solvente (Taib.M et al, 2020).

Utilizando os mesmos princípio de comparação existe um outro estudo com óleo extraído de bolotas provenientes da Argélia (Taib.M et al, 2020), pela extração por soxhlet, o valor foi de 38,23 mg/kg para a espécie. Para as outras (tabela 11), os valores foram os seguintes: *Quercus ilex* 16,33 mg/kg, *Quercus suber* 13,66 mg/kg e *Quercus coccifera* 19,73.mg/kg. Verificando os resultados de ambos os estudos pode-se perceber que no presente estudo o resultado foi maior do que comparado com o estudo de diferentes espécies de *Quercus* (Fatima. Z, 2018).

5.2.3.2. Análise de vitamina D

Os compostos termossensíveis, como a vitamina D2, exigem métodos de extração cuidadosamente selecionados para minimizar a degradação térmica. A

análise comparativa entre diferentes técnicas permite avaliar tanto a eficiência no rendimento do óleo extraído quanto a integridade e a concentração da vitamina D2 preservada no processo.

5.2.4. Comparação com os dois métodos de extração

Este estudo comparou dois métodos de extração de óleo da *Quercus pyrenaica* Soxhlet e ultrassom com o objetivo de identificar qual deles seria mais eficiente para a obtenção de vitamina D2, Tabela 12. A metodologia de Soxhlet é tradicionalmente utilizada para extrair compostos lipofílicos e pode proporcionar uma extração contínua e completa dos nutrientes presentes no óleo, incluindo vitaminas. Já o método de ultrassom, conhecido por sua eficiência em reduzir o tempo de extração e operar em temperaturas mais baixas, preserva melhor os compostos termossensíveis, como a vitamina D2. A comparação da tabela 12 entre esses métodos permite avaliar não apenas o rendimento do óleo extraído, mas também a preservação e concentração da vitamina D2, identificando o método mais vantajoso para aplicações alimentícias.

Tabela 12 - Comparação com os dois métodos de extração

	Método	mg/100g dw(média)/SD
Vitamina D2	Ultrassom	8;6± 0, 2
Vitamina D2	Soxhlet	9,13 ±0,01

Fonte própria

Nesse estudo será utilizado uma outra espécie de literatura. A vitamina D é uma molécula apolar (solúvel em gordura) que desempenha um papel vital na saúde humana e animal. Existem duas formas fisiologicamente importantes: a vitamina D2 pode ser encontrada em espécies vegetais e a vitamina D3 (colecalciferol) em animais. A vitamina D2 tem menor biodisponibilidade em comparação com a D3, sendo geralmente formada pela ação de radiação UV sobre o ergosterol. Estudos

indicam que a exposição ao sol, por si só, não é suficiente para suprir as necessidades diárias de vitamina D do corpo humano (Rashidi.L, et al, 2022).

Neste estudo estamos a estudar uma espécie vegetal, o *Quercus Pyrenaica*. A produção de ergocalciferol em vegetais e fungos ocorre através da transformação do ergosterol quando exposto à luz ultravioleta (UV). Esse processo envolve a clivagem do ergosterol, convertendo-o em vitamina D2 (ergocalciferol), uma forma ativa e biologicamente disponível, essencial para diversas funções metabólicas em organismos que não produzem a vitamina D3 (Ferraz.L, et al, 2018).

A vitamina D exerce funções semelhantes às dos hormônios esteróides e tireoidianos, com efeitos tanto genéticos quanto não-genômicos. No intestino, ela facilita a absorção rápida de cálcio (Ca^{2+}), enquanto nos osteoblastos promove a ativação de canais de cloreto (Cl^-). Além disso, a vitamina D está envolvida na secreção de insulina pelas células β -pancreáticas e na regulação da migração celular em células musculares lisas e endoteliais, desempenhando um papel crucial em vários processos fisiológicos (Ferraz.L, et al, 2018).

Comparando os dois métodos de extração em relação à quantidade de vitamina D2 encontrada, foi verificado que embora os dois métodos foram eficazes, um deles teve um desempenho mais elevado que o outro. Podemos comparar esses resultados utilizando a média das análises feitas em ambos os métodos. As análises feitas utilizando o óleo de bolota extraído por soxhlet foi de 9,13 mg/100g dw. Já o óleo de óleo de bolota extraído por ultrassom obteve o seguinte resultado 8,6 mg/100g dw. São resultados comprovados e observado que, para a vitamina D2, o soxhlet apresentou uma maior vantagem em comparação com o método de ultrassom. Comparando com resultados obtidos anteriormente para a presença de vitamina D2 em óleos vegetais, pode-se verificar que o óleo bolota de soxhlet que foi 9,13 mg/100g dw de vitamina D2, na tabela 4 para o óleo de palmoleína 2,18 mg/100g dw, para o óleo de girassol 1,82 mg/100g dw e para o óleo hidrogenado 3,51 mg/100g dw. A comparação feita com esse estudo desses óleos vegetais nos constatou que o óleo de bolota da espécie *Quercus Pyrenaica*, possui uma quantidade de Vitamina D2 maior, comparando com esses óleos vegetais, sendo assim agregando um valor comercial e industrial (Laley, et al, 2009).

5.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

5.3.1. Análise DPPH com óleo extraído pelo método de soxhlet e ultrassom

Para avaliar a atividade antioxidante dos extratos de *Quercus pyrenaica*, foram empregados dois métodos de extração complementares que proporcionam uma análise abrangente do potencial antioxidante. Utilizando óleo extraído por soxhlet e ultrassom utilizou-se o radical livre DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), que mede a capacidade dos compostos antioxidantes de neutralizar radicais livres, refletindo a eficácia dos extratos em prevenir danos oxidativo como pode ser descrito na tabela 13 com os resultados em mg/ml e o desvio padrão.

Tabela 13 - Resultados da análise de antioxidante do óleo de bolota extraído por Soxhlet em mg/mL

Espécie	Método	Inibição do DPPH mg/mL / SD
<i>Q.pyrenaica</i>	Soxhlet	4,16 ± 0,53
<i>Q.pyrenaica</i>	Ultrassom	1,74 ± 0,16
<i>Passiflora cincinnata</i> (semente de maracujá do mato)	Soxhlet	0,86 ± 3,95
<i>Q. Infectoria</i>	Ultrassom	0,1715 ± 2,10
<i>Kilis yağlık (azeite extra virgem)</i>	Prensa	0,82 ± 0.03
<i>Tavşan yüreği (azeite extra virgem)</i>	Prensa	7.07 ± 0.41
<i>Izmir sofralık (azeite extra virgem)</i>	Prensa	1.20 ± 0.08
<i>Ayvalık (azeite extra virgem)</i>	Prensa	1.83 ± 0.04

Fonte: Shakya et al, 2018; Koca.G; Onar.O, 2022

A princípio há poucos estudos sobre a análise de antioxidante no óleo de bolota da espécie *Quercus pyrenaica*, porém existe um estudo realizado na Argélia

com espécie do mesmo género *Quercus* (Fátima Z, 2018). Nesse estudo realizado na Argélia foi feita uma comparação com extratos de espécies do género *Quercus* como *Quercus ilex*, *Quercus suber* e *Quercus coccifera* que obteve uma pequena diferença na atividade antioxidante entre elas (Fátima Z, 2018).

O óleo da espécie *Quercus pyrenaica* que foi extraído por meio do soxhlet, apresentou um grande potencial na atividade antioxidante, de 4,16 mg/mL.

A avaliação das propriedades antioxidantes do extrato de semente de maracujá do mato, obteve um resultado de 0,885 mg/mL, que é inferior quando comparado com o óleo de bolota de *Quercus pyrenaica*, que foi de 4,16 mg/mL (Ribeiro.N.D, et al, 2018).

O estudo intitulado, revela um dos potenciais ainda pouco explorados no óleo da bolota. Neste estudo, o processo de extração do óleo foi realizado por ultrassom, seguido pela análise da atividade antioxidante utilizando o método DPPH, uma técnica eficiente para quantificar essa atividade. Com base nesse estudo de caso, é possível estabelecer uma compatibilidade entre espécies da mesma família, comparando-se os resultados da extração por ultrassom do óleo da bolota da espécie *Quercus pyrenaica*, também submetido à análise DPPH (Shakya et al, 2018).

Ao analisar a atividade antioxidante do óleo extraído de *Quercus pyrenaica* por ultrassom, observou-se um maior potencial antioxidante, de 1,74 mg/mL, em comparação com outras espécies do mesmo gênero. A título de comparação, o estudo de *Quercus infectoria* revelou uma atividade antioxidante de 0,1715 mg/mL. A comparação entre os dois estudos permite uma visão clara e bem definida: a espécie *Quercus pyrenaica* apresentou uma atividade antioxidante significativamente superior em relação à *Quercus infectoria* (Shakya et al, 2018).

Essa análise comparativa reforça a relevância do óleo de *Quercus pyrenaica* no que diz respeito ao seu potencial antioxidante, sugerindo que ele se destaca em relação a outras espécies do gênero *Quercus*. Os resultados indicam que *Quercus pyrenaica* possui compostos bioativos com maior capacidade antioxidante, abrindo caminhos para futuras pesquisas e aplicações voltadas ao uso desse óleo em produtos funcionais ou nutracêuticos (Shakya et al, 2018).

A análise comparativa das espécies de azeite listadas na Tabela 11 revelou que apenas a espécie *Tavşan yüreği* (azeite extra virgem) apresentou uma capacidade antioxidante superior à da *Quercus pyrenaica*. As demais espécies de azeite mostraram-se menos antioxidantes em comparação com a *Quercus pyrenaica*. Vale destacar que o método de extração utilizado para o azeite foi a prensagem a frio, enquanto a extração do óleo de *Quercus pyrenaica* foi realizada pelo método Soxhlet, um processo químico que envolve solventes. Além disso, o teor de óleo extraído da *Quercus pyrenaica* foi mais baixo em relação ao dos azeites, o que sugere que o método de extração e a espécie em si influenciam diretamente a concentração e a atividade antioxidante dos compostos presentes no óleo (Koca.G; Onar.O, 2022).

5.3.2. Análise DPPH comparando os métodos de extração

As análises realizadas utilizando os métodos de extração por Soxhlet e Ultrassom, avaliando a atividade antioxidante, foram comparadas com dados de estudo realizados com espécies da mesma família e utilizando a mesma estrutura dos métodos de extração e DPPH. No entanto, os resultados obtidos para a *Quercus pyrenaica* foram satisfatórios, comprando ambos os métodos utilizados foi constatado que o soxhlet apresentou 4,16% , uma vantagem maior comparado com o método de ultrassom que obteve 2,16%. Embora ambos os resultados tenham sido baixos, a extração por Soxhlet mostrou-se ligeiramente mais eficiente que o ultrassom.

5.4. ANÁLISE DE PODER REDUTOR +

A capacidade antioxidante total foi determinada com base no método de avaliação do poder antioxidante redutor, que mede a capacidade dos compostos presentes na amostra de transferir elétrons para agentes oxidantes, funcionando como um indicativo da sua eficácia na neutralização de radicais livres.

5.4.1. Análise de poder redutor da extração por Soxhlet

A capacidade antioxidante total foi estimada de acordo com o ensaio de poder antioxidante redutor. Nessa pesquisa se utilizou a extração por soxhlet utilizando o solvente hexano. Tabela 14 -Resultado das análises feitas do poder redutor extração por soxhlet

Tabela 14 -Resultado das análises feitas do poder redutor extração por soxhlet

Espécie	Método	Média mg/g oil
<i>Quercus pyrenaica</i>	Soxhlet	0,98 ± 0,2
<i>Quercus pyrenaica</i>	Ultrassom	2,61 ± 0,5

Fonte própria

Neste estudo, foram realizadas análises de antioxidantes utilizando dois métodos de remoção de óleos da espécie *Quercus pyrenaica*. :

Os resultados indicam que, na remoção por Soxhlet, o valor obtido pelo método DPPH foi de 4,16, significativamente superior ao valor de 0,98 obtido pela análise de poder redutor. Isso sugere que, nesse caso, o DPPH foi mais eficaz. Em contrapartida, na separação por ultrassom, o teste de DPPH resultou em um valor de 1,74, enquanto a análise de poder redutor alcançou 2,61, demonstrando que o poder redutor foi mais eficiente em captar a atividade antioxidante nesse método.

Esses dados mostram que a eficácia de cada método de análise depende da técnica de utilização utilizada. O DPPH foi mais eficiente para o óleo extraído por Soxhlet, enquanto o poder redutor se destacou para o óleo extraído por ultrassom. Portanto, cada método de análise antioxidante mostrou-se mais adequado para um tipo específico de degradação.

6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

Este estudo explorou avanços significativos na caracterização química e funcional do óleo de bolota da espécie *Quercus pyrenaica*, uma árvore de importância ecológica e com potencial bioativo ainda pouco explorado. A pesquisa focou em identificar e quantificar componentes essenciais como ácidos graxos, vitamina D e vitamina E, na forma de tocoferóis, utilizando diferentes métodos de extração para determinar a sua eficácia.

O método de extração por Soxhlet, com hexano como solvente, foi comparado a outros métodos e demonstrou-se o mais eficiente para essa espécie, revelando-se superior em todas as análises realizadas. A escolha do hexano como solvente de extração no Soxhlet foi estratégica, já que, devido à sua natureza apolar, facilita a extração de compostos lipofílicos, como os ácidos graxos com ácido linoleico 43,58% pelo método de soxhlet e vitaminas lipossolúveis, garantindo uma maior concentração desses componentes nos extratos obtidos. Com essa metodologia, foi possível obter concentrações mais elevadas de compostos bioativos, consolidando o Soxhlet como uma técnica preferível para extração de óleos em *Quercus pyrenaica*.

Entre os componentes analisados, destacam-se os ácidos graxos, essenciais para diversas funções biológicas e associados a benefícios para a saúde humana. A concentração de antioxidantes identificada no extrato também merece destaque, pois esses compostos desempenham um papel fundamental na neutralização de radicais livres, potencializando o uso do extrato em formulações nutracêuticas e cosméticas. Conforme apresentado na Tabela 9, o ácido oleico (C18:1n9c), um ácido graxo monoinsaturado, destacou-se com a maior concentração, correspondendo a 43,58% da composição total. Já o ácido linoleico (C18:2n6c), pertencente à família ômega-6 e classificado como um ácido graxo poli-insaturado, foi detectado em proporção significativa, representando 30,02% da amostra. Por sua vez, o ácido palmítico (C16:0), um ácido graxo saturado de cadeia longa, participou com 18,11% da composição analisada. Quanto às vitaminas, a presença de vitamina D e tocoferóis de 62,51 com o método de soxhlet em concentrações expressivas reforça o valor funcional da espécie, com implicações para o fortalecimento imunológico e a

proteção contra processos oxidativos, respectivamente.

Os resultados obtidos não apenas preenchem uma lacuna significativa na literatura sobre *Quercus pyrenaica*, mas também abrem novas possibilidades de aplicação para a espécie na indústria de alimentos, farmacêutica e cosmética. Este trabalho propõe, assim, uma base sólida para futuras pesquisas que busquem ampliar o entendimento do perfil químico do óleo de bolota de *Quercus pyrenaica*, além de incentivar sua exploração sustentável como fonte de ingredientes funcionais.

Em suma, o método de Soxhlet com hexano destacou-se por proporcionar extratos mais concentrados e de alta qualidade, sugerindo que esta técnica pode ser amplamente aplicada em estudos de óleos vegetais, especialmente em espécies com potencial bioativo ainda pouco documentado. Dessa forma, o presente estudo não apenas contribui para o conhecimento científico da espécie, mas também destaca a relevância de métodos otimizados de extração para potencializar o rendimento e a qualidade dos compostos bioativos em estudos futuros. O método Soxhlet com hexano é altamente recomendável para estudos futuros envolvendo a extração de compostos bioativos dessa espécie.

Os resultados obtidos neste estudo destacam o potencial do óleo de bolota, proveniente de espécies específicas da região de Portugal, para aplicações na indústria cosmética. A utilização nesse setor apresenta-se como uma alternativa promissora, sobretudo devido à regionalidade da matéria-prima e à composição rica em nutrientes funcionais. Entre os principais componentes identificados estão o ácido oleico (C18:1n9c), um ácido graxo monoinsaturado que representa a maior fração da composição total, o ácido linoleico (C18:2n6c), um ácido graxo poli-insaturado em proporção significativa, e o ácido palmítico (C16:0), um ácido graxo saturado de cadeia longa. Além disso, a presença de antioxidantes, vitamina E e vitamina D confere propriedades valorizadas na formulação de produtos cosméticos, como cremes hidratantes, sérums e águas micelares. A versatilidade desse óleo, aliada ao seu caráter regional, reforça sua relevância como ingrediente para o desenvolvimento de produtos cosméticos inovadores e sustentáveis. Além disso, o aprofundamento nas propriedades de sua composição química pode abrir caminho para novas aplicações na área alimentícia, explorando ainda mais seu

potencial. Essas características tornam o óleo de bolota uma matéria-prima de grande interesse para pesquisas futuras, tanto no setor cosmético quanto no alimentício, contribuindo para desvendar aspectos ainda pouco conhecidos de seus benefícios. A otimização do rendimento na extração de óleo de bolota exige métodos eficientes, como Soxhlet ou ultrassom, que preservam compostos bioativos. O aproveitamento integral da matéria-prima pode incluir o uso de resíduos para farinhas funcionais, compostagem ou extração de compostos fenólicos, promovendo sustentabilidade e redução de desperdícios.

7. REFERÊNCIAS

Abreu, A. I. M. (2020). Caracterização de bolotas de *Quercus ilex* subsp. *rotundifolia* ao longo de um gradiente climático no Alentejo. Mestrado em Biologia dos Recursos Vegetais, Instituto Superior de Agronomia - Universidade de Lisboa.

Abreu, C. D. (2017). Estudo do polimorfismo do ácido palmítico sob variação da polaridade do solvente. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz.

Almeida, D. N. A. C., Nogueira-de-Almeida, C. A. (2018). Perfil nutricional e benefícios do azeite de abacate (*Persea americana*): uma revisão integrativa. Departamento de Medicina, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos/SP - Brasil.

Altenhofen.M.L et al. Avaliação da aplicação tópica de ácido linoleico em retalhos cutâneos randomizados em ratos. *Rev. Bras. Cir. Plást.*2013; Vol. 28 (No.4),Pg 644, 2013.

American Oil Chemists' Society. *Practices of the American Oil Chemists' Society*. 6. ed. USA: AOCS Press, 2009

Alonso, B. O., Chicote, C. C., Piquet, R. D., Lorencio, F. G., Navarro, E. L., & Budría, J. R. (2018). Evaluación del estatus nutricional de vitamina E. *Revista Del Laboratorio Clínico*, 11(1), 28–38. <https://doi.org/10.1016/j.labcli.2017.01.002>.

Antoniassi, R., & Freitas, D. S. (2021). Composição. Embrapa. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/tecnologia-de-alimentos/processos/grupos-de-alimentos/oleaginosas/composicao>.

Antunes, S. A., & Canziani, M. E. F. (2016). Hepcidin: an important iron metabolism

regulator in chronic kidney disease. *Brazilian Journal of Nephrology*, 38(3), 351-355.

AOCS (American Oil Chemists' Society). (1993). *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. Champaign: AOCS.

Bainbridge, D. A. (2001). *Acorns as food: history, use, recipes, and bibliography*. Sierra Nature Prints, Califórnia, EUA.

Barros, L., Pereira, E., Calhelha, R. C., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2013). Bioactivity and chemical characterization in hydrophilic and lipophilic compounds of *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1732-1740.

Barros, L., Pereira, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2013). Optimized Analysis of Organic Acids in Edible Mushrooms from Portugal by Ultra-Fast Liquid Chromatography and Photodiode Array Detection. *Food Analytical Methods*, 6(1), 309–316. <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9443-1>

Bentyoussef, B. (2022). Dissertation submitted to Escola Superior Agrária de Bragança to obtain the Master degree in Biotechnological Engineering under the scope of the double diploma with Université Libre de Tunis. Trabalho de Conclusão de Curso, IPB.

Brochado, F. B. J. I. (2020). *Extração de óleo de bolota por alta pressão*. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade de Aveiro.

Burdock, G. A., & Carabin, I. G. (2006). *Safety assessment of myristic acid as a food ingredient*. Burdock Group, Washington, D.C., EUA.

Callegari, F. C. et al. *Perspectivas da Utilização dos óleos da Macaúba (Acrocomia aculeata Jacq. Lodd. ex Mart) no desenvolvimento de cosméticos*. Universidade.

Cantos, E., Espín, J. C., López-Bote, C., de La Hoz, L., Ordonez, J. A., & Tomás-Barberán, F. A. (2003). Phenolic compounds and fatty acids from acorns (*Quercus* spp.): the main dietary constituent of free-ranged Iberian pigs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6248–6255.

Costa, A. S. G., Alves, R. C., Vinha, A. F., Barreira, S. V. P., Nunes, M. A., Cunha, L. M., & Oliveira, M. B. P. P. (2014). Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops and Products*, 53, 350–357.

Deforce, K., Bastiaens, J., Calster, H. V., & Vanhoutte, S. (2009). Iron age acorns from Boezing (Belgium): the role of acorn consumption in prehistory. *Archaeology Correspondence*, 39, 381–392.

Dusso, A. S., Brown, A. J., & Slatopolsky, E. (2005). Vitamin D. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 289, F8–F28.

Falcão, S. I., Freire, C., & Vilas-Boas, M. (2013). A proposal for physicochemical standards and antioxidant activity of Portuguese propolis. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90, 1729–1741.

Fatima, Z. M., Squeo, G., Barkat, M., Trani, A., & Caponi, F. (2018). Antioxidant activity, tocopherols and polyphenols of acorn oil obtained from *Quercus* species grown in Algeria. *Food Research International*, 114, 208-213.

Fernández, I., Gómez, A., & Moreno, P. (2005). Características de las bellotas de encina (*Quercus ilex*) en diferentes zonas del Valle de los Pedroches (Córdoba). *Pastos y Ganadería Extensiva*, Gráficas Cervantes, Espanha.

Ferreira-Dias, S., Valente, D. G., & Abreu, J. M. F. (2003). Pattern recognition of

acorns from different *Quercus* species based on oil content and fatty acid profile. *Grasas y Aceites*, 54, 384-391.

Gamero-Pasadas, A., Viera-Alcalde, I., Rios, J. J., Graciani, E., & Vicario, I. M. (2006). Characterization and quantification of the hydrocarbons fraction of the subcutaneous fresh fat of Iberian pig by off-line combination of high-performance liquid chromatography and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1123, 82–91.

Galmés, S., Serra, F., & Palou, A. (2018). Vitamin E Metabolic Effects and Genetic Variants: A Challenge for Precision Nutrition in Obesity and Associated Disturbances. *Nutrients*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/nu10121919>.

Gornas, P., et al. (2019). Sustainable valorization of oak acorns as a potential source of oil rich in bioactive compounds. *Process Safety and Environmental Protection*, 128, 244–250.

GÓRNAŚ, Paweł; RUDZIŃSKA, Magdalena; GRYGIER, Anna; YING, Qian; MIŠINA, Inga; URVAKA, Elise; RUNGIS, Dainis. Sustainable valorization of oak acorns as a potential source of oil rich in bioactive compounds. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 128, p. 244-250, 2019.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. (2008). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos* (4. ed.). São Paulo: IAL.

Jorge, N., et al. Perfil de ácidos graxos em batatas chips comercializadas em São José do Rio Preto, SP, Brasil. *UNOPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde*, 40, São Paulo, Brasil.

Kasarda, D. D. (2013). Can an increase in celiac disease be attributed to an increase in the gluten content of wheat as a consequence of wheat breeding? *Journal of*

Agricultural and Food Chemistry, 61, 1155-1159.

Koca, G., & Onar, O. (2022). Antioxidant activities of Turkish extra virgin olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 31, 10.

Lassoued, R., Abderrabba, M., & Mejri, J. (2018). Comparative chemical composition of two *Quercus* species seeds growing in Tunisia. *Revista de Alimentos Funcionais*, 46, 567–578.

Lorite, J., et al. (2013). Phytosociological review on the forests of *Quercus pyrenaica* Willd. *Acta Botanica Gallica*, 155(2), 219-233.

Monteiro, R. E., et al. (2023). Valorização da bolota para consumo humano em Portugal. *Associação Portuguesa de Nutrição*.

NF ISO 8262-3. (2006). Détermination de la teneur en matière grasse. Association Française de Normalisation AFNOR, Paris.

Norris, J. (2021). A alta ingestão de ácidos graxos de plantas pode diminuir o risco de morte. *Anad.* Disponível em: <https://www.anad.org.br/a-alta-ingestao-de-acidos-graxos-de-plantas-pode-diminuir-o-risco>

OLIVEIRA, L. C.; et al. A evolução da molécula de vitamina A utilizada em formulações cosmecêuticas. *Brazilian Journal of Natural Sciences*, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2018.

ÖZCAN, T. Characterization of Turkish *Quercus L. taxa* based on fatty acid compositions of the acorns. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 84, p. 653–662, 2007.

PACHECO, P. R. A. Análise nutricional, físico-química e atividade antioxidante de frutos de *Quercus* sp. visando a sua valorização. 2015. Mestrado em Controlo de Qualidade, Universidade de Farmácia do Porto, 2015.

RAKIĆ, S.; POVRENOVIĆ, D.; TEŠEVIĆ, V.; SIMIĆ, M.; MALETIĆ, R. Oak acorn, polyphenols and antioxidant activity in functional food. *Journal of Food Engineering*, v. 74, p. 416–423, 2006.

RAKIĆ, S.; PETROVIĆ, S.; KUKIĆ, J.; JADRANIN, M.; TEŠEVIĆ, V.; POVRENOVIĆ, D.; SILER-MARINKOVIĆ, S. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. *Food Chemistry*, v. 104, p. 830–834, 2007.

RASHIDI, L.; et al. Determination of Vitamin D3 in the Fortified Sunflower Oil: Comparison of Two Developed Methods. *Food Analytical Methods*, 2022.

RIBEIRO, N. D.; et al. Propriedades antioxidantes de extrato de semente de maracujá do mato. In: *Gestão Integrada de Resíduos: Universidade & Comunidade*, v. 3, p. 260, 2018.

ROSENBERG, D. The possible use of acorns in past economies of the southern Levant: a staple food or a negligible food source?. *Levant*, v. 40, p. 167-175, 2008.

SARAIVA, Bárbara; et al. Iron deficiency and anemia are associated with low retinol levels in children aged 1 to 5 years. *Jornal de Pediatria*, v. 90, n. 6, p. 593-599, 2014.

SEABRA, I. Teor fenólico e atividade antioxidante da bolota. Trabalho de Conclusão de Curso, Escola Politécnica de Coimbra, 2018.

SGANZERLA, M. Extração de óleo das amêndoas de frutos de butiá (*Butia capitata* e *Butia eriospatha*) por três diferentes métodos. Universidade Federal de Pelotas,

Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial; Departamento de Ciência dos Alimentos, 2009.

SHAKYA, et al. Fatty Acids analysis and Antioxidant activity of Fixed oil of Quercus Infectoria, Grown in Jordan. *Oriental Journal of Chemistry*, v. 34, n. 3, p. 1373, 2018.

SANTOS, M. L. Perceção dos riscos na gestão da propriedade agroflorestal na região do Alentejo. Mestrado em Agricultura Sustentável, Elvas, 2021.

SOARES, C.; RIBEIRO, S. G. Mesa luso-brasileira: alimentação, saúde e cultura. *Imprensa da Universidade de Coimbra*, v. 2, p. 110, 2018.

SOCIEDADE PORTUGUESA DE BOTÂNICA. *Quercus pyrinaica*, 2022. Disponível em: <https://flora-on.pt/#/1quercus+pyrenaica>.

TAIB, M.; et al. Óleo de bolota: química e funcionalidade. *Journal of Food Quality*, v. 2020, p. 1-11, 2020.

TEJERINA, D.; GARCÍA-TORRES, S.; DE VACA, M. C.; VÁZQUEZ, F. M.; CAVA, R. Acorns (*Quercus rotundifolia* Lam.) and grass as natural sources of antioxidants and fatty acids in the “montanera” feeding of Iberian pig: Intra-and inter-annual variations. *Food Chemistry*, v. 124, n. 3, p. 997-1004, 2011.

YOSHIDA, Y.; NIKI, E.; NOGUCHI, N. Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidants: chemical and physical effects. *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 123, p. 63-75, 2003.

YUSTA, M. C.; et al. Bakuchiol: composto retinol-like usado em cosmética para prevenir o envelhecimento da pele. *European University, Villaviciosa de Odón*, junho de 2023.

ZACARCHENCO, B. P. Ácido Linoleico Conjugado (CLA) - Benefícios para saúde, sua presença e estabilidade em produtos lácteos. Instituto de Tecnologia de Alimentos, SP, Brasil, p. 401-404, 2012.

ZARROUG, Y.; SRITI, J.; et al. Chemical composition and sterol profile of Tunisian Quercus ilex oil. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, v. XCVIII, abril-dezembro, 2021.