



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DANIELLA PILATTI RICCIO

OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E MICROENCAPSULAÇÃO DE EXTRATO DE
ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*)

LARANJEIRAS DO SUL

2019

DANIELLA PILATTI RICCIO

**OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E MICROENCAPSULAÇÃO DE EXTRATO DE
ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*)**

Dissertação de mestrado, apresentada para o Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof.^a. Dr.^a. Vânia Zanella Pinto

**LARANJEIRAS DO SUL
2019**

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Riccio, Daniella Pilatti
Obtenção, caracterização e microencapsulação de
extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) / Daniella
Pilatti Riccio. -- 2019.
58 f.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vânia Zanella Pinto.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos-PPGCTAL, Laranjeiras do Sul, PR
, 2019.

1. Atividade antioxidante. 2. Compostos fenólicos. 3.
Goma arábica. 4. Frutooligossacarídeo. I. Pinto, Vânia
Zanella, orient. II. Universidade Federal da Fronteira
Sul. III. Título.

DANIELLA PILATTI RICCIO

OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E MICROENCAPSULAÇÃO DE
EXTRATO DE ERVA MATE (*Ilex Paraguariensis*)

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

14/01/2019

BANCA EXAMINADORA

Vânia Pinto

Prof.^a Dra. Vânia Zanella Pinto
Orientadora

Gustavo dos Santos

Prof. Dr. Gustavo Henrique Fidelis dos Santos – UFFS

Ernesto Quast

Prof. Dr. Ernesto Quast – UFFS

Dedico este trabalho a Deus, minha família especialmente Paulo, Sandra e Paula, aos amigos e a meu esposo Lucas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar presente em minha vida e permitir que eu chegasse até aqui.

À minha família por sempre me proporcionar tudo que precisei. Ao meu pai Paulo, minha mãe Sandra, minha irmã Paula e minha avó Glória amo-os muito, vocês sempre serão minha base, fundamentais em cada uma de minhas conquistas.

Ao meu melhor amigo e marido Lucas, sempre presente, sabe de todas as dificuldades encontradas nesse período e esteve ao meu lado em cada uma delas, me apoiando e fazendo o que fosse necessário para ajudar, desde finais de semana lavando vidraria no laboratório até a compreensão nos tantos convites recusados para que eu pudesse me dedicar a estudar. Sou muito grata por ter você em minha vida.

À Prof.^a Dr.^a Vania Zanella Pinto, pela orientação e todo tempo dedicado ao desenvolvimento deste trabalho que diga-se de passagem, não foi pouco. Além da disponibilidade sua acessibilidade foi fundamental, agradeço muito por todo apoio, conhecimento transmitido, confiança, incentivo, amizade e por cada mensagem respondida tão prontamente, sempre lembrarei do quanto influenciou em meu crescimento nesse período.

Aos demais professores do PPGCTAL por transmitirem seus ensinamentos e todo suporte científico.

À minhas amigas de infância, tão especiais e amadas Bianca e Luara, sempre tornando tudo mais leve. Às amigas que a pós proporcionou, Nívian, Patrícia, Remili e Vivane e, às amigas Jéssica, Katiussa e Raquel agradeço por todas as conversas, compreensão, incentivo e apoio.

Ao David, à Fernanda, ao Matheus e à Maiara pela ajuda nas análises.

Ao Prof.^o Dr. Luis Felipe Dias Lopes pelo auxílio na parte estatística, agradeço a disponibilidade e reitero votos de uma boa recuperação.

À técnica de laboratório e colega de pós, Fernanda, por responder prontamente as minhas dúvidas, mesmo por mensagem aos finais de semana. Inclusive com vídeos explicativos sobre os equipamentos.

“Ou escreves algo que valha a pena ler, ou fazes algo acerca do qual valha a pena escrever.”

Benjamin Franklin

RESUMO

O interesse pela extração de compostos bioativos, a partir de fontes naturais, tem aumentado em decorrência a seus efeitos funcionais e tecnológicos. Dentre as fontes naturais de compostos bioativos destaca-se a erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) constituída de compostos fenólicos, flavonóides, alcalóides e terpenos além de vitaminas e minerais. O cultivo da erva-mate é uma atividade agrícola presente principalmente no noroeste Argentino, leste do Paraguai e sul do Brasil. Os estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul são os maiores produtores e consumidores, com sua exploração majoritariamente em propriedades de pequeno e médio porte. Essa atividade agrícola apresenta grande importância social e econômica. O objetivo desse estudo foi obter extrato de erva-mate com alta concentração de compostos bioativos, microencapsulá-los e caracterizá-los. Para isso, foram utilizadas diferentes amostras de erva-mate, sendo uma coletada *in natura* e seca em estufa (F) e três marcas comerciais, denominadas M, T e S. Utilizou-se diferentes solventes (100% água, 100% etanol e 50% água:50% etanol) para extração em banho Dubnoff a 50°C, por 5 horas. A partir da caracterização dos extratos por meio das análises de sólidos totais, sólidos solúveis (° Brix), pH, acidez titulável, teor de compostos fenólicos totais, flavonóides e atividade antioxidante (AA), utilizando os radicais DPPH• e ABTS•+ selecionou-se um extrato para ser encapsulado. O encapsulamento foi realizado através da mistura extrato e do material de parede seguido de secagem por liofilização. A goma arábica e o frutooligossacarídeo (FOS) foram empregados como materiais de parede nas proporções: 100% FOS (I), 25% goma arábica e 75% FOS (II), 50% FOS e 50% goma arábica (III), 25% FOS e 75% goma arábica (IV) e 100% goma arábica (V). As microcápsulas foram avaliadas pelas análises de compostos fenólicos totais, flavonóides, atividade antioxidante pela inibição dos radicais DPPH• e ABTS•+ e estabilidade térmica por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC). A solução solvente água:etanol (50%, v:v) foi selecionada para preparação dos extratos, pois essa mistura resultou em maiores teores de compostos fenólicos totais e flavonóides. Dentre os tipos de erva-mate estudados foram verificadas diferenças entre as amostras ($p < 0,05$), sendo que as menores concentrações destes compostos bioativos foram encontrados na erva-mate seca (F). A erva-mate comercial T, que apresentou, menor conteúdo de sólidos totais e maior conteúdo de sólidos solúveis (°Brix) foi selecionada. Houve diferença ($p < 0,05$) entre o teor de compostos fenólicos das diferentes amostras encapsuladas em relação ao controle (extrato puro liofilizado), sugerindo que a microencapsulação foi capaz de proteger os polifenóis presentes no extrato. A adição dos agentes encapsulantes, em todas as formulações estudadas, produziu microcápsulas com maiores concentrações de flavonóides, quando comparado ao extrato puro liofilizado ($p < 0,05$). Os dados da avaliação da atividade antioxidante pela inibição da radical DPPH• mostraram haver diferença entre o controle e os demais tratamentos ($p < 0,05$). A maior atividade antioxidante através da inibição do radical ABTS•+ foi verificada em todos os tratamentos e, a menor AA foi verificada no controle. A confirmação da encapsulação do extrato hidroalcoólico de erva-mate nas matrizes goma arábica e frutooligossacarídeo foi realizada pela análise térmica utilizando DSC. As micropartículas do extrato de erva-mate encapsulado possuem potencial para serem empregadas na indústria alimentícia como antioxidante de fonte natural, colaborando com o controle da oxidação em diferentes alimentos.

Palavras-Chave: Atividade antioxidante. Compostos fenólicos. DPPH. ABTS. Goma arábica. Frutooligossacarídeo.

ABSTRACT

The interest in extracting bioactive compounds from natural sources has increased because its functional and technological effects. Among the natural sources of bioactive compounds, the yerba mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) is composed of phenolic compounds, flavonoids, alkaloids and terpenes, as well as vitamins and minerals. The yerba mate culture is the agricultural activity present mainly in northwestern Argentina, eastern Paraguay and Southern Brazil. The states of Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul are the largest producers and consumers, with their exploitation mainly in small and medium-sized farms. This agricultural activity has great social and economic importance. The objective of this study was to obtain mate extract with high concentration of bioactive compounds, as well as microencapsulate and characterize them. Different samples of yerba mate were used, one of it was collected in natura and oven dried (F) and three samples from commercial brands, named M, T and S were purchased in local commerce. Different solvents were used (100% water, 100% ethanol and 50% water: 50% ethanol) with Dubnoff bath at 50 ° C for 5 hours for yerba mate extract (YME) preparation. The YME were characterized by the analysis of total solids, soluble solids (°Brix), pH, titratable acidity, total phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity (AA), using the DPPH• and DPPH• radicals scavenging, and the best YME was encapsulated. The encapsulation was carried out by extract and material mixture follow by freeze drying. Arabic gum and fructooligosaccharide (FOS) were used as wall materials in the proportions: 100% FOS (I), 25% gum arabic and 75% FOS (II), 50% FOS and 50% gum arabic (III), 25% FOS and 75% gum arabic (IV) and 100% gum arabic (V). The microcapsules were characterized by analysis of total phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity by and DPPH• radicals scavenging and thermal stability by Differential Scanning Calorimetry (DSC). The solvent solution water: ethanol (50%, v: v) was selected as this mixture resulted in higher concentration of total phenolic compounds and flavonoids. Among the types of yerba mate DPPH studied, differences between the samples ($p < 0.05$) were observed, and the lowest bioactive composition were found in dry leaves (F). The commercial yerba mate T was chosen, which presented, with lower total solids content and higher soluble solids content (°Brix). There was a difference ($p < 0.05$) on the content of phenolic compounds between the encapsulated samples and the control (YME freeze dried), suggesting that the microencapsulation was able to protect the polyphenols present in the extract. The addition of the encapsulating agents in all the formulations studied produced microcapsules with more concentrations of flavonoids than the YME freeze dried ($p < 0.05$). Data from the evaluation of the antioxidant DPPH• activity showed differences between the control and treatments. The highest AA of ABTS•+ scavenging was in treatments and the lowest AA in control. Confirmation of the encapsulation of the YME in the Arabic gum and fructooligosaccharide matrices was performed by thermal analysis using DSC. The microparticles of encapsulated YME have the potential to be used in the food industry as a natural source antioxidant, collaborating with the control of oxidation in different foods matrixes.

Keywords: Antioxidant activity. Phenolic compounds. DPPH. ABTS. Arabic gum Fructooligosaccharide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa da América do Sul mostrando área de ocorrência natural da erva-mate: 1 Argentina; 2 Brasil; 3 Paraguai e 4 Uruguai.....	16
Figura 2 - Dados da Produção Agrícola Municipal (PAM) 2017 de erva-mate plantada.	17
Figura 3 - Imagem ilustrativa de liofilizador.....	25
Figura 4 - Estrutura química da goma arábica.....	26
Figura 5 - Estrutura química do Frutooligossacarídeo (FOS).	27
Figura 6 - Obtenção dos extratos de erva-mate.	29
Figura 7 - Esquema de preparação dos complexos para o processo de encapsulamento.	33
Figura 8 - Característica macroscópica dos extratos hidroalcoólicos de erva-mate liofilizados utilizando frutooligossacarídeo e goma arábica em diferentes proporções como materiais de parede.....	43
Figura 9 - Etapa de preparo das misturas de extrato e material encapsulante (a) e processo de liofilização de microcápsulas de erva-mate (b) e (c) utilizando goma arábica e frutooligossacarídeo como materiais de parede.....	45
.....	45
Figura 10 - Curvas de DSC das amostras de extrato de erva-mate liofilizada (Controle) e encapsuladas (Formulações I, II, III, IV e V).	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais fitoquímicos presentes na erva-mate.....	18
Tabela 2 - Delineamento experimental para obtenção dos extratos de erva-mate.....	28
Tabela 3 - Delineamento experimental para o microencapsulamento do extrato de erva-mate.....	31
Tabela 4 - Caracterização físico-química dos extratos de erva-mate.....	33
Tabela 5 - Quantificação dos compostos bioativos nos extratos de erva-mate.....	36
Tabela 6 - Referências trabalhos desenvolvidos e expressão de análises da atividade antioxidante de <i>Ilex paraguariensis</i>	40
Tabela 7 - Quantificação dos compostos bioativos nos encapsulados de erva-mate.....	41
Tabela 8 - Temperaturas de pico DSC.....	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVO GERAL.....	14
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
1.3 JUSTIFICATIVA	14
1.4 HIPÓTESES	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 ERVA-MATE.....	16
2.2 ENCAPSULAMENTO	21
2.2.1 Liofilização	24
2.2.2 Material de parede	25
2.2.2.1 Goma arábica.....	25
2.2.2.2 Frutooligossacarídeo.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 MATERIAIS	28
3.2 MÉTODOS.....	28
3.2.1 EXPERIMENTO I Obtenção e caracterização de extratos de erva-mate	28
3.2.1.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO	29
3.2.1.2 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS	30
3.2.1.2.1 Determinação de fenólicos totais.....	30
3.2.1.2.2 Determinação de flavonóides	31
3.2.1.2.3 Determinação da atividade antioxidante.....	31
3.2.2 EXPERIMENTO II Microencapsulação de extrato de erva-mate.....	32
3.2.2.1 ELABORAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS	32
3.2.2.2 LIOFILIZAÇÃO	33
3.2.2.3 CARACTERIZAÇÃO DOS MICROENCAPSULADOS	33
3.2.2.3.1 Determinação de fenólicos totais.....	33

3.2.2.3.2 Determinação de flavonóides	33
3.2.2.3.3 Determinação de atividade antioxidante.....	33
3.2.2.3.6 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	34
3.2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1 Experimento I - Obtenção e caracterização de extratos de erva-mate.....	35
4.2 Experimento II – Microencapsulação de extrato de erva-mate	43
5 CONCLUSÕES.....	50
6 PERSPECTIVAS.....	51
REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) tem sua origem na América do Sul, na qual ocupa uma área de ocorrência natural de 540.000 km² entre o noroeste Argentino, o leste do Paraguai e o sul do Brasil (BERTÉ; RUCKER; HOFFMANN-RIBANI, 2011). Nesta região, possui grande importância ambiental e socioeconômica como fonte de emprego e renda, constituindo o principal produto não madeireiro do agronegócio florestal (SIGNOR; DORNELES; BAUMEL, 2016). O seu uso industrial vem se ampliando em decorrência de estudos que apontam em sua composição grande diversidade de fitoquímicos com propriedades funcionais, como os compostos fenólicos, alcalóides, flavonóides e terpenóides. Podem ser mencionadas sua aplicação na produção de medicamentos e cosméticos, bem como, no desenvolvimento de novos produtos e ingredientes alimentares (DONADUZZI et al., 2003; VIEIRA et al., 2008).

Aos fitoquímicos presentes na erva-mate relaciona-se sua atividade antioxidante, a qual possui capacidade de combater os radicais livres e espécies reativas de oxigênio (HECK; SCHMALKO; DE MEJIA, 2008). De acordo com Pereira e Cardoso (2012), radical livre é todo átomo ou molécula que tem elétrons não pareados em sua camada externa, cuja produção pode ocorrer naturalmente por meio de processos fisiológicos (produção de ATP, fagocitose, regulação do crescimento celular dentre outros). No entanto, em determinadas condições, pode ocorrer elevação na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) originando o estresse oxidativo, promovendo um dano potencial, precipitação do processo degenerativo e perda da estabilidade celular, relacionando-se portanto, ao desenvolvimento de patologias ligadas ao estresse oxidativo, como doenças crônicas, cardiovasculares, neurodegenerativas e câncer (ASOLINI; TEDESCO; CARPES, 2006). Os radicais livres podem ser interceptados de dois modos: pela ação de agentes antioxidantes endógenos (produzidos pelo organismo) ou exógenos (adquiridos pela ingestão alimentar). Assim sendo, do ponto de vista biológico, define-se antioxidantes como substâncias responsáveis por proteger o organismo, capazes de retardar ou inibir danos oxidativos gerados pelos radicais livres (ASOLINI; TEDESCO; CARPES, 2006; SCHINELLA et al., 2000).

O consumo regular de fitoquímicos tem demonstrado benefícios com relação à saúde, relacionando-se à efeitos anti-inflamatório, anti-obesogênico, antimutagênico, antibacteriano e antiviral (BASTOS et al., 2006, 2007; BRACESCO et al., 2011; FANG; BHANDARI, 2010; RESENDE et al., 2015). Segundo Wong et al., (2014) a extração e purificação de compostos

bioativos com atividade antioxidante, a partir de fontes naturais, tem elevada importância devido às diversas aplicações dos mesmos. Contudo, quando se separa os compostos bioativos da matriz alimentar, estes tornam-se altamente instáveis frente à diversos fatores, necessitando proteção, afim de retardar ou prevenir sua degradação, sendo o encapsulamento uma alternativa para contornar este problema.

Os danos oxidativos causados pelas espécies reativas de oxigênio podem afetar também macro e micronutrientes presentes nos produtos alimentícios. Portanto, existe grande interesse em ingredientes ou compostos naturais com propriedades antioxidantes, visto que antioxidantes sintéticos tem sua utilização limitada em muitos países (DE CAMPOS et al., 2007; SCHINELLA et al., 2000) e cada vez menor aceitação da população em geral.

Embora recebam atenção devido ao elevado teor de compostos bioativos, a erva-mate pode ter seus efeitos reduzidos por fatores externos e internos, devido à alta sensibilidade destes compostos à temperatura, oxidação, pH e luz. Com isso, buscando manter e melhorar sua disponibilidade, emprega-se processos de encapsulamento como maneira de contornar problemas relacionados à estabilidade dos compostos bioativos presentes e, ao desempenho de sua atividade antioxidante (AUGUSTIN & HEMAR, 2008; DE VOS et al., 2010).

A microencapsulação, amplamente utilizada para ingredientes e aditivos alimentares (TRIFKOVIC; TADIC; BUGARSKI, 2016), consiste no empacotamento, por meio de diferentes técnicas, de pequenas partículas de sólido, líquido ou gás, nomeada também de recheio, núcleo ou ativo, em um material secundário conhecido como matriz ou parede. O núcleo consiste no material de interesse que se deseja proteger através da encapsulação e a parede confere a sua proteção ao ambiente externo, através da redução da taxa de transferência de material do núcleo para o meio circundante (AUGUSTIN & HEMAR, 2008). Neste contexto, um requisito importante é a eficiência do encapsulamento que está diretamente relacionada ao núcleo e ao material de parede escolhidos, sendo essencial escolher um sistema levando em consideração a afinidade entre os ativo e a parede, bem como a finalidade e o mecanismo de liberação (DE VOS et al., 2010). A liberação controlada do material encapsulado pode ocorrer em função de diferentes condições, como pH, temperatura e umidade, sendo capaz de ocorrer de forma gradativa ou instantânea (WANG et al., 2007).

1.1 OBJETIVO GERAL

Obter extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) com elevada concentração de compostos bioativos, caracterizar e microencapsular o mesmo, bem como, caracterizar os microencapsulados.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar matérias-primas de diferentes procedências na produção de extratos com diferentes solventes.

Avaliar o uso de goma arábica e FOS no encapsulamento de extrato de erva-mate para conservação dos compostos bioativos.

Avaliar a eficácia do encapsulamento quanto à estabilidade térmica, teor de compostos fenólicos, flavonóides e capacidade antioxidante.

1.3 JUSTIFICATIVA

A erva-mate é fonte de compostos bioativos responsáveis por efeitos antioxidantes e funcionais. A busca pela utilização de antioxidantes naturais vem crescendo por parte da indústria em atendimento aos anseios dos consumidores e, além disso o desenvolvimento tecnológico de produtos derivados de erva-mate permite aumento na rentabilidade de toda sua cadeia produtiva (SIGNOR; MARCOLIN, 2017).

A utilização de compostos encapsulados consiste em uma estratégia promissora e vem sendo estudada visando a ampliação de sua utilização em diferentes setores, dentre eles a indústria alimentícia (TRIFKOVIC; TADIC; BUGARSKI, 2016). Os dados obtidos servem de suporte para futuras pesquisas com referência ao processamento, composição físico-química e propriedades tecnológicas da erva-mate encapsulada, sendo que, não foram encontrados na literatura relatos da utilização de goma arábica e FOS aplicados como materiais encapsulantes de extrato de erva-mate.

1.4 HIPÓTESES

A produção de extratos de erva-mate com diferentes solventes resulta em produtos com características distintas, sendo que amostras secas em condições brandas terão concentrações superiores de compostos bioativos.

É possível encapsular extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) utilizando como material de parede goma arábica e FOS.

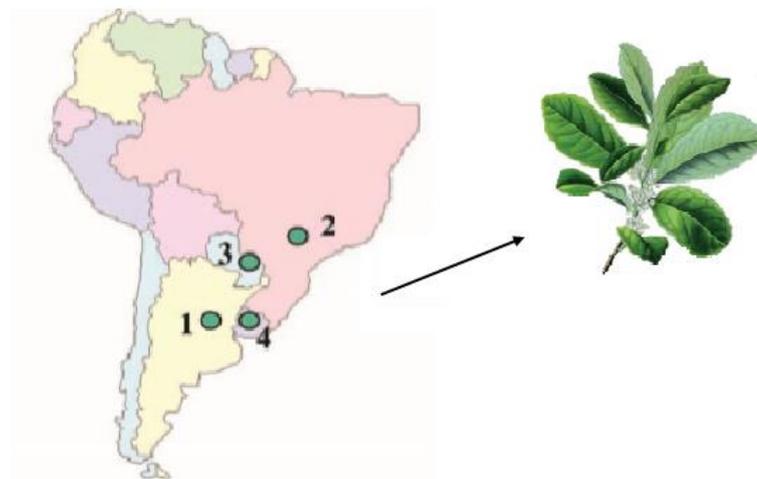
A encapsulação do extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é capaz de manter a concentração dos compostos bioativos após a secagem.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ERVA-MATE

A *Ilex paraguariensis*, também conhecida como erva-mate, é uma planta de espécie nativa da América do Sul pertencente à família das *Aquifoliaceae*, sendo bastante cultivada no Uruguai, Argentina, Paraguai e Brasil (Figura 1). As folhas e talos, uma vez processados, são utilizados na preparação de chás e bebidas, que podem ser consumidas como uma infusão preparada com água fria ou quente, chamada de "maté" no Uruguai e na Argentina, "tereré" no Paraguai e "chimarrão" no Brasil. O consumo nesses países tem uma conotação cultural, sendo uma tradição adquirida das populações nativas locais. Muitos consumidores bebem de 1 a 2 L por dia, fomentando a sua cadeia produtiva (DARTORA et al., 2011; DELADINO et al., 2008; DELADINO; NAVARRO; MARTINO, 2013; HECK; DE MEJIA, 2007).

Figura 1 – Mapa da América do Sul mostrando área de ocorrência natural da erva-mate: 1 Argentina; 2 Brasil; 3 Paraguai e 4 Uruguai.



Fonte: Adaptado de HECK & DE MEJIA (2007); BERTÉ et al. (2011).

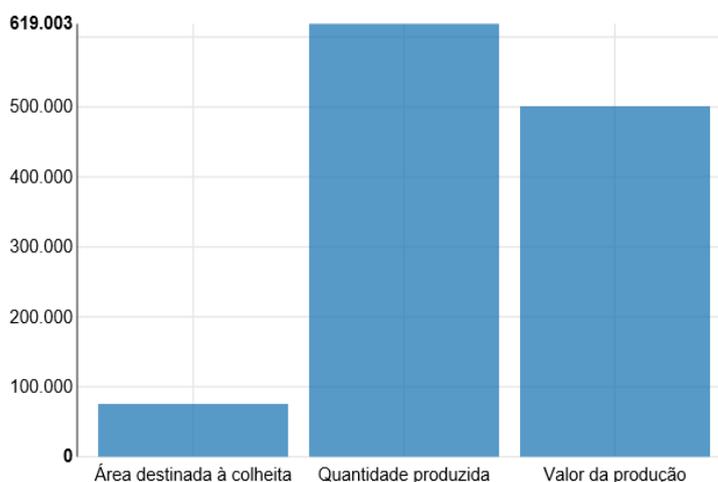
Segundo Junior ; Morand (2016) o Uruguai tem o maior consumo per capita 8-10 kg / hab / ano; seguido pela Argentina que apresenta consumo em torno de 6,5 kg / hab / ano e, no sul do Brasil corresponde a 3-5 kg / hab / ano. O menor consumo per capita no Brasil se deve ao fato de que são somente nos três estados do Sul (Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná) que o consumo é habitual. De maneira geral, na América do Sul o consumo médio de folhas secas estimado é de 12 e 23 g / hab / dia, sendo esta quantidade equivalente ao consumo de chá

(*Camelia sinensis*) na Ásia e Europa, e café na Europa e América do Norte (BRACESCO et al., 2011).

O cultivo da erva-mate pode ser por meio do sistema de produção extrativista, em que ela é colhida de plantas provenientes exclusivamente da regeneração natural conduzidas sob a sombra de espécies arbóreas nativas (erva-mate nativa) ou de plantios monoespecíficos e equidistantes com espaçamento definido e a pleno sol (erva-mate plantada). Na maior parte dos casos, ocorrem, situações intermediárias com ervais nativos adensados ou então plantios com espécies arbóreas nativas ou exóticas plantadas no intuito de proporcionar sombra para a cultura (Embrapa, 2014). O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) reconhece essa diferença de acordo com a origem da produção; os dados sobre a erva-mate nativa são publicados no documento Produção do Extrativismo Vegetal e da Silvicultura (PEVS) e os dados sobre a erva-mate plantada são publicados no documento Produção Agrícola Municipal (PAM).

De acordo com dados publicados pela PAM em 2018, no Brasil a área plantada ou destinada à colheita de erva-mate em 2017 foi de 75.810 hectares, com produção de 619.003 toneladas e, valor de produção de R\$ 501.633,00, conforme demonstrado na Figura 2 (IBGE, 2018). No ano de 2016 a extração dos ervais nativos demonstrado pela PEVS foi de 346.953 toneladas, sendo 86,4% proveniente do estado do Paraná, tornando-o o maior fornecedor de erva-mate de ervais nativos ou sombreados do país, com estimativa de produção em 151 municípios (IBGE, 2016). Dessa maneira, demonstra-se a importância da erva-mate na geração de emprego e renda, bem como na preservação da biodiversidade e conservação da fisionomia florestal nativa (SIGNOR; DORNELES; BAUMEL, 2016; SIGNOR; MARCOLINI, 2017).

Figura 2 - Dados da Produção Agrícola Municipal (PAM) 2017 de erva-mate plantada.



Fonte: IBGE, (2018).

A erva-mate não é consumida como um produto bruto, sendo processada antes de chegar ao consumidor. A sua produção industrial pode ocorrer de diferentes maneiras, mas geralmente o processamento consiste nas etapas de (1) colheita, (2) torrefação/branqueamento ou sapeco, (3) secagem, (4) moagem, (5) envelhecimento e (6) embalagem. Após a colheita (mecanizada ou manual) a erva-mate é exposta diretamente ao fogo à temperatura entre 250 e 550°C durante um período que pode variar de 20 segundos a 8 minutos, com variações de acordo com o país em que a erva-mate é processada. Na sequência as folhas são expostas a uma corrente de ar quente para redução da umidade, sendo que, existem diferentes maneiras de se efetuar essa etapa de secagem, que pode durar de 3 a 18 horas. Em seguida é feita a trituração e a erva, em alguns países como Argentina e Uruguai, é submetida ao envelhecimento, que também apresenta variações podendo ser natural (condições naturais de temperatura e umidade por cerca de 9 a 12 meses) ou forçado (armazenado sob condições controladas de temperatura, umidade e circulação de ar, pelo período de 30 a 60 dias). Normalmente, para o mercado interno durante o beneficiamento para chimarrão a erva-mate é embalada e comercializada de imediato, garantindo assim uma característica apreciada pela maioria do mercado consumidor; a coloração verde. Por fim a erva é misturada e embalada (JUNIOR; MORAND, 2016; HECK; DE MEJIA, 2007; ISOLABELLA et al., 2010; POLIDORO et al., 2016; EMBRAPA, 2014).

Em sua composição, a erva-mate contém diversos constituintes, incluindo minerais (magnésio, cálcio, ferro, sódio, manganês, potássio, alumínio, cromo, cobre, níquel, zinco), vitaminas (A, C, B1, B2 e B6) e alguns aminoácidos (ácido aspártico, ácido glutâmico, glicina, alanina, triptofano, cistina, arginina, histidina, lisina, tirosina, valina, leucina, isoleucina, treonina, metionina e asparagina). Além disso, destaca-se por seu elevado teor de fitoquímicos, particularmente, compostos fenólicos, alcaloides, flavonóides e terpenóides conforme descrito na Tabela 1 (BERTÉ; RUCKER; HOFFMANN-RIBANI, 2011; BOAVENTURA et al., 2012; DE MEJIA et al., 2010; RIBEIRO et al., 2017, EFING et al., 2008).

Algumas variáveis como tipo de cultivo (nativo ou plantado) bem como, a sua procedência e localidade, o grau de exposição solar, o tipo de processamento e extração e a parte da planta analisada exercem influência no conteúdo e na concentração de alguns destes compostos (BASTOS et al., 2006; DARTORA et al., 2011; DONADUZZI et al., 2003).

Tabela 1 - Principais fitoquímicos presentes na erva-mate.

Classe	Grupo	Fitoquímicos	Referência
Compostos fenólicos (Polifenóis)	Ácidos fenólicos	Ácido cafeico	Bastos et al., (2006); Boaventura et al., (2012); Dartora et al., (2011); De Mejia et al., (2010); Ribeiro et al., (2017).
	Ácidos monocateoilquinícos	Ácido 3 cafeoilquiníco ou ácido neoclorogênico, ácido 4 cafeoilquiníco ou ácido criptoclorogênico ácido 5 cafeoilquiníco ou ácido clorogênico	Bastos et al., 2006; Boaventura et al., 2012; Dartora et al., (2011); De Mejia et al., 2010; Ribeiro et al., 2017.
	Ácidos dicafeoilquinícos	Ácido 3,4-dicafeoilquiníco, ácido, 3,5-dicafeoilquiníco e 4,5- dicafeoilquiníco	Boaventura et al., 2012; De Mejia et al., 2010; Ribeiro et al., 2017.
Flavonóides (Polifenóis flavonóides)	Taninos	Quercetina, canferol, rutina, luteolina e miricetina	Bastos et al., 2006; Dartora et al., (2011); De Mejia et al., 2010; Ribeiro et al., 2017.
Alcaloides	Metilxantinas	Cafeína, teobromina e teofilina	Bastos et al., 2006; Boaventura et al., 2012; De Mejia et al., 2010; Donaduzzi et al., (2003); Ribeiro et al., 2017.
Terpenos	Carotenóides e saponinas	Ácido ursólico e ácido oleanólico	Dartora et al., (2011); Donaduzzi et al., (2003).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os vegetais possuem metabólitos denominados primários e secundários. Os metabólitos primários são responsáveis pela síntese de celulose, proteínas, lipídeos e outras substâncias efetivas à realização das funções vitais, tais como fotossíntese, respiração e outros (PEREIRA; CARDOSO, 2012). Os fitoquímicos são compostos do metabolismo secundário de plantas superiores e, desempenham papel importante em seus mecanismos de defesa e desenvolvimento. Os metabólitos secundários associam-se às estratégias de defesa frente a fatores externos a planta como temperatura do ar, estresse hídrico, luminosidade, radiação solar e ataque de predadores e pragas (PEREIRA; CARDOSO, 2012). O aumento da radiação induz o fechamento estomático aumentando a concentração intercelular de dióxido de carbono, inibindo a síntese de compostos fenólicos (FERRERA et al., 2016). Esses compostos, também

chamados de polifenóis, são uma das principais classes de metabólitos secundários que através da capacidade em doar hidrogênio ou elétrons e em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que assim, atuam como antioxidantes. Dartora et al. (2011) atribuiu diferenças no conteúdo de compostos fenólicos totais ao fator ambiental e grau de exposição solar. Os autores os relacionam de maneira que, quanto maior o grau de exposição, maior o nível de ácidos clorogênicos encontrados em amostras de *I. paraguariensis*, uma vez que a produção dos mesmos pode ocorrer como um mecanismo de resposta fisiológico de defesa da planta. A medida que mais estudos abordarem este fator em específico, a questão pode vir a ser melhor elucidada.

Estes possuem atividades biológicas marcantes, despertando grande interesse devido a sua capacidade de resposta a estímulos do meio ambiente. Assim, possuem ampla atividade farmacológica de efeitos biológicos sobre a saúde humana, bem como importância comercial nas áreas alimentar, microbiológica, agrônômica dentre outras (SIMÕES et al., 2007).

Em condições adversas ao cultivo ocorrem modificações físicas, químicas e enzimáticas, interferindo nos teores de metabólitos secundários. Diversos fitoquímicos, como por exemplo, os compostos fenólicos, são produzidos pelas plantas e apresentam funções ecológicas importantes como proteção contra herbívoros e patógenos, dentre outras (FERRERA et al., 2016). Esses compostos são apontados como a principal fonte de antioxidantes naturais e atuam como agentes redutores, supressores de oxigênios singletes e doadores de hidrogênio, agindo também como quelantes de metais (HECK; DE MEJIA, 2007; JOHN; SHAHIDI, 2010; RUTZ et al., 2013). Quando consumidos regularmente, os compostos de ação antioxidante da erva-mate, têm demonstrado benefícios com relação à saúde, indicando também efeitos anti-inflamatório, anti-obesogênico, antimutagênico, antibacteriano e antiviral, relatado em experiências *in vivo*, que concluem, portanto, o encorajamento em seu consumo (BASTOS et al., 2006, 2007; BRACESCO et al., 2011; DE RESENDE et al., 2015; FANG; BHANDARI, 2010).

Em estudos experimentais *in vivo* com ratos Wistar, foi demonstrado resultados positivos relacionados ao consumo de erva-mate na prevenção de lesão hepática induzida por etanol (TAMURA et al., 2013) e efeitos anti-obesogênicos no metabolismo de lipídeos (DE RESENDE et al., 2015). Em humanos, Ribeiro et al. (2017) demonstraram correlação positiva na redução dos níveis de marcadores séricos bioquímicos, especificamente creatina fosfoquinase (CPK), em pacientes institucionalizados com traumatismo craniano. A redução dos marcadores foi verificada após administração de infusão preparada à base de folhas de erva-mate seca a 200°C, por 20 minutos (7g, 300 mL) via tubo nasoentérico ou dieta oral, duas vezes

ao dia, por 14 dias, atribuindo esta regulação aos derivados da cafeína presentes na erva-mate. Além disso, neste estudo apresentou-se uma tendência do grupo em que houve administração a exibirem valores médios de glicemia inferiores ao grupo controle.

Por outro lado, associa-se o consumo de antioxidantes sintéticos ao possível aparecimento de doenças. Segundo os órgãos de saúde pública como a Organização Mundial de Saúde (OMS), a utilização excessiva e ingestão prolongada destes aditivos alimentares podem ser deletérias à saúde, tornando portanto, necessária a pesquisa por antioxidantes naturais (FERRERA et al., 2016).

Embora a erva-mate receba atenção devido a seu elevado teor de fitoquímicos com atividade antioxidante, estes podem ter seus efeitos reduzidos por fatores externos e internos graças à sua alta sensibilidade à temperatura, oxidação, pH e luz. Com isso, buscando manter e melhorar a disponibilidade de antioxidantes, emprega-se o encapsulamento como uma maneira de contornar problemas relacionados à sua estabilidade e desempenho (AUGUSTIN & HEMAR, 2008; DE VOS et al., 2010).

2.2 ENCAPSULAMENTO

O encapsulamento apresenta-se como uma maneira promissora de proteger compostos instáveis e/ou sensíveis, tendo como principal intuito reduzir perdas, proteger o material encapsulado, controlar o tipo de liberação, encobrir odor e/ou sabor do composto de interesse, a fim de melhorar a sua processabilidade (FANG; BHANDARI, 2010; KUANG; OLIVEIRA; CREAN, 2010; LAINE et al., 2008). Atualmente, tem-se verificado que fitoquímicos tidos como bioativos, a exemplo dos compostos fenólicos, podem ser protegidos por diferentes materiais de parede empregados no processo de encapsulação.

Deladino et al., (2008) encapsularam antioxidantes de extrato de erva-mate liofilizado utilizando grânulos de alginato e alginato-quitosana como materiais de parede com o objetivo de analisar o efeito do sistema encapsulante nas propriedades mecânicas das esferas, estudar a influência da matriz na estabilidade do composto ativo e suas propriedades de difusão. Laine et al., (2008) encapsularam compostos fenólicos de extrato de amora-branca-silvestre (*cloudberry*) em maltodextrinas, pela técnica de liofilização, objetivando melhorar a estabilidade de armazenamento dos compostos encapsulados. Da Rosa et al., (2014) encapsularam compostos fenólicos de extrato de amora-silvestre (*Rubus fruticosus*) pela técnica de liofilização, utilizando β -ciclodextrina, quitosana, goma xantana e hidrogel de goma xantana e quitosana avaliando a eficiência de encapsulação, atividade antioxidante e a liberação

controlada de compostos fenólicos. Cilek et al., (2012) encapsularam bagaço de cereja pela técnica de liofilização, utilizando maltodextrina e goma arábica em diferentes proporções como materiais de parede e duas relações núcleo-para-revestimento de 1:10 e 1:20 avaliando eficiência de encapsulação, morfologia de superfície, tamanho de partícula, atividade antioxidante e cor das microcápsulas. Spada et al. (2012) e Deladino et al. (2014) encapsularam betacaroteno utilizando como materiais de parede amido de pinhão nativo, amido de pinhão hidrolisado e a mistura desses materiais com gelatina utilizando a técnica de liofilização e, a eficiência de encapsulamento, conteúdo superficial, umidade, morfologia, solubilidade, tamanho das partículas e temperatura de transição vítrea foram analisados. Rutz et al., (2013) encapsularam suco de pitanga roxa (*Eugenia uniflora L.*) utilizando goma xantana, goma tara e hidrogel de goma xantana e goma tara, avaliando a estabilidade de compostos fenólicos, carotenoides e antioxidantes pelas técnicas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Difractometria de Raios-X e perfil de liberação. Nunes et al., (2015) encapsularam extrato congelado de *I. paraguariensis* obtido no terceiro estágio do processo de concentração de congelamento, utilizando maltodextrinas, através da técnica de atomização por *spray drying*, avaliando o efeito do encapsulamento no teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante. De Vos et al., (2010) descreveram ainda a utilização de pectinas, dextrinas, amido e inulina como materiais de parede para o encapsulamento de vitaminas lipossolúveis, carotenoides, ácidos graxos, fosfolipídios e bactérias probióticas, visando a preservação da funcionalidade e entrega dirigida de componentes alimentares bioativos.

Diversos procedimentos de encapsulamento são propostos, mas considerando-se que os componentes alimentares bioativos têm características físicas, químicas e fisiológicas próprias, a retenção do núcleo dentro de uma microcápsula, sua estabilidade e eficiência do encapsulamento dependem de muitos fatores. Dentre estes, a estrutura e o peso molecular, a polaridade, a volatilidade, a solubilidade em água e óleo, a interação do ingrediente com o material de parede e a localização dentro da estrutura da cápsula até a sua liberação são considerados os principais fatores (AUGUSTIN & HEMAR, 2008). Portanto, nenhum procedimento pode ser considerado universalmente aplicável, tornando necessários estudos específicos para adaptar cada ingrediente ao material de parede, bem como, a sua aplicação e a liberação dos compostos de interesse para o meio. Além de atender aos requisitos citados é imperativo ainda que o encapsulado suporte influências do ambiente durante o processamento, armazenamento e transporte (DE VOS, et al, 2010).

De acordo com Risch & Reineccius (1995), uma das primeiras aplicações na indústria alimentícia foi o encapsulamento de aromatizantes por *spray dryer* na década de 30, desde então

a tecnologia de encapsulação tem sido utilizada e, em decorrência das inúmeras atribuições benéficas segue em rápida expansão. Dessa forma buscando aprimorar alimentos tradicionais, o uso dos componentes encapsulados podem trazer benefícios à saúde dos consumidores (AUGUSTIN & HEMAR, 2008; DESAI & JIN PARK, 2005; FANG; BHANDARI, 2010) e, propriedades adicionais a ingredientes e embalagens de alimentos.

Conforme Kwak (2014) microencapsulação é a tecnologia na qual os materiais de núcleo enriquecido com compostos de interesse são embalados em materiais de parede para formar um sistema de proteção. Esta tecnologia pode ser aplicável para materiais sólidos, líquidos ou gasosos. Os materiais, encapsulados ou não, com tamanho superior a 5000 μm são denominadas macro, entre 0,2 a 5000 μm , micro e menores que 100 nm, materiais nanométricos (AUGUSTIN & HEMAR, 2008; SILVA et al., 2014; TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

Quanto à morfologia, os encapsulados são constituídos por duas partes, chamadas de núcleo e parede. O núcleo consiste no material de interesse que se deseja encapsular e a parede confere a sua proteção ao ambiente externo, através da redução da taxa de evaporação e de transferência de material do núcleo para o meio circundante. Diferentes morfologias podem ser obtidas, de acordo com as propriedades características do núcleo e da parede e, da técnica de encapsulamento utilizada. Uma grande variedade de materiais de revestimento pode ser utilizada nas formulações. Estes materiais podem ser classificados em quatro categorias; (1) polímeros solúveis em água, (2) polímeros insolúveis em água, (3) material não polimérico solúvel em água e (4) material não polimérico insolúvel em água (FANG; BHANDARI, 2010). Os materiais de parede devem ser comprovadamente *Generally Recognized As Safe* (GRAS) e de grau alimentício para aplicação em alimentos e fármacos (KUANG; OLIVEIRA; CREAN, 2010).

No encapsulamento para aplicações em alimentos, em geral, utilizam-se proteínas, carboidratos, gorduras, surfactantes de baixo peso molecular e co-polímeros. A estrutura molecular destes materiais e como eles podem ser montados em microestruturas físicas demonstra sua utilidade como encapsulantes relacionando-se a suas propriedades emulsionantes, sua viscosidade e formação de redes de gel (AUGUSTIN & HEMAR, 2008). Os carboidratos (amido, amidos modificados e gomas) são os materiais mais utilizados para a encapsulação em decorrência de sua aptidão em uma gama de compostos, além de sua diversidade e em alguns casos, baixo custo (RUTZ et al., 2013).

Segundo Zhu (2017) a aplicação de diferentes técnicas de encapsulamento resultam em estruturas com tamanhos e propriedades físico-químicas e de entrega diferentes. Os métodos utilizados para encapsulação podem ser físicos incluindo nesse caso extrusão, liofilização,

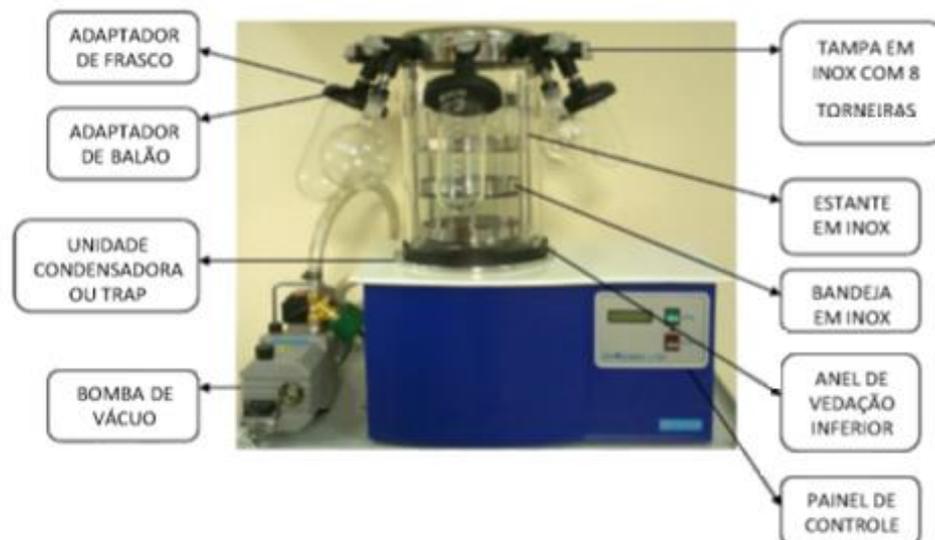
spray chilling, *spray drying*, revestimento de leito fluidizado, entre outros; métodos químicos como complexação, inclusão molecular e polimerização interfacial ou físico-químicos, a exemplo da coacervação e de lipossomas.

2.2.1 Liofilização

A liofilização, também chamada de *freeze-drying* ou criodessecação, consiste em um método de desidratação caracterizado pela secagem de uma amostra congelada pela sublimação da água na forma de gelo, sob vácuo, em baixa temperatura (COOK et al., 2012). Fonte; Reis; Sarmento (2016), descrevem que durante o processo de secagem em liofilizador, o condensador e a bomba de vácuo são os responsáveis por fornecer as condições de temperatura ideal para remoção de água, podendo ser observados na Figura 3. Portanto, essa técnica é capaz de preservar a qualidade de produtos, pois o material permanece congelado até estar completamente seco. Este processo de secagem possibilita a reidratação em ótima forma e rapidez, permitindo aumento da vida útil de alimentos e facilitando o manuseio e armazenamento dos mesmos, uma vez em que se obtêm desidratados de alta qualidade (CHAICOUSKI et al. 2014; FONTE; REIS; SARMENTO, 2016).

Desta forma, tratando-se de compostos termosensíveis e instáveis, a liofilização é indicada e considerada uma técnica eficaz para preservar estes componentes, apesar do elevado custo e longo período requerido para a desidratação (AUGUSTIN & HEMAR, 2008; DESAI & JIN PARK, 2005; FANG; BHANDARI, 2010). Os pós-liofilizados apresentam característica porosa, geralmente esmagados ou moídos após a secagem, o que pode induzir variabilidade no tamanho das partículas, assim como, na liberação do núcleo para a superfície ou ambiente externo, quando encapsulados. Ainda assim, a liofilização é bastante indicada como uma das mais importantes técnicas de preservação adequada para aplicações de alto valor agregado (KWAK, 2014).

Figura 3 - Imagem ilustrativa de liofilizador.



Fonte: LIOBRAS, (2010).

2.2.2 Material de parede

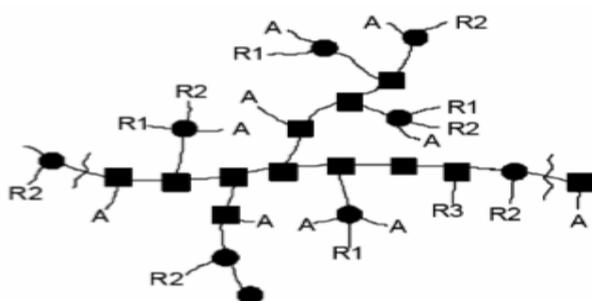
2.2.2.1 Goma arábica

A goma arábica também chamada de goma acácia ou fibra acácia é um composto de origem vegetal exudada dos caules e ramos de espécies específicas de *Acácia*; *Acácia Senegal* e *Acácia seyal*. A goma arábica é composta principalmente de polissacarídeos complexos, com estrutura altamente ramificada, cuja cadeia principal de galactana liga-se lateralmente à cadeias de galactose/arabinose, apresentando diferentes estruturas como D-galactose, L-ramnose, L-arabinose e 2 ácidos urônicos (ácido D-glucurônico e ácido 4-O-metil-D-glucurônico), contendo de 1 a 2,5% de proteína (Figura 4) (DICKINSON, 2003; GASHUA; WILLIAMS; BALDWIN, 2016).

Na indústria alimentícia, as gomas, os também conhecidas como hidrocolóides, atuam principalmente na modificação e manutenção das características reológicas dos produtos, como textura, viscosidade, consistência, aspecto e corpo. No Brasil a goma arábica é classificada como um aditivo (INS 414), possui capacidade emulsificante, de agente estabilizador e agente encapsulante, sendo muito utilizada, devido a sua solubilidade em água, baixa viscosidade quando comparada à outros polissacarídeos de massa molecular similar, sabor suave e alta estabilidade oxidativa, além de ser inodora e quase insípida (GASHUA; WILLIAMS; BALDWIN, 2016).

Multifuncional, a goma arábica é considerada GRAS, utilizada em produtos como doces e chicletes, devido a suas propriedades de revestimento estável e agente texturizante e gelificante, em vinhos e cervejas como agente protetor coloidal, clarificando e estabilizando a espuma e também, em produtos dietéticos, pois além dos atributos tecnológicos possui características terapêuticas e imunomodulatórias (BOVO et al., 2016).

Figura 4 - Estrutura química da goma arábica.



Fonte: PRATA,2006 adaptado de ISLAM et al.(1997).

2.2.2.2 Frutooligossacarídeo

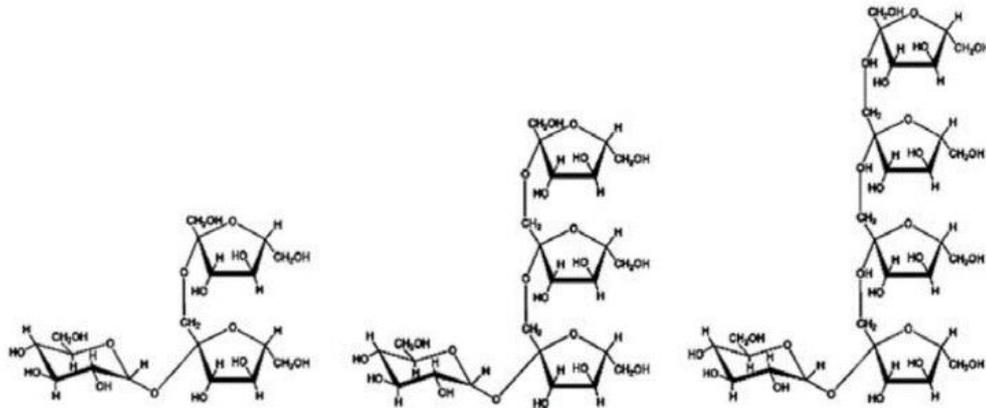
Os frutooligossacarídeos (FOS) são carboidratos que na maioria dos países são considerados ingredientes alimentares. Possuem o status GRAS e, constam na lista de alimentos com alegações de propriedade funcional aprovadas pela ANVISA (PASSOS; PARK, 2003; ANVISA, 2008).

Os FOS são compostos de origem vegetal que pertencem a classe de oligossacarídeos não digeríveis. A sua estrutura química constitui-se de uma cadeia cujo comprimento pode variar de 2 a 60 unidades de frutose com uma unidade terminal de glicose unidas por ligações beta glicosídicas (2-1) (Figura 5). Devido a estas características não são hidrolisados pelo sistema digestivo humano e sim pelas bactérias intestinais em ácidos graxos voláteis de cadeia curta e gases. Por esta razão são considerados prebióticos, pois incitam seletivamente o crescimento e/ou a atividade de espécies de bactérias benéficas ao hospedeiro, principalmente as bifidobactérias, apresentando propriedades bifidogênicas, refletindo significativamente na prevenção e controle de dislipidemias (SABATER-MOLINA, et al., 2009).

Os FOS são solúveis em água, altamente higroscópicos, apresentam capacidade de retenção de água e viscosidade maiores do que da sacarose, bem como, estabilidade térmica também superior. Além disso, apresentam ainda alta estabilidade em pH de 4 a 7 e quando consumidos não são utilizados como fonte de energia (SABATER-MOLINA, et al., 2009).

Inicialmente a maioria dos FOS comercialmente disponíveis eram sintetizados a partir de sacarose ou extraídos de partes comestíveis de algumas plantas como cebola, aspargos, alcachofras, alho, raiz de chicória entre outras. No entanto, podem ser também sintetizados enzimaticamente a partir de sacarose por frutossiltransferases ou de inulina por endoinulinases (SINGH; SINGH, 2010).

Figura 5 - Estrutura química do Frutoooligossacarídeo (FOS).



Fonte: SABATER-MOLINA, et al., (2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

A erva-mate *in natura* utilizada foi cedida pela empresa Mate Laranjeiras, proveniente da cidade de Laranjeiras do Sul, localizada na região Centro-Sul do Estado do Paraná, Brasil (25° 24' 28" S 52° 24' 57" O). As coletas foram realizadas de árvores com menos de 10 anos, em cultivo não nativo, sombreado, com amostragem ao acaso, de forma estratificada, representativa e atingindo todas as partes da planta (abrangendo os 4 sentidos cardeais, alto, baixo e no interior da mesma), ocorrendo nos meses de março e abril do ano de 2017. As folhas sadias foram selecionadas e separadas dos galhos, higienizadas com água corrente (para remoção das sujidades superficiais) e sanitizadas em solução de 200 ppm de cloro, imersas por 15 minutos, enxaguadas e submetidas à secagem em estufa com circulação de ar (American Lab, AL – 102/480) a 35°C por 72 horas e, então trituradas em moinho de facas tipo *Willye* (Fortinox, Star FT-50, Brasil) com granulometria de 20 *mesh*.

As amostras de erva-mate comercial para chimarrão foram adquiridas no comércio local da mesma cidade, verificando quais não possuíam outros ingredientes adicionados. Foram adquiridas três marcas, com data de fabricação entre os meses de março e abril de 2017, não embaladas à vácuo. Estas amostras foram submetidas à peneira granulométrica de 20 *mesh* para separação de galhos e talos. As marcas foram denominadas M, T e S. As ervas-mate *in natura* e de marcas comerciais foram armazenadas em embalagens de *nylon* e polietileno, fechadas à vácuo, armazenadas em ultrafreezer à temperatura de congelamento de -80° C.

Como materiais de parede foram utilizados frutooligossacarídeo (Metachem) e goma arábica (Reatec). Para determinação da capacidade antioxidante utilizou-se 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) (Sigma-Aldrich), ácido 2,2'-azinobis-. 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS) (Sigma-Aldrich) e 6-hidroxi- 2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico (Trolox®) (Sigma-Aldrich). Os demais reagentes foram de grau analítico.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 EXPERIMENTO I Obtenção e caracterização de extratos de erva-mate

3.2.1.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO

Para obtenção dos extratos líquidos, 8g de erva-mate foram preparadas conforme descrito por Deladino et al., (2008) com adaptações. Em um Becker de vidro, 40 mL do solvente específico (água destilada, etanol 100% ou água:etanol 1:1 v:v) foi adicionado à amostra, selado com parafilm conforme Figura 6 e, mantido em banho termostático tipo Dubnoff (Nova técnica, NT 232, Brasil) a 50°C, com agitação mecânica branda (48 BPM) por 5 horas. Após esse período, os extratos foram filtrados utilizando papel filtro (12,5 cm de diâmetro e 14 µm de tamanho de poro), e o volume original reconstituído com os respectivos solventes e armazenados em tubos de polipropileno protegidos da luz em ultrafreezer a -80°C até o momento das análises.

Na Tabela 2 é apresentado o delineamento experimental utilizado para extração dos compostos bioativos presentes nas diferentes amostras de erva-mate avaliadas (erva-mate in natura seca em estufa e ervas-mate comerciais) e para os diferentes solventes (água, etanol, água:etanol). Todas as extrações foram realizadas em triplicata.

Figura 6 – Obtenção dos extratos de erva-mate.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 2 - Delineamento experimental para obtenção dos extratos de erva-mate.

Tratamento	Matéria-prima	Solvente
1	F	Água
2	F	Etanol
3	F	Água:Etanol (1:1)
4	M.1	Água
5	M.2	Etanol
6	M.3	Água:Etanol (1:1)
7	T.1	Água
8	T.2	Etanol
9	T.3	Água:Etanol (1:1)
10	S.1	Água
11	S.2	Etanol
12	S.3	Água:Etanol (1:1)

F: folha seca em estufa, M: erva comercial marca 1, T: erva comercial marca 2, S: erva comercial marca 3. 3x4=12 tratamentos com 3 repetições cada, totalizando 36 amostras. Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

3.2.1.2 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

As análises de caracterização foram desenvolvidas na Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), no *Campus* de Laranjeiras do Sul-PR. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

As análises do teor de sólidos totais, sólidos solúveis (°Brix), pH e acidez titulável foram realizadas conforme metodologias do Instituto Adolfo Lutz (2008).

3.2.1.2.1 Determinação de fenólicos totais

A determinação de compostos fenólicos totais dos extratos de erva-mate foi realizada por meio do método espectrofotométrico com reagente *Folin-Ciocalteu*, de acordo com Bucic-Kojic et al., (2007) com modificações. Adicionou-se em microplaca K12-096 (KASVI), 204 μL de água destilada, 10 μL de extrato e 44 μL de Folin-Ciocalteu a 10%, após 5 minutos adicionou-se 22 μL de carbonato de sódio a 7,5%. A placa foi mantida em repouso, na ausência de luz por 2 horas e posteriormente realizada leitura em comprimento de onda de 765 nm em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Multiskan GO, Estados Unidos), descontando o valor do branco (todos os reagentes menos o extrato) de cada medida. Uma curva padrão foi elaborada com ácido gálico nas concentrações de 0; 2,5; 5; 7,5; 10 e 12,5 mg de EAG mL^{-1} . Os resultados foram expressos em mg Equivalente de Ácido Gálico/g de erva-mate seca EAG g^{-1} (KWIATKOWSKI et al., 2010).

3.2.1.2.2 Determinação de flavonóides

Os flavonóides totais foram determinados por meio da metodologia de Zhishen, Mengcheng, Jianming (1999). Adicionou-se em microplaca K12-096 (KASVI), 25 μL de água destilada, 175 μL de extrato, 9 μL de nitrito de sódio a 10%. Após intervalo de 5 minutos foram adicionados 9 μL de cloreto de alumínio, seguido por intervalo de 6 minutos, com posterior adição de 60 μL de hidróxido de sódio. A leitura da placa foi realizada em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Multiskan GO, Estados Unidos), no comprimento de onda de 510 nm. Para leitura de branco foram utilizados os solventes no lugar dos extratos. Uma curva padrão foi elaborada com padrão de Catequina, nas concentrações de 10; 25; 50; 75 e 100 μg de Catequina mL^{-1} . Os resultados foram expressos em mg Catequina g^{-1} de extrato.

3.2.1.2.3 Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada por meio da capacidade dos compostos presentes nas amostras em doar hidrogênio para o radical livre DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) de acordo com Brand-Williams, Cuvelier, Berset (1995), com redução do radical cromóforo e mudança da coloração da solução original de violeta intensa para amarelo, proporcionalmente à concentração de compostos antioxidantes presentes na amostra. Para tanto, primeiramente a solução de DPPH• (2,4 mg do radical DPPH diluída em metanol 0,06 mM), foi ajustada para um valor de absorvância de 1,08 a 1,12 nm em comprimento de onda de 515 nm. Adicionou-se em microplaca K12-096 (KASVI), 7 μL de extrato diluído (50 μL de extrato completado para 10 mL do respectivo solvente) e 273 μL de DPPH•. Imediatamente iniciaram-se as leituras no comprimento de onda de 515 nm, a cada 2 minutos até que fosse possível observar valores estáveis entre as leituras. Para leitura de branco foram utilizados os solventes no lugar dos extratos. Os resultados foram expressos em m μg de Equivalente de Trolox® g^{-1} de erva.

A atividade antioxidante do extrato também foi avaliada através da inibição do radical ABTS•+ (2,2'-azinobis-. 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) de acordo com Kuskoski et al., (2005), com redução do radical cromóforo e mudança na coloração original de verde intenso para verde claro, proporcionalmente à concentração de compostos antioxidantes presentes na amostra. A solução ABTS•+ foi diluída em álcool etílico até se obter uma absorvância de $0,70 \pm 0,05$ nm a 734 nm. Adicionou-se em microplaca K12-096 (KASVI), 3 μL de extrato diluído (50 μL de extrato completado para 1 ml do respectivo solvente) e 277 μL de ABTS•+. Após 6

minutos de reação em ambiente escuro, foi realizada leitura da absorbância em 734 nm. Para leitura de branco foram utilizados os solventes no lugar dos extratos. Os resultados foram expressos em μg de Equivalente de Trolox® g^{-1} de erva.

A atividade antioxidante tanto pela inibição do radical DPPH• quanto do ABTS•+ foram quantificados com base nas curvas de calibração utilizando solução mãe de Trolox® 4000 μM (5 mg de Trolox® diluído em metanol completado para 5 mL). Para DPPH• as concentrações utilizadas nos pontos da curva foram 0; 60; 400; 600; 800; 1000 e 2000 μM de Trolox® e para ABTS•+ 0; 60; 100; 400; 800 e 2000 μM de Trolox®.

3.2.2 EXPERIMENTO II Microencapsulação de extrato de erva-mate

3.2.2.1 ELABORAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS

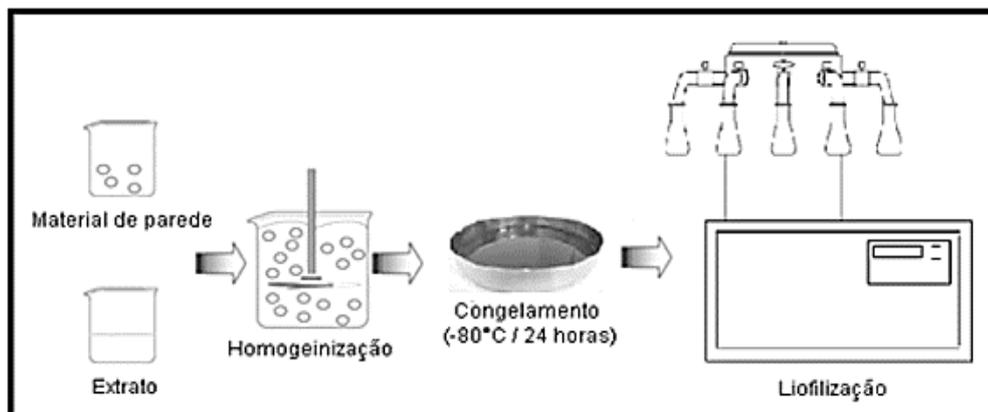
As soluções poliméricas de goma arábica e FOS para utilização como material de parede foram misturadas em diferentes proporções, conforme Tabela 3. O extrato e os materiais de parede foram utilizados na proporção 1:1 em relação ao teor de sólidos totais das misturas. Os agentes encapsulantes foram adicionados ao extrato líquido de erva-mate e submetidos à agitação constante por 10 minutos para homogeneização (Figura 7) em agitador mecânico (Marconi, MA259/50A2000, Piracicaba). Na sequência cada mistura foi congelada em ultrafreezer (-80°C) para posterior liofilização.

Tabela 3 - Delineamento experimental para o encapsulamento do extrato de erva-mate.

Tratamento	Concentração goma Arábica ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	Concentração FOS ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	Concentração extrato ($\text{g sólidos g material de parede}^{-1}$)
1	0	100	1:1
2	25	75	1:1
3	50	50	1:1
4	75	25	1:1
5	100	0	1:1

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 7 - Esquema de preparação dos complexos para o processo de encapsulamento.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2.2.2 LIOFILIZAÇÃO

Após 24 horas em ultrafreezer, as amostras foram secas em liofilizador de bancada marca Liotop (São Carlos – SP) modelo L101 por 27 horas (98/ 119 uHg; 55°C; 214 Vca).

3.2.2.3 CARACTERIZAÇÃO DOS MICROENCAPSULADOS

Para as análises de caracterização dos microencapsulados, foram adicionados em tubo de polipropileno protegido da luz, 0,05 g das microcápsulas e 9,95 mL de solvente água:etanol. As misturas foram homogeneizadas em vortex por 1 minuto e centrifugadas por 10 minutos.

3.2.2.3.1 Determinação de fenólicos totais

A análise de compostos fenólicos totais foi realizada conforme mencionado no item 3.2.1.2.1.

3.2.2.3.2 Determinação de flavonóides

A análise de flavonóides foi realizada conforme mencionado no item 3.2.1.2.2.

3.2.2.3.3 Determinação de atividade antioxidante

A determinação de atividade antioxidante foi realizada conforme mencionado no item 3.2.1.2.3.

3.2.2.3.6 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As temperaturas de degradação dos matérias de parede, extrato puro liofilizado e microencapsulados foram determinadas por meio da análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC), em equipamento Netzch, modelo Polyma 204, utilizando 6,0 mg de amostra, com aquecimento de 30°C até 400°C com taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹ e um fluxo de nitrogênio de 40 mL min⁻¹. A temperatura de cada pico foi determinada para a verificação da degradação dos componentes presentes nas amostras.

3.2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como a médias referentes às determinações realizadas, ao menos, em triplicata e submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de média de Duncan com 95% de confiança ($p > 0,05$), utilizando o software Statistical Analysis System (SAS).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento I - Obtenção e caracterização de extratos de erva-mate

Na Tabela 4 são mostrados os resultados da caracterização físico-química dos extratos de erva-mate obtidos com diferentes solventes em relação ao teor de sólidos totais, sólidos solúveis, pH e acidez titulável.

Tabela 4 - Caracterização físico-química dos extratos de erva-mate.

Propriedades	Solvente	Erva-Mate			
		F	M	S	T
Sólidos totais (%)	A	a 1,97±0,97 B	a 1,04±0,28 B	a 1,82±0,17 A	a 1,20±0,28 A
	E	a 4,55±0,26 A	b 2,82±0,55 A	c 1,68±0,09 A	c 0,90±0,16 A
	AE	ab 1,92±0,17 B	a 2,46±0,15 A	bc 1,32±0,54 A	c 0,93±0,15 A
Sólidos solúveis (°Brix)	A	c 1,29±0,19 C	a 3,47±0,38 B	b 2,02±0,14 C	a 3,42±0,21 C
	E	ab 45,57±2,06 A	b 43,71±0,54 A	ab 45,30±0,61 A	a 46,47±0,31 A
	AE	c 41,12±0,07 B	b 44,47±0,35 A	b 44,02±0,21 B	a 45,40±0,09 B
pH	A	c 5,50±0,02 B	b 5,97±0,01 B	a 6,23±0,08 A	a 6,17±0,01 A
	E	c 5,05±0,10 C	d 4,41±0,04 C	b 5,39±0,04 B	a 5,78±0,03 B
	AE	ab 6,18±0,02 A	b 6,10±0,02 A	a 6,27±0,08 A	a 6,23±0,05 A
Acidez titulável (ácido cítrico 100 g ⁻¹)	A	ab 0,14±0,06 A	a 0,19±0,03 A	ab 0,14±0,01 A	b 0,09±0,01 A
	E	b 0,04±0,00 B	b 0,03±0,01 B	a 0,08±0,01 B	b 0,03±0,01 C
	AE	a 0,15±0,03 A	a 0,16±0,03 A	b 0,04±0,00 C	b 0,05±0,01 B

F: Erva-mate seca, M: Marca comercial 1, S: Marca comercial 2, T: Marca comercial 3, A: solvente água, E: solvente etanol, AE: solvente água:etanol (1:1, v:v). Letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre as amostras pelo solvente e letras minúsculas na linha, diferem entre si para cada tipo de erva-mate, ambas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). Fonte: Elaborado pelo autor.

O teor de sólidos totais não diferiu entre os tipos de erva-mate, utilizando água como solvente. Na utilização de etanol, esta concentração foi superior na erva-mate F (seca) e, quando empregado solvente água:etanol a amostra M apresentou a maior concentração, seguida pelas amostras F>S>T (Tabela 4).

As amostras S e T não apresentaram variações na concentração de sólidos totais entre os solventes utilizados. A erva-mate F apresentou maior concentração de sólidos totais com etanol e a erva M com os solventes etanol e água:etanol (Tabela 4). A concentração de sólidos totais pode estar relacionada com o processo de extração, solubilidade dos sólidos nos

solventes, tamanho das partículas e também com o processo de remoção das partículas sólidas de erva-mate, através da filtração. Desta forma, partículas menores tendem a favorecer os processos extrativos, por apresentarem elevada superfície de contato, e também dificultam a remoção das mesmas nos processos de filtração, resultando em concentrações de sólidos totais elevadas.

A análise de sólidos solúveis, independente do solvente utilizado, resultou em concentrações superiores nas marcas comerciais (Tabela 4). Os resultados justificam-se em função do processamento após a colheita empregado em ervas comerciais, pois estas sofrem sapeco, secagem e moagem. A erva F sofreu apenas secagem branda em estufa, seguida de moagem. Bastos et al. (2006) reportaram teores de $1,60 \pm 0,63 \text{ mg mL}^{-1}$ de sólidos solúveis em extrato aquoso de erva-mate obtido a partir de folhas recém colhidas, $3,35 \pm 1,34 \text{ mg mL}^{-1}$ em folhas parcialmente secas submetidas a etapa de sapeco e $5,99 \pm 1,16 \text{ mg mL}^{-1}$ em folhas após secagem em tambores rotativos e moagem, com amostras oriundas do estado do Paraná. Os autores constataram que a intensidade do tratamento térmico se relaciona ao aumento de sólidos solúveis em extrato aquoso de erva-mate, possivelmente, devido à ruptura celular que ocorre com o emprego de calor e impacto mecânico durante o processamento.

Dentre todas as ervas analisadas o solvente etanol obteve os maiores teores de sólidos solúveis (Tabela 4). Chaicouski et al. (2014) descreveram resultados semelhantes ao analisar extratos aquosos e hidroalcoólicos (água e solução de álcool etílico 70% v/v) obtidos a partir de erva-mate comercial por percolação em funil de separação, durante 24 horas, em temperatura ambiente. As frações obtidas no extrato aquoso não resultaram em leitura no refratômetro enquanto o teor de sólidos solúveis no extrato hidroalcoólico foi de $43,75^\circ \text{Brix}$.

A determinação de sólidos solúveis é uma ferramenta utilizada pela indústria na determinação aproximada do teor de açúcares de seus produtos, uma vez que representam o conteúdo de açúcares solúveis, ácidos orgânicos e outros constituintes menores (PIMENTA et al., 2014). Assim, a utilização de etanol, mesmo diluído (50%), favorece a extração dos açúcares, ácidos orgânicos e outros componentes, com polaridade semelhante a este solvente, presente em amostras de erva-mate.

O pH dos extratos obtidos e analisados variou entre $4,41 \pm 0,04$ (ME) e $6,27 \pm 0,08$ (SAE), (Tabela 4) apresentando valores próximos aos do pH do respectivo solvente utilizado. A indústria utiliza o controle de pH como uma das ferramentas disponíveis no intuito de controlar processos de deterioração devido ao crescimento microbiano. Portanto, a determinação do pH é de suma importância uma vez que grande parte dos microrganismos crescem em ambientes com pH entre 5 e 9, considerando valores abaixo de 4,5 ideais por não ocorrer o

desenvolvimento de *Clostridium botulinum* e de bactérias patogênicas (MADIGAN et al., 2008). Desta forma, os extratos de erva mate caracterizam-se como produtos pouco ácidos, sendo necessário o armazenamento com auxílio de baixas temperaturas ou o emprego de processos de secagem para evitar o desenvolvimento de microrganismos nos mesmos.

A acidez titulável variou entre $0,03 \pm 0,01$ (ME e TE) e $0,19 \pm 0,03$ (MA) g de ácido cítrico em 100 g mL^{-1} de extrato (Tabela 4). A acidez relaciona-se tanto aos ácidos orgânicos existentes no alimento quanto aos provenientes de alterações químicas que podem ocorrer, como a oxidação, estando, portanto, diretamente ligada a conservação do produto (IAL, 2008). A menor acidez foi observada nos extratos etanólicos, exceto para a erva comercial S, evidenciando-se que os componentes dos extratos com características ácidas apresentam alta polaridade, não sendo extraídos nesse solvente. A água foi o solvente mais eficiente na extração dos ácidos que resultam na acidez titulável, pois estes compostos também são polares, mostrando que as diferenças na extração se relacionam à afinidade que os mesmos possuem perante o solvente utilizado.

Na Tabela 5 são mostrados os resultados da quantificação dos compostos bioativos nos extratos de erva-mate obtidos com diferentes solventes. Os compostos fenólicos totais e flavonóides são os compostos mais abundantes na erva-mate e os principais responsáveis pela atividade antioxidante da mesma, que foi determinada frente aos radicais DPPH• e ABTS •+.

A quantificação de compostos fenólicos totais quando analisada frente aos solventes empregados resultou em variação de $55,23 \pm 1,41$ a $58,98 \pm 0,10$ mg GAE g^{-1} para água, $54,48 \pm 1,19$ a $58,71 \pm 0,82$ mg GAE g^{-1} para o solvente etanol e maiores concentrações, $58,88 \pm 1,05$ a $65,78 \pm 1,54$ mg GAE g^{-1} quando utilizado água:etanol, sendo que apenas a erva F (folha seca) não diferiu ($p < 0,05$) entre os solventes utilizados. No entanto para os outros tipos de erva empregadas, o solvente água:etanol demonstrou extração mais eficiente nas marcas comerciais M>T>S=F (Tabela 5). Pode-se dizer que tais diferenças observadas na concentração dos compostos fenólicos totais dos extratos aquoso, alcoólico e hidroalcoólico são consistentes, uma vez que estudos apontam solventes com composição hidroalcoólicos como mais vantajosos na extração desta classe de compostos (BOAVENTURA et al., 2015; MURAKAMI et al., 2013). Ainda, segundo Naczki & Shahidi (2006) a solubilidade dos compostos fenólicos não é tida apenas em função da polaridade do solvente utilizado na extração, podendo ser também influenciada pelo grau de polimerização dos mesmos. Considerando que quimicamente os fenóis possuem estrutura variável, englobando desde moléculas simples até moléculas com alto grau de polimerização, justificam-se as variações demonstradas na Tabela 5.

Tabela 5 – Quantificação de compostos bioativos e atividade antioxidante dos extratos de erva-mate.

Propriedades	Solvente	Erva-Mate			
		F	M	S	T
Compostos fenólicos totais ¹	A	ab 57,89±1,12 A	ab 57,19±1,70 B	b 55,23±1,41 B	a 58,98±0,10 AB
	E	a 58,71±0,82 A	b 54,48±1,19 B	a 57,41±1,02 AB	a 58,16±1,17 B
	AE	c 59,41±0,48 A	a 65,78±1,54 A	c 58,88±1,05 A	b 61,85±1,53 A
Flavonoides ²	A	c 1055±306 C	bc 1433±229 C	b 1643±39 C	a 2537±102 C
	E	a 3625±131 A	b 3106±93 B	ab 3471±209 B	ab 3293±94 B
	AE	c 2625±54 B	b 4323±247 A	b 4498±48 A	a 5283±372 A
DPPH• ³	A	ab 23572±398 A	a 23803±99 A	c 22326±38 A	b 23036±20 A
	E	a 23107±179 A	a 21521±1194 AB	a 21219±142 B	a 23059±1218 A
	AE	a 23374±186 A	a 22724±112 B	c 19806±570 C	b 21044±33 A
ABTS•+ ⁴	A	ab 336±7 A	c 297±13 A	bc 308±10 A	a 353±18 A
	E	c 275±19 B	ab 323±28 A	b 313±9 A	a 352±9 A
	AE	a 270±11 B	c 176±7 B	b 199±1 B	bc 182±13 B

¹Expresso em: mg GAE/ g. ²Expresso em: mg catequina/ g. ^{3,4}Expresso em: µM Trolox® g⁻¹ F: Erva-mate seca, M: Marca comercial 1, S: Marca comercial 2, T: Marca comercial 3. A: solvente água, E: solvente etanol, AE: solvente água:etanol (1:1, v:v). Letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre as amostras pelo solvente e letras minúsculas na linha, diferem entre si para cada tipo de erva-mate, ambas pelo teste de Duncan (p<0,05). Fonte: Elaborado pelo autor.

Sroka et al. (2015), mensuraram o teor de compostos fenólicos em extratos obtidos de diferentes matérias-primas vegetais, dentre elas erva-mate, quantificando maior teor na extração com metanol, à 50°C, por 48 horas, quando comparado ao teor obtido na posterior extração aquosa a 45°C, armazenada por 48 horas a 4°C. Deladino et al. (2008) relatam ter quantificado em extratos aquosos de erva-mate comercial procedente da Argentina, 62,11±1,16 mg de GAE g⁻¹, obtidos em banho termostático a 100°C por 40 min. De Mejia et al. (2010) quantificaram compostos fenólicos em erva-mate comercial, preparando extratos conforme consumo tradicional do chimarrão, adicionando água na temperatura de 98°C por 10 minutos. Dessa forma, quantificaram entre 13 marcas comerciais de erva-mate fabricadas na Argentina e no Paraguai, em média 136,8±24,8 mg GAE g⁻¹ de folha seca. Gullón et al. (2018) obteve 61,62±1,03 mg GAE g⁻¹ de resíduo seco de erva-mate utilizando como solvente etanol 50%, nas condições de temperatura e tempo de 50°C e 180 minutos.

A diferença entre os teores citados e os do presente estudo, podem ser justificadas pela disparidade entre as matérias-primas da qual se originaram os extratos analisados, à própria metodologia aplicada para obtenção dos mesmos e as diferentes procedências das amostras, ressaltando variáveis a saber; tipo de cultivo (nativo ou plantado), procedência e localidade, grau de exposição solar, como exemplos de fatores que podem exercer influência no conteúdo de compostos fenólicos (BASTOS et al., 2006; DARTORA et al., 2011; DONADUZZI et al., 2003).

No que se refere ao tipo de erva-mate estudada, fresca submetida apenas à secagem ou comercial, já foi observado por Bastos et al., (2006) que o conteúdo de compostos fenólicos se relaciona ao tipo de processamento ao qual a erva fora sujeita, com aumento na quantificação de ácido clorogênico em extratos oriundos de folhas submetidas ao processamento incluindo as fases de sapeco, secagem e moagem. Dartora et al. (2011) concluiu em seu estudo que o processamento ao qual as folhas de erva-mate foram submetidas pós-colheita teve influência crítica na composição dos compostos bioativos, pois, as amostras submetidas ao branqueamento e secagem (chimarrão) continham mais compostos fenólicos e conseqüentemente atividade antioxidante mais intensa quando comparadas com folhas oxidadas (chá preto).

Levando em consideração a presença das enzimas polifenoloxidase e peroxidase em frutas e produtos vegetais, dentre eles a erva-mate, e seus mecanismos de oxidação de compostos fenólicos (DARTORA et al., 2011; MUTHUMANI; KUMAR, 2007; OBANDA et al., 2011), justificam-se os resultados encontrados no presente estudo pois o processamento ao qual a erva-mate coletada foi submetido, provavelmente, não foi suficiente para inativar tais enzimas, pois empregou temperatura de 50°C.

Outra relação que pode ser feita é quanto a parte da planta utilizada, tais como, folhas, talos e casca. Não existe a obrigatoriedade em informar na embalagem de ervas comerciais a proporção de folhas e talos, tornando essa composição característica de cada marca, pois é uma variável que exerce influência no sabor do produto final. Além disso, durante o processo de trituração os talos com maior granulometria, podem ser novamente triturados adequando-os para introdução no produto comercial (VIEIRA et al., 2009). Pagliosa et al. (2010), quantificaram maiores teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante usando o radical livre DPPH em extratos metanólicos e aquosos feitos com cascas e galhos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) quando comparado a extratos obtidos utilizando apenas folhas. A amostra de erva mate F foi composta exclusivamente de folhas, as quais foram secas em estufa a 50°C por 72h. Assim, a hipótese de que temperaturas de aproximadamente 35°C durante a secagem,

sem etapa de branqueamento, são favoráveis para a manutenção dos compostos fenólicos em extratos de erva-mate é negada.

A concentração de flavonóides, outra classe de fitoquímicos presente na erva-mate, foi superior quando utilizado o solvente água:etanol entre todas as marcas comerciais, diferindo, portanto, apenas aos resultados obtidos para a erva F (seca) (Tabela 5). Gullón et al., 2018 descreveram resultados similares, ao analisar extratos obtidos a partir de resíduos de erva-mate com diferentes solventes quantificando teores maiores de flavonóides utilizando etanol 50% quando comparado à utilização de água. Tais resultados podem ser atribuídos ao fato de que o canferol e a quercetina são insolúveis em meio aquoso, sugerindo a hipótese de se ter extraídos e quantificado apenas a rutina (RIBEIRO et al., 2017). Isolabella et al. (2010) atribuíram quantidades de rutina diretamente relacionadas ao processo de industrialização ao qual a erva-mate comercial é normalmente submetida, obtendo teores menores no início do processo industrial, observando incremento quando comparados os processos de sapeco e secagem.

Os resultados encontrados neste estudo, referentes a maior quantificação de flavonóides que compostos fenólicos, conforme também observado na Tabela 5, vão ao encontro com os obtidos por Gullón et al. (2018), no qual os autores sugerem a revisão da utilização do padrão mais amplamente utilizado para quantificação dessa classe de compostos; o ácido gálico. Robards et al. (1999) sugerem que em geral os flavonóides possuem atividade antioxidante superior que um grupo da classe dos compostos fenólicos; os ácidos fenólicos o qual o ácido cafeico está presente na erva-mate.

O maior teor de flavonóides observado neste estudo foi de 5357 ± 373 mg catequina g^{-1} na erva-mate comercial T, utilizando o extrato água:etanol (Tabela 5). Tanto o grupo dos compostos fenólicos como dos flavonóides apresentam compostos que são caracterizados por apresentarem alto potencial antioxidante. A atividade antioxidante dos extratos foi medida através da capacidade dos compostos presentes em inibir os radicais DPPH• e ABTS•+. Como resultado obteve-se atividade antioxidante entre 327923 ± 9247 (SAE) μM Trolox® e 394611 ± 1397 (MA) μM Trolox® para DPPH• e de 17586 ± 714 (MAE) μM Trolox® a 35286 ± 1843 (TA) μM Trolox® para ABTS•+.

Oh et al. (2012) analisaram e compararam a atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos aquosos e etanólicos (90%, v/v) de 11 ervas aromáticas, dentre elas *I. paraguariensis*. Utilizaram água para simular as condições gerais de preparo para consumo e etanol para avaliar a eficiência da solubilidade de compostos bioativos polares e apolares. As amostras finamente moídas (50g) foram adicionadas em 1 litro de água aquecida a 80°C, com agitação magnética

suave por 10 minutos. Os extratos etanólicos foram preparados na mesma proporção e agitados por 12 horas à temperatura ambiente. Posteriormente os extratos foram filtrados com papel filtro, rotaevaporados, liofilizados e mantidos fechados hermeticamente a -20°C até as análises. O conteúdo de compostos fenólicos apresentou variação de 10,98 a 144,52 mg GAEg⁻¹. O segundo maior conteúdo nos extratos etanólicos foi atribuído a *I. paraguariensis* (66,86 mg GAEg⁻¹), descrevendo que de maneira geral, a utilização do solvente etanol nas ervas aromáticas resultou em maiores quantificações de compostos fenólicos, quando comparado ao solvente água, inclusive para a erva-mate. Quanto ao teor de flavonóides, em ambos os extratos de *I. paraguariensis* os autores quantificaram altas concentrações, sendo a do extrato etanólico ($48,33 \pm 2,16$) o maior encontrado dentre as amostras.

O estudo de Oh et al. (2012) apontou ainda, a determinação da atividade antioxidante frente aos radicais DPPH• e ABTS•+ de *I. paraguariensis* como sendo a segunda maior, porém os resultados desse estudo, bem como os de outros estudos não podem ser comparados se a expressão e a utilização dos padrões não for a mesma, como pode ser observado na Tabela 6. Porém, é possível inferir que os extratos de erva-mate se destacam pela sua elevada capacidade antioxidante e que os mesmos quando obtidos com etanol tendem a ter elevada atividade antioxidante.

A solução solvente água:etanol (50%, v:v) foi selecionada, pois essa mistura resultou em extratos com maior concentração de compostos fenólicos totais e flavonóides. Dentre os tipos de erva-mate estudados foram verificadas diferenças entre todas as amostras ($p < 0,05$), sendo que os menores teores desses compostos bioativos foram verificados na erva-mate seca (F), levando a escolha de uma erva-mate comercial. Com base nos resultados de caracterização físico-química dos extratos, optou-se pelo prosseguimento do estudo utilizando a matéria-prima erva de marca comercial denominada T, que apresentou menor conteúdo de sólidos totais e maior conteúdo de sólidos solúveis (°Brix) entre as marcas analisadas ($p > 0,05$). Uma vez que o conteúdo de sólidos solúveis é considerado um indicador de rendimento, podendo ser inclusive utilizado para avaliar a eficiência do solvente utilizado na extração e assim justificarse a escolha.

Tabela 6 – Referências trabalhos desenvolvidos e expressão dos resultados de análises da atividade antioxidante de *Ilex paraguariensis*

Estudo/autor/ano	Resultados de atividade antioxidante expresso	Valor
Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas (OH et al., 2012)	Mg ácido ascórbico equivalentes por grama de matéria seca	Extrato aquoso 17,90±0,61 (DPPH) 44,46±7,21 (ABTS) Extrato etanólico 58,24±0,58 (DPPH) 80,51±0,17 (ABTS)
Antiradical activity and amount of phenolic compounds in extracts obtained from some plant raw materials containing methylxanthine alkaloids (SROKA et al., 2015)	Número de unidades antiradical por miligrama de extrato e por grama de matéria seca	Extrato aquoso 2,76±0,17 Extrato metanólico 1,17±0,45
Release of yerba mate antioxidants from corn starch-alginate capsules as affected by structure (CÓRDOBA et al., 2013)	%I (Inibição do radical livre DPPH em percentual) matéria seca	69,18 – 69,69
Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (<i>Ilex paraguariensis</i>) and Green Tea (<i>Camelia sinensis</i>) Extracts (BASTOS et al., 2007)	%I (Inibição do radical livre DPPH em percentual) EC ₅₀ (Concentração do substrato que causa 50% de redução da atividade DPPH)	Extrato aquoso 87,78±0,76 Extrato etanólico 92,05±0,60
Corn starch systems as carriers for yerba mate (<i>Ilex paraguariensis</i>) antioxidants (DELADINO et al., 2014)	%I (Inibição do radical livre DPPH em percentual)	Extrato aquoso 40 a 90
Chemical Composition and Antioxidant Activity of Yerba-Mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A.St.-Hil., Aquafoliaceae) Extract as Obtained by Spray Drying (BERTÉ et al., 2011)	IC ₅₀ (Concentração do substrato que causa 50% de redução da atividade DPPH)	2,52±0,51
Encapsulation of natural antioxidants extracted from <i>Ilex paraguariensis</i> (DELADINO et al., 2008).	EC ₅₀ (Concentração do substrato que causa 50% de redução da atividade DPPH)	Extrato aquoso líquido 0,72±0,09 Extrato liofilizado 1,05±0,25
UPLC-PDA-MS evaluation of bioactive compounds from leaves of <i>Ilex paraguariensis</i> with different growth conditions, treatments and ageing (DARTORA et al., 2011)	EC ₅₀ (Concentração do substrato que causa 50% de redução da atividade DPPH) %I (Inibição do radical livre DPPH em percentual)	Extrato hidroalcoólico 37,86±0,21 a 1439±0,32
Microencapsulation of freeze concentrated <i>Ilex paraguariensis</i> extract by spray drying (NUNES et al., 2015)	EC ₅₀ (Concentração do substrato que causa 50% de redução da atividade DPPH)	Extrato aquoso 19,63±0,10 a 29,52±0,32

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2 Experimento II – Microencapsulação de extrato de erva-mate

4.2.1 Caracterização dos encapsulados

Os resultados da análise estatística, aplicados aos dados experimentais de quantificação dos compostos fenólicos totais, flavonóides e atividade antioxidante frente aos radicais DPPH• e ABTS•+ no extrato hidroalcoólico de erva-mate liofilizado e encapsulados são apresentados na Tabela 7. Na Figura 8 podem ser observados os extratos após a liofilização. Os resultados para o extrato puro de erva-mate liofilizado, sem adição dos agentes encapsulantes, denominado controle foram utilizados como base de comparação com os dados obtidos para as diferentes formulações.

Tabela 7 - Quantificação dos compostos bioativos nos microencapsulados de erva-mate.

Material de parede		Formulação	COMP. FENÓLICOS ¹	FLAVONOIDES ²	DPPH• ³	ABTS•+ ⁴
G	F					
0	0	C	56,5±0,13 ^b	11352581±1641302 ^b	2595±449 ^c	48033±4202 ^b
0	100	I	108,6±1,02 ^a	20536774±1546806 ^a	6278±515 ^a	104444±5765 ^a
25	75	II	110,2±0,24 ^a	20415484±1895967 ^a	5774±652 ^b	103135±6788 ^a
50	50	III	111,2±0,38 ^a	20532760±1954917 ^a	5778±561 ^b	99266±12320 ^a
75	25	IV	110,2±0,28 ^a	20242581±1525035 ^a	5665±5587 ^b	100266±3548 ^a
100	0	V	110,6±0,36 ^a	21788674±2042827 ^a	5670±717 ^b	99206±4256 ^a

¹Expresso em: mg GAE 100g⁻¹ de extrato presente no liofilizado. ²Expresso em: mg catequina 100g⁻¹ de extrato presente no liofilizado ^{3,4}Expresso em: mM Trolox® 100g⁻¹ de extrato presente no liofilizado. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 8 – Característica macroscópica dos extratos hidroalcoólicos de erva-mate liofilizados utilizando frutooligossacarídeo e goma arábica em diferentes proporções como materiais de parede.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Analisando a Tabela 7 é possível observar que houve diferença entre o teor de compostos fenólicos e de flavonoides entre controle e os encapsulados ($p < 0,05$), sugerindo que a microencapsulação foi capaz de proteger os fitoquímicos presentes no extrato. O extrato de erva-mate foi produzido utilizando-se 6 g em 30 mL de solvente. A proporção de extrato e

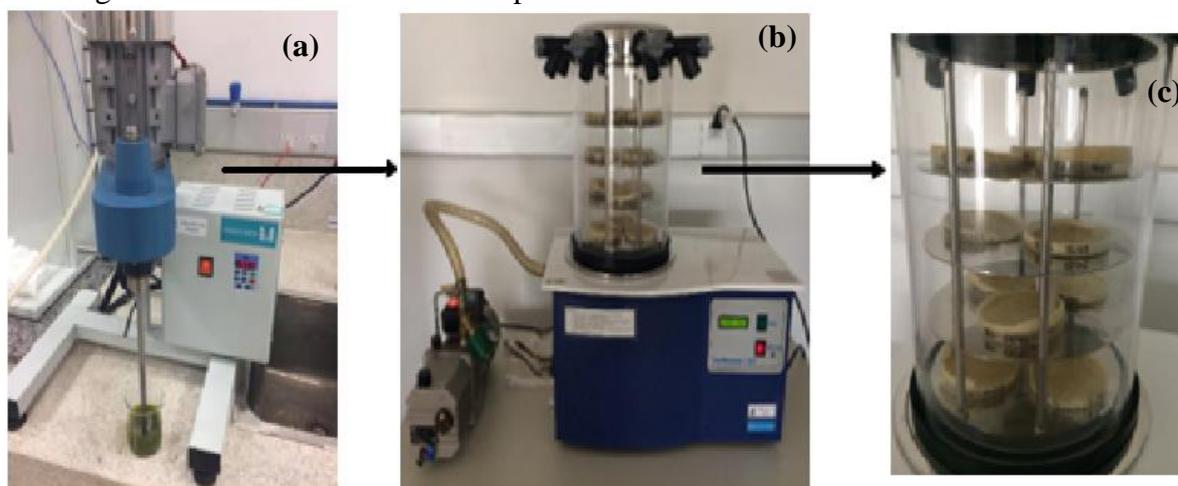
material de parede empregados no processo de encapsulamento foi de 1:1 (g:g), em massa de extrato e material de parede. Assim, é possível verificar que o extrato liofilizado sem adição de material de parede possui 50% menos compostos fenólicos e flavonoides em relação aos extratos microencapsulados.

Deladino et al. (2013) determinaram compostos fenólicos de extrato líquido aquoso e liofilizado de erva-mate, por HPLC, não verificando diferenças no teor de ácido clorogênico entre as amostras. No entanto as concentrações de compostos relacionados ao ácido clorogênico, (rutina e cafeína) nos liofilizados foi maior.

Em todas as formulações estudadas, produziu-se microcápsulas com maiores concentrações de compostos fenólicos, quando comparado ao extrato puro liofilizado ($p < 0,05$) (Tabela 7). Resultados estes são opostos com os avaliados por Deladino et al. (2013) em que ao analisar o conteúdo de compostos fenólicos totais, pelo método de Folin-Ciocalteu utilizando ácido clorogênico e ácido gálico como padrões, os autores evidenciaram redução de 20% nos liofilizados. Embora o processo de liofilização seja considerado adequado para compostos termosensíveis e instáveis, visto que a remoção da água ocorre por sublimação em baixas temperaturas, outros fatores como exposição à luz e oxigênio durante o preparo e a secagem, conforme Figura 9, podem resultar em perdas de determinados compostos tornando a utilização de materiais de parede altamente recomendada.

A busca nas bases de dados científicas por publicações sobre microcápsulas de erva-mate (*I. paraguariensis*) para comparação de resultados, evidenciou a utilização da aplicação de métodos de encapsulamento e materiais de parede diferentes dos escolhidos no presente estudo. Devido a isso a discussão foi embasada nas semelhanças encontradas, a exemplo a utilização de outras moléculas bioativas do grupo dos carboidratos como polissacarídeos (amidos e dextrinas) e polissacarídeos não amiláceos (quitosana e alginato).

Figura 9 –Etapa de preparo das misturas de extrato e material encapsulante (a) e processo de liofilização de microcápsulas de erva-mate (b) e (c) utilizando goma arábica e frutooligossacarídeo como materiais de parede.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Deladino et al. (2008) avaliaram o efeito do mesmo processo utilizado no presente estudo (liofilização) em extrato aquoso de erva-mate utilizando materiais de parede diferentes; alginato de sódio e alginato-quitosana e não encontraram diferença entre compostos fenólicos totais nos extratos líquido e liofilizado, porém ao avaliar as propriedades físicas por microscopia eletrônica de varredura acoplada à espectroscopia de raio-x de energia dispersiva (SEM/EDX) observaram que a liofilização resultou em uma estrutura porosa. Córdoba; Deladino; Martino (2013) também encapsularam extrato de erva-mate, porém, usando outra técnica; a gelificação iônica utilizando alginato de cálcio com e sem amido de milho como materiais de parede. Os autores observaram que a porosidade dos encapsulados com alginato diminuiu com a adição do amido, melhorando, portanto, a morfologia das cápsulas e avaliaram ainda, que a atividade antioxidante do extrato de erva-mate, mensurada em % de inibição do radical livre DPPH•, não foi afetada pelo processo de encapsulamento.

Deladino et al. (2014), avaliaram a habilidade do amido nativo e do amido tratado a altas pressões como veículos para antioxidantes de erva-mate. A concentração de polifenóis da erva-mate nos transportadores de amido foi determinada por HPLC-MS e a sua atividade antioxidante foi medida pelos métodos do radical DPPH• e fotoquimiluminiscência (PCL). Os autores observaram que os amidos tratados incorporaram uma maior quantidade de polifenóis de erva-mate, porém, o amido nativo também se mostrou um transportador antioxidante apropriado. Além disso, verificou-se que a atividade antioxidante foi mantida após o tratamento com alta pressão sem alterar o perfil dos polifenóis da erva-mate.

Negrão-Murakami et al. (2016) microencapsularam, por *spray drying*, concentrado de erva-mate obtido por nanofiltração, usando como material de parede maltodextrina com graus de equivalente de dextrose (DE): 10, 15 e 20. A estabilidade de armazenamento das microcápsulas foi investigada em três diferentes temperaturas de armazenamento (5°C, 25°C e 45°C) durante 90 dias. Os valores de da maltodextrina utilizados como material de parede não tiveram efeitos no teor total de fenólicos ou na atividade antioxidante das microcápsulas. Os ensaios mostraram que todos os sistemas encapsulados foram muito mais estáveis que o extrato livre sob todas as condições avaliadas. Quanto à estabilidade dos polifenóis e atividade antioxidante, a maltodextrina DE10 produziu microcápsulas mais estáveis e, portanto, foi considerada pelos autores o material de parede mais eficaz, sugerindo ainda o armazenamento a temperatura de 5°C do pó de concentrado de mate seco em *spray drier* como mais adequada para manter a estabilidade dos polifenóis e a atividade antioxidante.

Os dados da Tabela 7 quanto à avaliação da atividade antioxidante através da inibição do radical DPPH• mostraram haver diferença ($p < 0,05$) entre o controle e os demais tratamentos. O extrato liofilizado sem adição de material de parede possui 50% menos atividade antioxidante em relação aos extratos microencapsulados. Os resultados verificados neste estudo foram superiores aos de Rezende; Nogueira; Narain (2018), que quantificaram 12916 a 15524 μM Trolox® 100 g^{-1} de extrato etanólico liofilizado de polpa de acerola (*Malpighia emarginata* DC) utilizando goma arábica e maltodextrina como materiais de parede.

A menor atividade antioxidante frente ao radical ABTS•+ foi verificada no controle. Rezende; Nogueira; Narain (2018) não verificaram diferenças na análise antioxidante pela inibição do radical ABTS•+ entre extratos etanólicos de polpa de acerola (*Malpighia emarginata* DC) e seus encapsulados obtidos por liofilização, utilizando goma arábica e maltodextrina como materiais de parede. Ao comparar a atividade antioxidante de extratos obtidos por diferentes processos, liofilização e atomização por *spray drying*, os autores também não descrevem diferenças na atividade antioxidante.

Cilek et al. (2012) microencapsularam compostos fenólicos presentes em bagaço de cereja, utilizando maltodextrina e goma arábica, nas proporções 10:0, 8:2, e 6:4 respectivamente, homogeneizando as suspensões em ultrassom a 160 W de potência e frequência de 20 KHz por diferentes períodos de tempo (5-30 min) e liofilizando-as durante 48 horas para obter as microcápsulas. Duas proporções diferentes de relação núcleo:material de parede foram analisadas; 1:20 e 1:10. Verificou-se que as microcápsulas de razão 1:20 tinham tamanhos de partículas menores e eficiências de encapsulação superiores (78-92%) do que aquelas com razão núcleo:revestimento de 1:10, com eficiência de encapsulação 70-85% e

ainda, que a eficiência da encapsulação aumentava com o aumento da proporção de goma arábica.

Devido a seu efeito prebiótico, isto é, capaz de melhorar a viabilidade e sobrevivência de microrganismos probióticos no trato intestinal através da fermentação por bactérias, são relatados em maior número estudos sobre encapsulamento de FOS como material de parede aplicado à diferentes cepas prebióticas como *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422), *Lactobacillus acidophilus* (1a-5), *Lactobacillus casei* (ATCC 393), *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC 9469) dentre outros (AHMADI et al., 2012; RAJAM; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014; RODRIGUEZ-BARONA; GIRALDO & MONTES, 2016). Os prébióticos, como o FOS, são resistentes à acidez gástrica e à digestão, diferentemente das cepas, porém ambos têm em comum o intestino grosso como alvo funcional, portanto sua junção é capaz de reforçar o efeito um do outro, combinação sinérgica denominada simbiótica.

Da mesma forma busca-se incorporar em alimentos bactérias probióticas, os fitoquímicos presentes na erva-mate são alvo para obtenção de alimentos funcionais, contudo, ambos apresentam sensibilidade à fatores extinsecos, tendo o encapsulamento como alternativa. Rajam; Anandharamakrishnan (2015) encapsularam probiótico (*L. plantarum*) por *spray drying*, utilizando FOS em combinação com proteína de soro de leite isolada (WPI) ou com proteína de soro de leite isolada desnaturada (DWPI), em duas relações núcleo:parede diferentes; 1:1 e 1:1,5. Observaram que as microcápsulas de FOS com DWPI na relação 1:1 apresentaram eficiência de encapsulação de 98,63%, enquanto a relação 1:1,5 exibiu melhor estabilidade de armazenamento e proteção em condições gástricas e intestinais simuladas em comparação ao outro encapsulado.

Rodriguez-Barona; Giraldo & Montes (2016) encapsularam probióticos (*L. casei* e *L. rhamnosus*) por liofilização, utilizando maltodextrina e FOS e maltodextrina e inulina como materiais de parede, observando maiores porcentagens de sobrevivência das bactérias probióticas com a utilização dos materiais de parede.

O comportamento térmico das microcápsulas e do extrato puro liofilizado (controle) pode ser observado nas curvas de DSC mostrados na Figura 10.

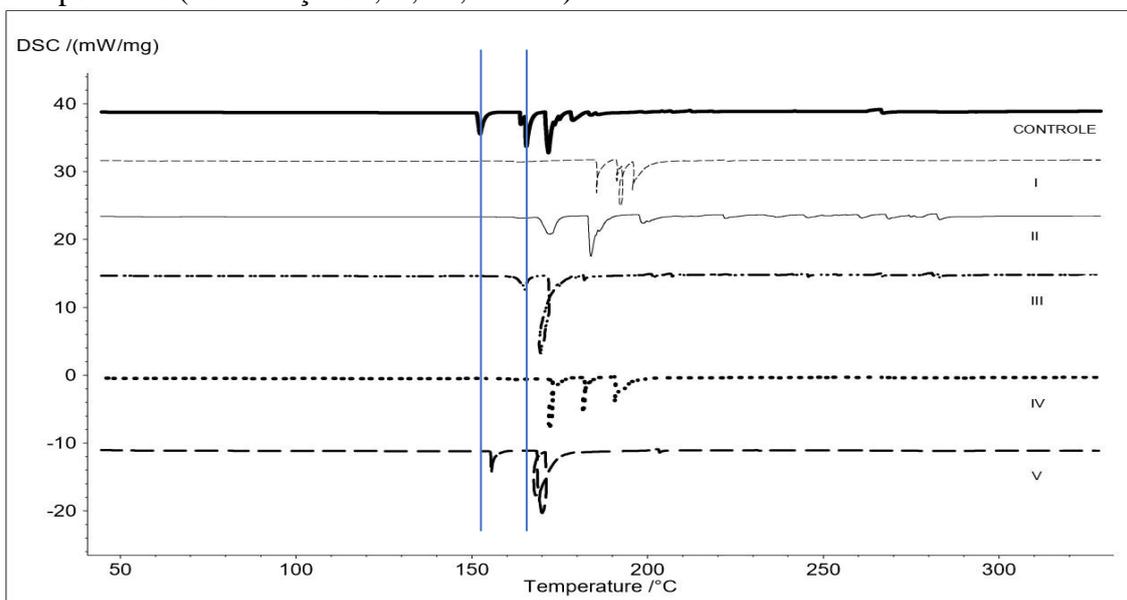
A aplicação de tecnologias de microencapsulamento na indústria alimentícia é baseada principalmente na estabilidade dos compostos alvo no núcleo das cápsulas (Kwak,2014). As análises térmicas abrangem um grupo de técnicas na qual uma propriedade física da substância é avaliada em função da temperatura e podem ser utilizadas para confirmar a encapsulação por serem relativamente simples e demandarem pouco tempo (BROWN, M. E.,1988).

Para a amostra controle, a curva de DSC mostrou um pico endotérmico inicial a 150,9°C e demais picos em 163,4°C; 164,0°C; 169,3°C; 178,0°C e 183,2°C, conforme mostrado na Figura 10 e na Tabela 8, indicando a sensibilidade térmica dos compostos presentes no extrato. A curva característica de uma mistura física, geralmente, é composta por picos referentes ao polímero utilizado como material encapsulante e ao composto encapsulado (MURA et al, 1996).

Pode-se detectar a encapsulação utilizando DSC, através da comparação da temperatura do início de degradação do compostos a ser encapsulado (controle) com a temperatura inicial de degradação dos microencapsulados (NUNES; et al., 2015). A temperatura do pico inicial nos encapsulados variou de 155,5°C e 185,5°C, nas formulações V e I, respectivamente, sugerindo que a goma arábica e o FOS utilizados como materiais de parede foram capazes de proteger termicamente os compostos presentes no extrato de erva-mate, ao deslocar o ponto de fusão das cápsulas, melhorando assim, a sua estabilidade térmica.

Comportamento semelhante foi relato por Nunes et al. (2015) em amostras de *I. paraguariensis* microencapsuladas com maltodextrinas e por Rutz et al. (2013) em amostras de *Eugenia uniflora L.* microencapsuladas com goma arábica. Pode-se observar pelo termograma do tratamento I, II, III, IV houve o desaparecimento do primeiro eventos endotérmicos, referente ao controle, seguido do desaparecimento do segundo evento endotérmico nas amostras I, II, IV (Figura 10), o que sugere a proteção e interação do material de parede com o núcleo.

Figura 10 – Curvas de DSC das amostras de extrato de erva-mate liofilizada (Controle) e encapsuladas (Formulações I, II, III, IV e V).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os materiais de parede empregados para o encapsulamento do extrato de erva-mate possuem eventos térmicos distintos (Tabela 8). A goma arábica possui temperatura de fusão de 152,9°C, muito próximo ao primeiro evento do extrato de erva-mate liofilizado. Este comportamento não é favorável para promover uma boa estabilidade térmica. No entanto, o FOS possui seu primeiro pico a 201,6°C, indicando estabilidade térmica superior. Assim, a mistura dos materiais de parede é promissora, visto que FOS, como a maioria dos carboidratos de cadeia curta, possui elevada higroscopicidade, podendo resultar em rápida liberação dos compostos encapsulados (GOMES et al., 2007). Com a associação dos materiais, foi possível verificar eventos com temperaturas intermediárias em relação aos mesmos empregados de forma isolada, indicando o bom desempenho do material de parede elaborado a partir da mistura de 25% de goma arábica e 75% de FOS e 75% de goma arábica e 25% de FOS, com proteção térmica em 3 eventos térmicos, seguido do material de parede elaborado com 50% de goma arábica e 50% de FOS, com efeito positivo em dois eventos térmicos (Tabela 8, Figura 10).

Tabela 8 – Temperaturas de pico da goma arábica, frutoligossacarídeo das amostras de extrato de erva-mate liofilizada (Controle) e encapsuladas (Formulações I, II, III, IV e V)

Material	Temperatura de Pico (°C)					
	1°	2°	3°	4°	5°	6°
G	152,9	-	-	-	-	-
F	201,6	202,7	217,6	233,1	-	-
C	150,9	163,4	164,0	169,3	178,0	183,2
I	185,5	191,3	192,4	195,7	-	-
II	172,2	183,9	198,7	-	-	-
III	165,2	169,7	174,9	-	-	-
IV	172,2	181,7	190,5	-	-	-
V	155,5	168,1	170,0	-	-	-

G: Goma arábica. F: FOS - frutoligossacarídeo. C: controle - extrato puro liofilizado. Fonte: Elaborado pelo autor.

A confirmação da proteção térmica do extrato de erva-mate indica que os compostos presentes foram encapsulados e podem ser utilizados em aplicações que requerem aquecimento durante e após o processamento, tais como cocção e esterilização, armazenamento sob altas temperaturas entre outras. As micropartículas do extrato de erva-mate encapsulado possuem potencial para serem empregadas na indústria alimentícia como antioxidante de fonte natural, colaborando com o controle da oxidação em diferentes alimentos.

5 CONCLUSÕES

O maior teor de compostos fenólicos e flavonóides em extratos de erva-mate foi observado utilizando o solvente água:etanol 1:1 (v:v), exceto para a amostra de erva-mate *in natura* seca em estufa.

A produção de extratos de erva-mate utilizando água:etanol como solvente resultou em produtos com características distintas, sendo que a amostra (*in natura*) seca em condições brandas apresentou concentrações inferiores de compostos fenólicos totais e flavonóides, com relação às amostras comerciais processadas.

A confirmação da encapsulação do extrato hidroalcoólico de erva-mate nas matrizes goma arábica e frutooligossacarídeo foi realizada pela análise térmica utilizando DSC.

A encapsulação do extrato de erva-mate foi capaz de manter a concentração dos compostos bioativos após a secagem, sendo observada diferença estatisticamente significativa entre o teor de compostos fenólicos das diferentes formulações e no extrato puro liofilizado, sabendo-se que se utilizou a proporção de 1:1 de extrato e material de parede para o processo de encapsulamento. Com isso, há o indicativo de que o encapsulamento promoveu manutenção dos compostos bioativos, bem como a estabilidade térmica dos mesmos.

6 PERSPECTIVAS

Realizar estudos de avaliação da estabilidade dos encapsulados durante armazenamento/estocagem.

Realizar estudos de simulação de proteção e liberação em condições gástricas e intestinais simuladas.

As micropartículas do extrato de erva-mate encapsulado são promissoras, pois, possuem potencial para serem empregadas na indústria alimentícia como antioxidante de fonte natural, colaborando com o controle da oxidação em diferentes alimentos ou até mesmo tendo sua aplicação em embalagens ativas. Como trata-se de um ingrediente funcional sugere-se estudar a aplicação em alimentos, como iogurtes, dietas especiais, dietas enterais, goma de mascar e outros.

REFERÊNCIAS

- AHMADI, A. et al. Synbiotic yogurt-ice cream produced via incorporation of microencapsulated lactobacillus acidophilus (la-5) and fructooligosaccharide. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 8, p. 1568–1574, 2012.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução ANVISA/MS nº 18/99. Estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 1999.
- ASOLINI, F. C.; TEDESCO, A. M.; CARPES, S. T. Antioxidant and antibacterial activities of phenolic compounds from extracts of plants used as tea. **Antioxidant and Antibacterial Activities of Phenoli**. n. April, p. 208–215, 2006.
- AUGUSTIN, M. A.; HEMAR, Y. Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. **Chem. Soc. Rev.**, v. 38, n. 4, p. 902–912, 2008.
- BASTOS, D. H. M. et al. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerba maté (*Ilex paraguariensis*) leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 3, p. 399–404, 2006.
- BASTOS, D. H. M. et al. Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba maté (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. **Molecules**, v. 12, n. 3, p. 423–432, 2007.
- BERTÉ, K.; RUCKER, N.; HOFFMANN-RIBANI, R. Yerba maté *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. **Phytotherapie**, v. 9, n. 3, p. 180–184, 2011.
- BOAVENTURA, B. C. B. et al. Enhancement of bioactive compounds content and antioxidant activity of aqueous extract of mate (A. St. Hil.) through freeze concentration technology. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 686–692, 2012.
- BOVO, F. et al. Modulating effects of arabinogalactans from plant gum exudates on human complement system. **Experimental Immunology**, v. 83, p. 324–320, 2016.
- BRACESCO, N. et al. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 3, p. 378–384, 2011.
- BRAND-WILLIAMS; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Sci. Technol.**, v. 28, p. 25–30, 1995.
- BROWN, M. E. Introduction to thermal analysis: techniques and applications. London: Chapman and hall, 211 p, 1988.
- BUCIC-KOJIC, A. et al. Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grapes seeds. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 1, p. 236–242, 2007.
- EFING, L. C.; NAKASHIMA T.; FREITAS, R.J.S. Características químicas e fitoquímicas do material resinoso resultante do processamento da erva-mate *Ilex paraguariensis* St. Hil.
- JUNIOR, C.; L.; MORAND, C. Interest of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) as a new

natural functional food to preserve human cardiovascular health - a review. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 440–454, 2016.

COUSKI, A. et al. Determinação da quantidade de compostos fenólicos totais presentes em extratos líquido e seco de erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 16, p. 33–41, 2014.

CILEK, B. et al. Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: Effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio. **European Food Research and Technology**, v. 235, n. 4, p. 587–596, 2012.

COOK, M. T. et al. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 162, n. 1, p. 56–67, 2012.

CÓRDOBA, A. L.; DELADINO, L.; MARTINO, M. Release of yerba mate antioxidants from corn starch-alginate capsules as affected by structure. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 150–157, 2013.

DA ROSA, C. G. et al. Encapsulation of the phenolic compounds of the blackberry (*Rubus fruticosus*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 2, p. 527–533, 2014.

DARTORA, N. et al. UPLC-PDA-MS evaluation of bioactive compounds from leaves of *Ilex paraguariensis* with different growth conditions, treatments and ageing. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1453–1461, 2011.

DE CAMPOS, R. M. L. et al. Fatty acid and volatile compounds from salami manufactured with yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract and pork back fat and meat from pigs fed on diets with partial replacement of maize with rice bran. **Food Chemistry**, v. 103, n. 4, p. 1159–1167, 2007.

DE MEJIA, E. G. et al. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): Phenolics, antioxidant capacity and in vitro inhibition of colon cancer cell proliferation. **Journal of Functional Foods**, v. 2, n. 1, p. 23–34, 2010.

DE RESENDE, P. E. et al. Influence of crude extract and bioactive fractions of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (yerba mate) on the Wistar rat lipid metabolism. **Journal of Functional Foods**, v. 15, p. 440–451, 2015.

DE VOS, P. et al. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 292–302, 2010.

DELADINO, L. et al. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 1, p. 126–134, 2008.

DELADINO, L. et al. Major phenolics in yerba mate extracts (*Ilex paraguariensis*) and their contribution to the total antioxidant capacity. **Food and Nutrition Sciences**, v. 4, n. 8, p. 154–162, 2013.

DELADINO, L. et al. Corn starch systems as carriers for yerba mate (*Ilex paraguariensis*) antioxidants. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 463–472, 2014.

DELADINO, L.; NAVARRO, A. S.; MARTINO, M. N. Carrier systems for yerba mate

extract (*Ilex paraguariensis*) to enrich instant soups. Release mechanisms under different pH conditions. **LWT - Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 163–169, 2013.

DESAI, K. G. H. & JIN PARK, H. **Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients**. [s.l.: s.n.]. v. 23

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v. 17, n. 1, p. 25–39, 2003.

DONADUZZI, C. M. et al. Variação nos teores de polifenóis totais e taninos em dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) cultivadas em três municípios do Paraná. **Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar**, 2003.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Cultivo da erva-mate. EMBRAPA Florestas. 2 ed. 2014.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols - A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, n. 10, p. 510–523, 2010.

FERRERA, T. S. et al. Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em erva-mate sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, vol.18, n.2, suppl.1, p.588-596, 2016.

FONTE, P.; REIS, S.; SARMENTO, B. Facts and evidences on the lyophilization of polymeric nanoparticles for drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 225, p. 75–86, 2016.

GASHUA, I. B.; WILLIAMS, P. A.; BALDWIN, T. C. Food Hydrocolloids Molecular characteristics, association and interfacial properties of gum Arabic harvested from both *Acacia senegal* and *Acacia seyal*. **Food hydrocolloids**, v. 61, p. 514–522, 2016.

GOMES R. et al. Influência de diferentes agentes de corpo nas características reológicas e sensoriais de chocolates *diet* em sacarose e *light* em calorias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27(3), p. 614-623, 2007.

GULLÓN, B. et al. Yerba mate waste: A sustainable resource of antioxidant compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 113, n. January, p. 398–405, 2018.

HECK, C. I.; DE MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 9, 2007.

HECK, C. I.; SCHMALCKO, M.; DE MEJIA, E. G. Effect of growing and drying conditions on the phenolic composition of Mate teas (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8394–8403, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção Agrícola Municipal: culturas temporárias e permanentes. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1613#resultado>>. Acesso em: 01 nov. 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção da extração

vegetal e da silvicultura 2016. Disponível em: <
https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/74/pevs_2016_v31.pdf>. Acesso em: 01
nov. 2018.

ISLAM, A. M.; PHILLIPS, G. O.; SLJIVO, A.; SNOWDEN, M. J.; WILLIAMS, P. A.. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum Arabic. **Food Hydrocolloids**, v.11, n.4, p.493-505, 1997.

ISOLABELLA, S. et al. Study of the bioactive compounds variation during yerba mate (*Ilex paraguariensis*) processing. **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 695–699, 2010.

JOHN, J. A.; SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**, v. 2, n. 3, p. 196–209, 2010.

KUANG, S. S.; OLIVEIRA, J. C.; CREAN, A. M. Microencapsulation as a Tool for Incorporating Bioactive Ingredients into Food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 10, p. 951–968, 2010.

KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 726–732, 2005.

KWAK, H.-S. **Nano- and Microencapsulation for Foods**. 1 ed. UK, Wiley Blackwell, 2014.

KWIATKOWSKI, T. et al. Inducing probabilistic CCG grammars from logical form with higher order unification. In. **Proceedings of the Conference on Empirical Methods in Natural Language Processing**, 2010.

LAINE, P. et al. Storage stability of microencapsulated cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 23, p. 11251–11261, 2008.

LARRAURI, A.; SAURA-CALIXTO, F. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 270, p. 270–276, 1998.

LIOBRAS. **Manual de Instruções Lofilizadores L101**. 2010.

OBANDA, M.; Owuor, P. O.; MAG'OKA R. Changes in the chemical and sensory quality parameters of black tea due to variations of fermentation time and temperature. **Food Chemistry**, v. 75(4), p. 395–404, 2001.

MADIGAN, M. T; MARTINKO, J. M; PARKER, J. Microbiologia de Brock. São Paulo: Prentice Hall, 2008.

MURA, P.; MANDERIOLI, A.; BRAMANTI, G.; FURLANETTO, S.; PINZAUTI, S. NAWAR, W. W. Lipids. FENNEMA, O. Food Chemistry. 3.ed. New York: Marcel Dekker, 1996.

MURAKAMI, A. N. N. et al. Concentration of biologically active compounds extracted from *Ilex paraguariensis* St. Hil. by nanofiltration. **Food Chemistry**, v. 141, n. 1, p. 60–65, 2013.

MUTHUMANI, T.; KUMAR, K. Influence of fermentation time on the development of

compounds responsible for quality in black tea. **Food Chemistry**, v. 101, p. 98–102, 2007.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 5, p. 1523–1542, 2006.

NEGRÃO-MURAKAMI, A. N. et al. Influence of DE-value of maltodextrin on the physicochemical properties, antioxidant activity, and storage stability of spray dried concentrated mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 79, p. 561–567, 2016.

NUNES, G. L. et al. Microencapsulation of freeze concentrated *Ilex paraguariensis* extract by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 151, p. 60–68, 2015.

OH, J. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. **Food Control**, v. 31 (2), p.

PAGLIOSA, C. M. et al. Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 173–178, 2010.

PASSOS, L. M. L.; PARK, Y. K. Frutooligosacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 385–390, 2003.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146–152, 2012.

PIMENTA, A. C. et al. Caracterização de plantas e de frutos de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart.) nativos no Cerrado Matogrossense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 4, p. 892–899, 2014.

POLIDORO, A. S. et al. Characterization of volatile fractions in green mate and mate leaves (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry (GC × GC/TOFMS). **Microchemical Journal**, v. 128, p. 118–127, 2016.

PRATA, A. S. Estudo dos parâmetros físico-químicos envolvidos na formação de microcápsulas produzidas por coacervação complexa. Campinas, 267p. 2006. Dissertação (Doutora em Alimentos e Nutrição) - Universidade estadual de Campinas (UNICAMP).

RAJAM, R.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, n. 2, p. 773–780, 2014.

REZENDE, Y. R. R.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, 2018.

RIBEIRO, M. C. et al. The effects of roasted yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. ST. Hil.) consumption on glycemia and total serum creatine phosphokinase in patients with traumatic brain injury. **Journal of Functional Foods**, v. 28, p. 240–245, 2017.

RISCH, S. J.; REINECCIUS, G. A. Encapsulation and controlled release of food ingredients. **ACS Symposium Series**, p. 51–90, 1995.

ROBARDS, K. et al. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, London, v.66, p. 401-436, 1999.

RODRIGUEZ-BARONA, S.; GIRALDO, G. I. & MONTES, L. M. Encapsulación de alimentos probióticos mediante liofilización em presencia de prebióticos. **Información Tecnológica**, v. 27 (6), p.135-144, 2016.

RUTZ, J. K. et al. Microencapsulation of purple Brazilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1256–1265, 2013.

SABATER-MOLINA, M. et al. Dietary fructooligosaccharides and potential benefits on health. **Journal of Physiology & Biochemistry**, v. 65, n. 3, p. 315–328, 2009.

SCHINELLA, G. R. et al. Antioxidant effects of an aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 269, n. 2, p. 357–360, 2000.

SIGNOR, P. ; DORNELES, R. C. ; BAUMEL, A. . Diagnóstico da erva mate no Paraná: Núcleos Regionais de Irati e Guarapuava. **Instituto de Florestas do Paraná**, p. 1-16, 2016.

SIGNOR, P.; MARCOLINI, M. Diagnóstico do consumo industrial de erva-mate no Paraná. **Instituto de Florestas do Paraná**, 2017.

SILVA, P. T. DA et al. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1304–1311, 2014.

SINGH, R. S.; SINGH, R. P. Production of fructooligosaccharides from inulin by endoinulinases and their prebiotic potential. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 4, p. 435–450, 2010.

SNEYDER, R. B.; GIRALDO, G. I.; MONTES, L. M. Encapsulación de alimentos probióticos mediante liofilización en presencia de prebióticos. **Informacion Tecnologica**, v. 27, n. 6, p. 135–144, 2016.

SPADA, J. C. et al. Microencapsulation of f b-carotene using native pinhão starch, modified pinhão starch and gelatin by freeze-drying. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 186–194, 2012.

SROKA, Z.; JANIĄK, M.; DRYŚ, A. Antiradical activity and amount of phenolic compounds in extracts obtained from some plant raw materials containing methylxanthine alkaloids. **Herba Polonica**, v. 61, n. 3, p. 53–66, 2015.

TAMURA, A. et al. Yerba-mate (*Ilex paraguariensis*) extract prevents ethanol-induced liver injury in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 4, p. 1714–1723, 2013.

TRIFKOVIC, K.; TADIC, C.; BUGARSKI, B. Short overview of encapsulation technologies for delivery of bioactives to food. **Journal of Engineering & Processing Management**, v. 8, n. 1, p. 103–111, 2016.

TRINDADE, C. S. F.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 2, p. 103–112, 2008.

VIEIRA, M. A. et al. Chemical Characterization of Candy Made of Erva (*Ilex paraguariensis*) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 4637–4642, 2008.

VIEIRA, M. A. et al. Análise de compostos fenólicos, metilxantinas, tanino e atividade antioxidante de resíduo do processamento da erva-mate: uma nova fonte potencial de antioxidantes. **2nd International Workshop Advances in Cleaner Production. Key elements for a sustainable world: energy, water and climate change.**, n. June 2016, p. 11, 2009.

WANG, X. et al. Silk microspheres for encapsulation and controlled release. **Journal of Controlled Release**, v. 117, n. 3, p. 360–370, 2007.

WONG, Y. H. et al. Binary solvent extraction system and extraction time effects on phenolic antioxidants from kenaf seeds (*Hibiscus cannabinus L.*) extracted by a pulsed binary solvent extraction system and extraction time effects on phenolic antioxidants from kenaf seeds. **The Scientific World Journal** vol. 2014, Article ID 789346, 7 pages, 2014.

ZENEON, Odair; PASCUET, Neus Sadocco. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 1000p.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555–559, 1999. [s.d.].

ZHU, F. Encapsulation and delivery of food ingredients using starch based systems. **Food Chemistry**, v. 229, n. February, p. 542–552, 2017.