



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

MATEUS ANTONIO KNAPP

**CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO COM EXTRATO
DE ERVA MATE**

LARANJEIRAS DO SUL

2017

MATEUS ANTONIO KNAPP

**CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO COM EXTRATO
DE ERVA MATE**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como requisito para
obtenção de grau de Bacharel em
Engenharia de Alimentos da
Universidade Federal da Fronteira Sul
Orientadora Prof. Dr. Vânia Zanella Pinto

LARANJEIRAS DO SUL

2017

Knapp, Mateus Antonio

CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO COM
EXTRATO DE ERVA MATE/ Mateus Antonio Knapp. -- 2017.
37 f.:il.

Orientador: Vânia Zanella Pinto.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Engenharia De alimentos , Laranjeiras do Sul, PR, 2017.

1. Ilex paraguariensis St. Hil. 2. Filmes
Biodegradáveis. 3. Compostos fenólicos. 4. Atividade
antioxidante. 5. Extração de erva mate. I. Pinto, Vânia
Zanella, orient. II. Universidade Federal da Fronteira
Sul. III. Título.

MATEUS ANTONIO KNAPP

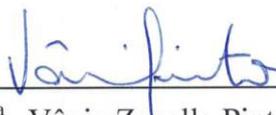
**CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS ATIVOS COM
EXTRATO DE ERVA MATE**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Laranjeiras do Sul-PR.

Orientador: Professor Dr. Vânia Zanella Pinto

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 15 / 12 / 17

BANCA EXAMINADORA



Prof^a. Dr^a. Vânia Zanella Pinto (orientador)



Prof^a. Dr^a. Larissa Canhadas Bertan



Prof^a. Dr^a. Eduarda Molardi Bainy

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, força para execução deste trabalho, bem como para concluir a graduação, sem ele eu não conseguiria. Entre tudo também agradeço aos meus pais Rogério e Francelize, estes que sempre estiveram ao meu lado e sempre acreditaram em mim, sendo minha fortaleza e meu consolo nos bons e maus momentos, sempre me incentivando e motivando para seguir em frente, eles a quem dedico essa conquista.

Agradeço às minhas irmãs Pâmela e Geovana pela amizade, compreensão e carinho. A minha namorada Betina por sempre estar ao meu lado me incentivando, motivando e nunca me deixar desanimar com as dificuldades.

À Professora Dra. Vânia Zanella Pinto por me orientar na execução deste trabalho e muito além disso pela amizade, conhecimentos passados, compreensão e confiança sempre.

Ao Prof. Dr. Gustavo Henrique Fidelis dos Santos este que além de professor foi um amigo durante a graduação, sempre aconselhando e apoiando quando precisei.

À todos os professores do curso de engenharia de alimentos, pelos conhecimentos passados, contribuições em todos os momentos da graduação.

Aos meus amigos Cassio, Claudinei e Patrick, estes que sempre estiveram ao meu lado durante a graduação, sem sombra de dúvidas foram essenciais para essa conquista.

Aos demais amigos pelos momentos de distração, amizade, compreensão e pelo apoio nos momentos difíceis. Aos técnicos de laboratório pelo apoio e trabalho prestado.

À Erva-Mate Laranjeiras pela doação da erva mate utilizada na elaboração deste trabalho.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná campus Francisco Beltrão pela colaboração nas análises de propriedades mecânicas cedendo o texturômetro de bancada.

À UFFS em seu todo por todo esse tempo de graduação que passei, com momentos que jamais serão esquecidos. Enfim a todos que de uma forma contribuíram para realização deste trabalho, meu sincero muito obrigado!

RESUMO

A erva mate é um produto regional, obtida através das folhas da árvore de erva mate que pertence à família *Aquifoliaceae* e possui diversos compostos de interesse alimentar, tais como, compostos fenólicos, antimicrobianos e antioxidantes naturais. A ação antioxidante da erva mate se dá pelo alto teor dos compostos fenólicos presentes nas folhas. Assim, o uso de compostos bioativos pode promover efeitos à saúde, bem como prolongar a vida útil dos alimentos, como ingredientes e também como embalagens ativas. As embalagens para alimentos tradicionais, em geral, têm a função de proteger os mesmos evitando assim a sua degradação e também de possíveis perdas através da migração de componentes. Por outro lado, as embalagens ativas possuem a capacidade de interagir com o alimento retardando a degradação e prolongando a vida útil dos mesmos. Assim, objetivou-se elaborar filmes de amido aplicando extrato de erva mate, bem como realizar a caracterização físico-química. A erva mate foi obtida em área cultivada no município de Laranjeiras do Sul – PR, entre os meses de maio a junho de 2017. Os extratos foram elaborados com diferentes solventes (100% água, 100% etanol e 50% água:50% de etanol) a 50°C seguidos da caracterização através de determinação da densidade, teor de clorofilas e carotenoides, compostos fenólicos e atividade antioxidante (ABTS•+ e DPPH•). Com base nos resultados da atividade antioxidante foi selecionado o melhor solvente para extração, sendo este 50% água:50% etanol. A partir deste foram elaborados filmes utilizando amido de mandioca, glicerol e diferentes concentrações de extrato (0; 5%; 10%; 15%; 20%). Nos filmes foram caracterizados quanto as análises de espessura, permeabilidade ao vapor de água (PVA), solubilidade propriedade mecânicas (resistência a tração, percentual de alongação e módulo Young), compostos fenólicos, atividade antioxidante (DPPH•), parâmetros de cor (L, a*, b*) e opacidade e isoterma de sorção. Verificou-se que solubilidade dos filmes aumentou conforme se aumentou a concentração de extrato de erva mate, visto que extrato é hidrossolúvel. Os filmes apresentaram redução na resistência à tração conforme se aumentou a concentração de extrato de erva mate e o extrato promoveu efeito plastificante nos filmes de amido de mandioca aumentando o alongamento. O módulo Young máximo foi observado no filme controle e reduziu com o aumento da concentração de extrato de erva mate. Além disso, o comportamento das isotermas de sorção ajustaram-se ao modelo de GAB ($R^2 > 0,96$). A absorção de umidade pelas amostras com 5, 10 e 15% foram semelhante, sendo que, absorveram mais umidade que o controle. Os objetivos para o desenvolvimento e caracterização dos filmes propostos foram atingidos, sendo observadas características positivas para elaboração de filmes biodegradáveis ativos com a aplicação de extrato de erva mate

Palavras-chave: *Ilex paraguariensis* St. Hil, compostos fenólicos, atividade antioxidante.

ABSTRACT

Yerba Mate is a regional product, obtained through the leaves of the mate tree that belongs to the family *Aquifoliaceae* and has several compounds of food interest, such as phenolic compounds, antimicrobials and natural antioxidants. The antioxidant action of the yerba mate is due to the high content of the phenolic compounds present in the leaves. Thus, the use of bioactive compounds can promote health effects as well as prolong the shelf life of food, as ingredients and also as active packaging. Traditional food packaging, in general, has the function of protecting them, thus avoiding their degradation and also of possible losses through the migration of components. On the other hand, active packaging has the ability to interact with food retarding degradation and extending shelf life. Thus, it was aimed to elaborate starch films applying yerba mate extract, as well as to perform the physicochemical characterization. The extracts were made with different solvents (100% water, 100% ethanol and 50% water: 50% ethanol) at 50 °C followed by characterization by determination of density, chlorophyll and carotenoid content, phenolic compounds and antioxidant activity (ABTS•+ and DPPH•). Based on the results of the antioxidant activity, the best solvent for was selected, 50% of which was water: 50% ethanol. From this, films using cassava starch, glycerol and different concentrations of extract (0, 5%, 10%, 15%, 20%) were elaborated. In the films were characterized as thickness, water vapor permeability (PVA), mechanical properties solubility (tensile strength, percentage of elongation and Young modulus), phenolic compounds, antioxidant activity (DPPH•), color and opacity parameters and sorption isotherms. It was verify the films solubility increase with extract concentration increased, since the extract is water soluble. The starch films shown decrease in the tensile strength as the concentration of Yerba mate extract increased as well as extract promoted a plasticizing effect in cassava starch films, increasing the elongation. The Young maximum modulus was observed in the control film and reduced with the increase in the concentration of yerba mate extract. In addition, the behavior of the sorption isotherms was adjusted to the GAB model ($R^2 > 0.96$). The moisture absorption by the samples with 5, 10 and 15% were similar, being that they absorbed more humidity than the control. The objectives for the development and characterization of the biodegradable films were reached, being observed positive characteristics for the elaboration of active biodegradable films with the application of yerba mate extract.

Keywords: *Ilex paraguariensis* St. Hil, phenolic compounds, antioxidant activity

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
3.1 PREPARO DA ERVA MATE.....	11
3.2 PREPARO DO EXTRATO	11
3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS.....	12
3.3.1 COMPOSTOS FENÓLICOS	12
3.3.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO (ABTS•+).....	12
3.3.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO (DPPH•)	13
3.3.3 TEOR DE CLOROFILAS TOTAIS E CAROTENÓIDES TOTAIS	13
3.4 PREPARO DA SOLUÇÃO FORMADORA DE FILME	14
3.5 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES COM EXTRATO DE ERVA MATE	14
3.5.6 COR E OPACIDADE	14
3.5.1 ESPESSURA DO FILME	15
3.5.2 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA)	15
3.5.3 SOLUBILIDADE EM ÁGUA	15
3.5.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS	16
3.5.5 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO (DPPH•) DOS FILMES	16
3.5.6 ISOTERMAS DE SORÇÃO	16
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
4.1 Caracterização do extrato de erva mate	18
4.2 Caracterização dos filmes de amidos com extrato de erva mate.....	20
4.2.1 Análise visual do filme	20
4.5 COR E OPACIDADE	21
4.2.2 ANÁLISE DE ESPESSURA, PERMEABILIDADE DE VAPOR DE ÁGUA E SOLUBILIDADE.....	23
4.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS	24
4.4 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO FILME <i>IN</i> <i>VITRO</i>	28
4.6 ISOTERMAS DE SORÇÃO	30
4 CONCLUSÃO.....	33
5 REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

A erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) é uma planta de origem sul-americana, sendo muito encontrada do sul do país como também pode ser encontrada na Argentina e Paraguai (GREIZERSTEIN *et al.*, 2000; OLIVEIRA e ROTTA, 1985). A erva mate faz parte da família *Aquifoliaceae*, que contem aproximadamente 600 espécies, sendo destas, 60 espécies podem ser encontradas no Brasil (MACCARI e MAZUCHOWSKI, 2000). O Paraná tem destaque na produção brasileira da erva mate com um total de 70% da participação de mercado nacional. Além disso, a erva mate é de grande relevância econômica, atingindo no cenário nacional, aproximadamente 596 municípios, envolvendo 180 mil propriedades rurais e mais de 710 mil trabalhadores diretos (RODIGHERI *et al.*, 2005).

A composição da erva mate é variável, dependendo do plantio, região de cultivo e outros fatores como clima, exposição solar e época de coleta das folhas (ROSSA, 2013). Vários constituintes que podem ser encontrados na planta são, entre eles, as xantinas, saponinas, compostos fenólicos, derivados do cafeiol e flavonóides (MEJÍA, 2007; BURRIS *et al.*, 2012). Há grande concentração de derivados de cafeoil na erva mate dentre os quais, os ácidos clorogênicos e o ácido caféico, e também os derivados de flavonóides, como a rutina e a quercetina (FILIP *et al.* 2001). Alguns destes compostos possuem atividade antimicrobiana frente à bactérias, fungos e vírus, como é o caso do ácido caféico juntamente com os flavonoides (CUSHNIE, LAMB, 2005; COWAN, 1999).

Tem se estudado a substituição de antioxidantes sintéticos por extratos vegetais, denominados antioxidantes naturais. Isto se deve à relação entre o uso extensivo de antioxidantes sintéticos e o aparecimento de doenças como câncer, alergias e outras, segundo indicações da Organização Mundial da Saúde (OMS), (2011). A pesquisa com antioxidantes naturais é uma tendência, pois além de ser possível manter propriedades sensoriais e químicas dos alimentos, também são associados à manutenção da saúde e prevenção de doenças. Além dos benefícios a saúde, os compostos antioxidantes podem ampliar a vida útil dos alimentos, quando aplicados diretamente nos produtos (FERREIRA *et al.*, 2011) ou quando imobilizados e incorporadas em embalagens (ARCAN, 2011).

Embalagem de alimentos é definida como recipiente ou envoltura que tem como função armazenar produtos temporariamente, serve principalmente para

agrupar unidades do produto, visando facilitar a manipulação, o transporte e o armazenamento. Além disso funções de proteger o conteúdo, informar sobre as instruções de preparo, exibir requisitos legais como composição, matérias-primas entre outros. Adicionalmente, servem como barreira para contaminações, físicas, químicas e microbiológicas e previnem a migração de componentes do ambiente para o alimento (DEBEAUFORT et al, 1998). Existem diversos tipos de embalagens, tais como as metálicas, de vidros, de papel e papelão e à base de polímeros variados e entre estas, os filmes. Os filmes poliméricos têm diversas aplicações em produtos alimentícios, pois possuem baixo peso e menor custo (DEBEAUFORT et al, 1998), porém não são biodegradáveis e na grande maioria de origem não renovável.

As embalagens ativas apresentam características adicionais às de uma embalagem convencional, as quais podemos destacar a capacidade de absorver compostos que favorecem a deterioração, liberar compostos que aumentam e monitoram a vida útil de alimentos, melhorar características sensoriais, minimizando assim a deterioração química e microbiológica e garantindo a segurança dos alimentos pela inibição do crescimento de microrganismos patogênicos (DEBEAUFORT et al, 1998)

O impacto ambiental de embalagens plásticas tem gerado grande interesse em substituir polímeros sintéticos por materiais biodegradáveis. Muitas pesquisas têm buscado novas fontes poliméricas alternativas para melhorar características e desempenho de embalagens biodegradáveis (SILVA, 2011). O amido é uma matéria prima que possui forte potencial para a produção de biofilmes, devido a características como baixo custo, alta disponibilidade, renovabilidade e biodegradabilidade (TEIXEIRA, 2007).

Algumas características devem ser levadas em consideração para considerar uma embalagem apta para aplicação em alimentos, que são elas, qualidades sensoriais, boas propriedades de barreiras, propriedades mecânicas, estabilidade microbiológica, físico-químicas e bioquímica, baixa toxicidade, baixo custo e não poluente (DEBEAUFORT et al, 1998)

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter extrato de erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) e utilizá-lo como componente ativo para elaborar filmes biodegradáveis ativos com posterior

caracterização dos mesmos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obter extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) com diferentes solventes (água, etanol e 50 % água com 50 % etanol).
2. Determinar o teor de compostos fenólicos, atividade antioxidante, clorofilas e carotenoides do extrato de erva mate obtidos com diferentes solventes;
3. Desenvolver filmes utilizando extrato de erva mate como componente ativo em sua formulação;
4. Determinar características físicas dos filmes elaborados utilizando extrato de erva mate como componente ativo;
5. Determinar as isotermas de sorção dos filmes contendo extrato de erva mate;
6. Avaliar características ativas (compostos fenólicos e atividade antioxidante) dos filmes elaborados.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 PREPARO DA ERVA MATE

A erva mate foi coletada no município de Laranjeiras do Sul – Paraná, em área não nativa. As folhas foram selecionadas e as que continham injúrias ou danos foram retiradas no momento da separação das folhas dos galhos. Após, as folhas foram higienizadas com hipoclorito de sódio 2,5 %, 100 ppm, durante 10 minutos e enxaguadas em água corrente. Então as folhas foram levadas para estufa com circulação de ar e secas durante 72 h a 35 °C. Na sequência, as folhas secas foram moídas em moinho de facas tipo Willye (Fortinox, Star FT-50, Brasil) com granulometria de 20 mesh e assim transferidas para sacos de nylon contendo 200 g cada, sob vácuo e, armazenadas em freezer a -18°C até o momento da utilização.

3.2 PREPARO DO EXTRATO

Os extratos foram preparados em triplicatas, cada uma das triplicatas utilizando solvente específico (água, etanol e 50 % água com 50 % etanol (Água/Etanol)). Mediu-se 4 g (20% (m/v)) de erva mate moída em erlenmeyer e completou-se para 20 mL com o respectivo solvente. Então os erlenmeyers foram levados para banho tipo Dubnoff (Nova técnica, NT 232, Brasil) e mantidos sob agitação branda constante a 50 °C durante 5 h. Após o período de extração, os extratos foram filtrados a vácuo utilizando papel filtro e o volume completado para 20 mL após a

filtração. O filtrado foi armazenado em frasco âmbar até o momento das análises, sob refrigeração (4 °C).

3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

3.3.1 DENSIDADE

A densidade foi determinada utilizando proveta e balança analítica, onde mediu-se o volume de extrato e sua respectiva massa, calculando assim a densidade pela Equação 1.

$$Densidade(g / L) = \frac{massa(g)}{volume(mL)} \quad (\text{Equação 1})$$

3.3.1 COMPOSTOS FENÓLICOS

Para determinação dos fenóis totais foi utilizado o reativo Folin-Ciocalteu (MEDA et al., 2005). Em uma microplaca de 96 poços adicionou-se em cada poço 2µL de amostra, 250µL de solução água destilada, 24µL do reagente Folin-Ciocalteu (0,25N) e após 5 minutos adicionou-se 12µL do reagente carbonato de sódio 7,5%. Após 2h de reação em ambiente escuro foi realizada leitura em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Multiskan GO, Estados Unidos) em 750nm. Para calcular a concentração de fenóis, foi preparada uma curva analítica (1,0; 5,0; 10,0; 15,0; 30,0 e 40,0 mg) empregando o ácido gálico como padrão e as respectivas absorbâncias foram lidas na mesma absorbância. O procedimento experimental realizado com o padrão foi o mesmo utilizado para as amostras. Com esses dados, foi feita a regressão linear e obtida a equação da reta, a qual teve seus dados empregados no cálculo do teor de compostos fenólicos totais nos extratos de erva mate. A análise foi realizada em triplicata e o resultado foi expresso em mg equivalente de ácido gálico (EAG) por g de extrato.

3.3.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO (ABTS•+)

A capacidade antioxidante do extrato foi determinada através da inibição do radical ABTS•+ segundo a metodologia adaptada de Rufino et al (2007). Em um tubo de ensaio foram adicionados 5 mL de solução aquosa de ABTS• (7mM) e 88µL de persulfato de potássio (140mM), previamente preparados. A solução permaneceu em repouso entre 16h antes da análise, no escuro. Em seguida, diluiu-se 1mL desta mistura em etanol até obter-se uma absorbância de 0,70 nm ± 0,05 nm a 734nm. Realizou-se uma primeira diluição para os extratos de erva mate, diluindo-se 50 µL e completando para 5 mL, após comum volume de 277µL da solução radical ABTS•+ foi adicionado a 3µL de amostra. A leitura da absorbância da mistura foi realizada

após 6 minutos de reação em 734 nm. O branco utilizado para zerar o espectrofotômetro (Thermo Scientific, Multiskan GO, Estados Unidos) foi o solvente respectivo de cada extração. Os resultados foram calculados em porcentagem de atividade antioxidante (Equação 2).

$$\% \text{Inibição} = \frac{Abs_{Controle} - Abs_{amostra}}{Abs_{Controle}} 100 \quad (\text{Equação 2})$$

$Abs_{Controle}$ = Absorbância da solução de ABTS•+;

$Abs_{Amostra}$ = Absorbância da amostra.

3.3.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO (DPPH•)

A capacidade antioxidante do extrato foi realizada através do método de inibição do radical DPPH• de acordo com Brand-Williams, Cuvelier e Berset, (1995). Diluiu-se 2,4 mg do radical DPPH• em metanol (0,06 mM), e foi feita uma primeira diluição para os extratos de erva mate, diluindo-se 50 µL e completando para 5 mL e após transferiu-se para cada poço da microplaca 7 µL desta diluição, adicionando-se então 273 µL de DPPH• e realizou-se a leitura imediatamente e de 10 em 10 minutos até não haver alteração na absorbância da amostra em 515nm. O branco utilizado para zerar o espectrofotômetro (Thermo Scientific, Multiskan GO, Estados Unidos) foi o solvente respectivo de cada extração. Os resultados foram calculados em porcentagem de atividade antioxidante (Equação 3).

$$\% \text{Inibição} = \frac{Abs_{Controle} - Abs_{amostra}}{Abs_{Controle}} 100 \quad (\text{Equação 3})$$

$Abs_{Controle}$ = Absorbância da solução de DPPH• 0,06mM;

$Abs_{Amostra}$ = Absorbância da amostra.

3.3.3 TEOR DE CLOROFILAS TOTAIS E CAROTENÓIDES TOTAIS

A absorbância dos extratos foi obtida por espectrofotometria a 647, 663 e 470nm. Os teores de clorofilas totais, 'a', 'b' e de carotenóides totais foram calculados através de equações (equações 4, 5, 6 e 7) estabelecidas por Lichtenthaler (1987), os resultados foram expressos em µg.g⁻¹.

$$\text{Chl totais} = 7,15 (A_{663}) + 18,71 (A_{647}) \quad (\text{Equação 4})$$

$$\text{Chl 'a'} = 12,25 (A_{663}) - 2,79 (A_{647}) \quad (\text{Equação 5})$$

$$\text{Chl 'b'} = 21,50 (A_{647}) - 5,10 (A_{663}) \quad (\text{Equação 6})$$

$$\text{Carotenóides} = \frac{1000(A_{470}) - 1,82\text{Chl}'a' - 85,02\text{Chl}'b'}{198} \quad (\text{Equação 7})$$

3.4 PREPARO DA SOLUÇÃO FORMADORA DE FILME

Para a formulação dos filmes utilizou-se amido de mandioca comercial, juntamente com plastificante (glicerol) e extrato de erva mate. A solução formadora de filme foi preparada conforme a metodologia de Fakhouri et al., (2007) com adaptações. Para tanto, todos os componentes listados na Tabela 1 foram misturados e aquecidos em banho-maria à $85^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ para promover a gelatinização do amido, sendo que o extrato de erva mate foi adicionado durante a gelatinização. Após em placas de petri descartáveis, pesou-se 20g da solução formadora de filme em cada uma e, esta metodologia de *casting* utilizou-se para secagem dos filmes estufa com circulação de ar (SPlabor, Modelo SP-102/64, Brasil) durante 16h a 35°C . Após os filmes ficaram acondicionados com tampa nas próprias placas de petri até o momento das análises.

A Tabela 1 contém as matérias-primas utilizadas para formulação dos filmes, assim como as proporções de cada uma. O extrato de erva mate foi adicionado em diferentes concentrações (0 a 20%) para avaliar o seu efeito nas propriedades dos filmes.

Tabela 1 - Formulação dos filmes biodegradáveis contendo extrato de erva mate

Matérias-primas	Formulações				
	Controle	0%	10%	15%	20%
Água destilada (mL)	100	95	90	85	80
Amido de mandioca (g)	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Glicerol (g)	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05
Extrato de erva mate (%)	-	5	10	15	20

3.5 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES COM EXTRATO DE ERVA MATE

3.5.6 COR E OPACIDADE

Para determinação de cor e opacidade dos filmes foram realizadas quatro leituras utilizando o colorímetro (C400, Minolta, Japão), sendo uma no centro e as demais no perímetro. Os parâmetros de cor L^* (preto/branco) e as coordenadas de cromaticidade a^* (verde/vermelho) e b^* (azul/amarelo) foram determinados. Para determinação da opacidade dos filmes foi calculada a relação entre a opacidade do

filme sobreposto ao padrão preto (P_{preto}) e padrão branco (P_{branco}) segundo metodologia proposta por Hunterlab (1997).

3.5.1 ESPESSURA DO FILME

A espessura dos filmes foi medida utilizando-se um micrômetro digital (Insize Modelo 3109-25A) sendo a média de oito medidas aleatórias em diferentes pontos dos filmes.

3.5.2 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada segundo método da ASTM D6701-16 (ASTM, 2016). As triplicatas de amostras foram colocadas em cápsulas com dessecante cloreto de cálcio (CaCl_2) e armazenadas em dessecador com umidade relativa de 75%, a 25 °C por 48 horas antes da medição, então calculou-se pela equação 8.

$$PVA = \frac{\Delta W}{t} \times \frac{x}{A \Delta P} \quad (\text{Equação 8})$$

PVA= Permeabilidade ao vapor de água (g.mm/kPa.dia.m²);

ΔW = Ganho de massa (g);

x= espessura do filme (mm);

t= tempo (dias);

A= Área exposta

ΔP = Diferença de pressão parcial.

3.5.3 SOLUBILIDADE EM ÁGUA

As amostras de filmes foram cortadas em discos de 2,5 cm de diâmetro e foi determinada a matéria seca inicial de cada amostra em estufa a 105°C durante 24h. Logo após, as amostras foram colocadas em tubos de centrífuga com 50mL de água destilada em cada um, mantidos sob agitação branda em banho Dubnoff (Novatécnica, NT 232, Brasil) durante 24h à 25°C. Na sequência, as amostras foram retiradas dos tubos e secas novamente a 105°C durante 24h para determinar a massa de matéria seca que não se dissolveu durante a agitação com a água seguindo a metodologia de Gontard et al (1992) adaptada. A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em porcentagem solubilizada, calculada conforme equação 9.

$$SOL(\%) = \frac{(M_i - M_f)}{M_i} 100 \quad (\text{Equação 9})$$

SOL = percentual de massa solubilizada (%)

M_i = massa seca inicial (g)

M_f = massa seca final, após solubilizar (g)

3.5.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS

Os ensaios de resistência à tração e alongação foram realizadas utilizando texturômetro de bancada TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Surrey, UK), operando com a separação inicial das garras de 30mm. Os corpos de prova foram cortados com 70 mm de comprimento e 25 mm de largura e condicionados 24h antes da análise à 25°C a uma umidade relativa de 50% e 25°C conforme descrito pela ASTM D882-12 (ASTM 2012). A análise foi realizada utilizando 10 corpos de prova de cada amostra, com velocidade de 1mm/s. A resistência à tração foi determinada pelo ponto de tensão máximo da curva tensão-deformação. O alongamento foi determinado pela diferença entre a distância inicial até o filme se romper. O módulo de Young foi calculado a partir da inclinação da porção linear inicial da curva tensão-deformação (BIDUSKI et al., 2017).

3.5.5 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO (DPPH•) DOS FILMES

Para análise de compostos fenólicos e atividade antioxidante utilizando o radical DPPH, a metodologia utilizando foi a mesma proposta para os extratos, porém foram elaborados extratos, solubilizando 1g de filme em solvente (50% etanol: 50% água) durante 24h sob agitação, então foram filtrados e determinados os teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante dos filtrados.

3.5.6 ISOTERMAS DE SORÇÃO

As isotermas de sorção foram determinadas utilizando método estático em dessecadores. Oito soluções salinas saturadas apresentadas na Tabela 2 com suas respectivas umidades relativas específicas a 25°C foram preparadas e colocadas em dessecadores selados e deixadas até o equilíbrio. As amostras dos filmes foram previamente secas em estufa a 105°C durante 24h e as suas massas determinadas, (0,1 ± 0,2g). Posteriormente as amostras foram armazenadas durante 21 dias nos dessecadores e após as mesmas foram retiradas dos dessecadores e suas

respectivas massas aferidas.

O modelo de GAB (Guggenheim-Anderson-de Boer) foi empregado para ajustar os dados experimentais para estimar as constantes do modelo (Equação 10).

$$X_e = \frac{(kCX_{aw})}{[(1-kaw).(1-kaw+Ckaw)]} \quad (\text{Equação 10})$$

X_e = Umidade (g de água/ g de matéria seca)

A_w = atividade de água

X , C , k = constantes de GAB

X = conteúdo de umidade na monocamada (base seca);

C = constante de Guggenheim que é o fator de correlação para as propriedades de sorção para a primeira camada que representa o volume líquido

k = fator de correlação para as propriedades das multicamadas com seu respectivo volume líquido (ZHANG e HAN, 2008).

Tabela 2 – Sais utilizados e umidades relativas equivalentes na determinação das isotermas de sorção.

Sal*	A_w
Cloreto de lítio (LiCl)	0,111
Cloreto de magnésio (MgCl ₂)	0,325
Nitrato de magnésio (Mg(NO ₃) ₂)	0,524
Iodeto de potássio (KI)	0,686
Cloreto de sódio (NaCl)	0,755
Sulfato de amônio ((NH ₄) ₂ SO ₄)	0,807
Cloreto de bário (BaCl ₂)	0,904
Sulfato de potássio (K ₂ SO ₄)	0,976

*Solução salina saturada a 25°C.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados da caracterização dos extratos e cor, solubilidade e espessura dos filmes foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. e as demais caracterizações dos filmes sendo elas permeabilidade de vapor de água (PVA), resistência a tração (RT), porcentagem de alongação (E), módulo Young (Y), isotermas de sorção, opacidade, atividade antioxidante (inibição dos radicais DPPH• e ABST•+), compostos fenólicos totais submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias analisadas através de regressão e comparadas pelo intervalo de confiança (IC) a 5% de significância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do extrato de erva mate

Na Tabela 3 podem ser observadas a densidade, o teor de clorofilas e de carotenoides e a concentração de compostos fenólicos para os extratos de erva mate obtidos com diferentes solventes.

Tabela 3 – Densidade, teor de clorofilas, carotenoides e compostos fenólicos dos extratos de erva mate obtidos com diferentes solventes.

Solvente*	Densidade (g L ⁻¹)	Clorofilas (µg g ⁻¹)	Carotenoides (µg β caroteno g ⁻¹)	Compostos fenólicos (mg EAG g ⁻¹)
Água	999,44±5,81 ^a	2,74±0,23 ^c	0,31±0,06 ^c	6,67±0,39 ^a
Etanol/Água	919,06±40,81 ^b	6,08±0,26 ^b	2,48±0,13 ^a	7,28±0,08 ^a
Etanol	794,74±42,92 ^c	18,64±0,66 ^a	1,26±0,15 ^b	7,06±0,23 ^a

*Medias de três determinações. Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna para cada propriedade, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05). Água – 100% água, Etanol/Água – 50% etanol e 50% água e Etanol – 100% etanol. EAG – equivalente de ácido gálico.

As médias de densidade para os extratos com diferentes solventes apresentaram diferenças entre si (p<0,05), sendo que a maior densidade foi observada utilizando o solvente água. Este resultado está próximo da densidade da água pura que é em média de 1000 g L⁻¹. Para o solvente etanol, a densidade obtida foi menor que a do solvente água. Esta também é próximo da densidade do solvente, em média 798 g L⁻¹. Para o solvente água/etanol a densidade foi de 919,06 g L⁻¹, isto devido a mistura conter menor concentração de etanol que água, após completar com água após a filtração do extrato. Este comportamento é resultado da evaporação do etanol durante a extração a 50 °C e posterior ajuste do volume final com água após a filtração do extrato. Assim, pode-se concluir que o teor de sólidos apresenta pouca influência na densidade dos extratos de erva mate em relação ao solvente empregado.

Para o teor de clorofilas e carotenoides os resultados apresentaram diferenças para os três solventes utilizados (p<0,05). Para extração de clorofilas o melhor solvente foi o etanol (18,64 µg g⁻¹), seguido do etano/água (6,08 µg g⁻¹) e água (2,74 µg g⁻¹). Segundo Von Elbe (2000) os solventes polares como a acetona, o metanol, o etanol, o acetato de etila, a piridina e a dimetilformamida são os mais eficazes para a extração completa das clorofilas.

Observou-se uma baixa concentração de carotenoides para os 3 solventes. O solvente que mais extraiu carotenoides foi a mistura água/etanol, enquanto o

solvente água apresentou menor concentração. Esta diferença pode ser explicada devido ao fato da água não ser um bom solvente para extração de carotenoides devido ao mesmo ser polar. Porém, o etanol em elevadas concentrações (100%) o mesmo pode atuar degradando e reduzindo a extração. Isto explica o fato da extração com a mistura água/etanol ter sido mais eficiente na extração de carotenoides (RODRIGUES-AMAYA, 1997).

Segundo Rodrigues-Amaya (1997) solventes apolares são mais eficientes em extração de carotenoides, porém os mesmos podem degrada-los rapidamente, além disso, autora sugere que o etanol pode ser considerado um bom extrator de carotenoides quando se trata de xantofilas.

O fato da interação dos solventes na extração das clorofilas e dos carotenoides pode ser explicado devido as clorofilas e carotenoides possuírem caráter hidrofóbico (PAREEK et al., 2017) e assim a fração etanol presente no solvente favorece a extração. Sendo assim, não é possível estes compostos (clorofilas) realizem ligações com a água no momento da extração. A pequena fração de clorofilas e carotenoides extraída com água pode ser explicada pela interferência de outros fatores, tais como, uma pequena parcela ser solubilizada sob a ação da temperatura.

Os compostos fenólicos do extrato de erva mate com diferentes solventes não apresentaram diferença em suas médias ($p < 0,05$), variando entre 6,67mg EAG g⁻¹ a 7,28mg EAG g⁻¹. Pode-se dizer que a maior concentração de compostos fenólicos do extrato de erva mate foi utilizando solvente Etanol/Água (7,28 mg EAG/g) era esperada, pois relatos na literatura apontam a mistura dos solventes como eficiente na extração desta classe de compostos (BOAVENTURA et al., 2015; FERNANDES et al., 2016; MURAKAMI et al., 2013). Isto se deve, porque a fase aquosa é eficiente para extração de algumas classes de compostos fenólicos, e por outro lado o etanol atua em outras classes. Outro fator também é que segundo Chirinos et al. (2007) o uso de água pura resulta em extratos com alta impureza (ácidos orgânicos, açúcares, proteínas solúveis), podendo interferir na quantificação destes compostos. Segundo o estudo de Fernandes et al. (2016) a extração de compostos fenólicos de erva mate utilizando a mistura de água e 70% de etanol, resultou em 6,01mg EAG g⁻¹, sendo próximo ao verificado para os diferentes solventes utilizados neste trabalho.

A extração de compostos fenólicos através da infusão com água foi estudada por Boaventura et al. (2015) que realizaram criocentração do extrato e verificaram

5,11mg GAE g⁻¹. Murakami et al. (2013) também realizaram a determinação de compostos fenólicos em extrato concentrado de erva mate por nanofiltração, em seus resultados foram de 7,82mg GAE g⁻¹ confirmando assim, que a extração realizada foi eficiente para os compostos fenólicos.

A atividade antioxidante dos extratos com diferentes solventes foi determinada através da inibição dos radicais DPPH• e ABTS•+ (Tabela 4).

Tabela 4 – Atividade antioxidante de extrato de erva mate com diferentes solventes.

Solvente*	DPPH•** (% inibição)	ABTS•+*** (% inibição)
Água	6,20±0,96 ^b	5,36±0,75 ^c
Etanol/Água	21,39±3,30 ^a	28,16±2,18 ^a
Etanol	11,18±0,22 ^b	12,61±1,54 ^b

*Medias de três determinações. Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna para cada propriedade, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey(p<0,05). Água – 100% água, Etanol/Água – 50% etanol e 50% água e Etanol – 100% etanol ** 2,2-difenil-1-picril-hidrazila *** 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)

A atividade antioxidante está associada à presença de compostos bioativos naturalmente presentes nas folhas de erva mate, tais como carotenoides e compostos fenólicos, cada um agindo de uma forma diferente frente aos radicais livres (PRADO et al ,2009). Cada radical livre tem maior afinidade com um antioxidante diferente, segundo Prado et al (2009) ao analisar a atividade frente ao DPPH• e ABTS•+, é possível notar que o extrato de erva mate apresenta poder antioxidante intermediário, independente do radical empregado. Além disso, a mistura água/etanol resultou em extratos com o dobro da atividade antioxidante que o solvente etanol e pelo menos 3,5 vezes mais que a solvente água (Tabela 4).

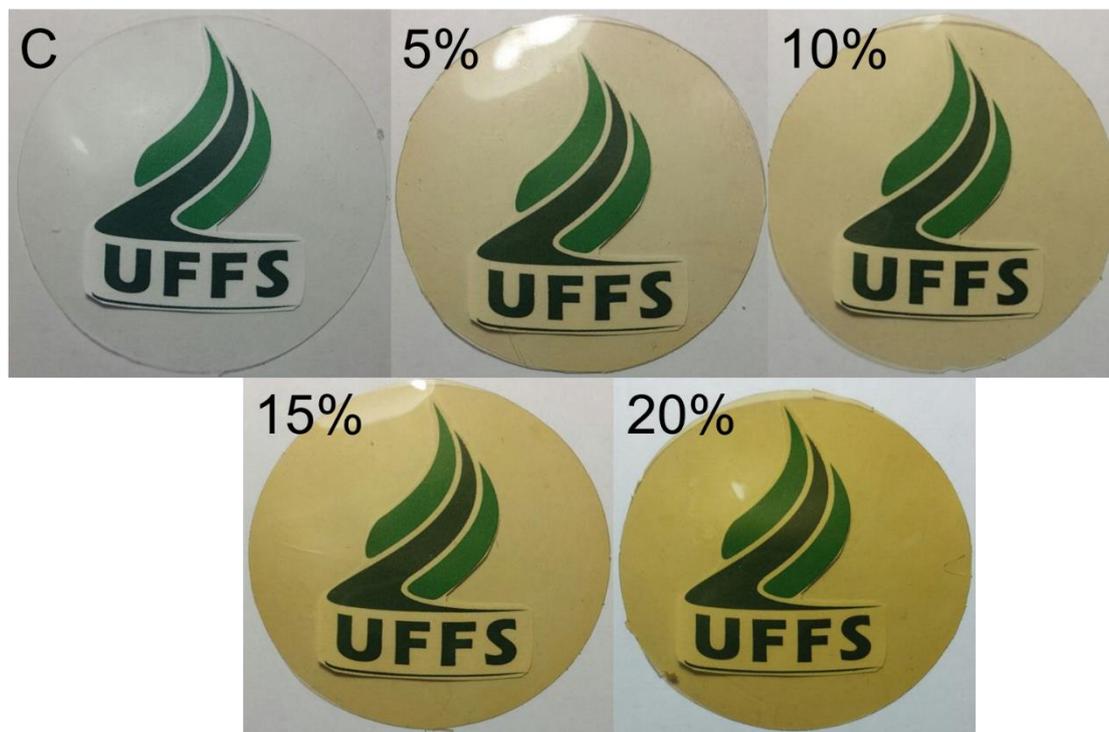
Sendo assim, observando todos os resultados optou-se por utilizar o solvente etanol/água para elaborar o extrato de erva mate para posterior aplicação em filme de amido de mandioca, visto que o solvente não se diferenciou dos demais quanto a eficiência na extração de compostos fenólicos, porém, na atividade antioxidante teve média mais elevada que os demais solventes para inibição de ambos radicais livres (DPPH• e ABTS•+).

4.2 Caracterização dos filmes de amidos com extrato de erva mate

4.2.1 Análise visual do filme

A Figura 1 mostra os filmes de amido de mandioca com aplicação de extrato

de erva mate. Os mesmos apresentaram-se homogêneos, maleáveis com superfície lisa e sem rugas, sem formação de bolhas em sua extensão, bem como rachaduras. Além disso, analisando visualmente verificou-se certo brilho. Foi observado certa opacidade e a coloração também variou conforme aumentou-se a concentração de extrato adicionado (Figura 1).



Fonte: o autor (2017)

Figura 1 – Filmes de amido com aplicação de extrato de erva mate em diferentes concentrações. (C) Controle; (5%) adição de 5% de extrato de erva mate; (10%) adição de 10% de extrato de erva mate; (15%) adição de 15% de extrato de erva mate; (20%) adição de 20% de extrato de erva mate.

4.5 COR E OPACIDADE

Observa-se para que a opacidade apresentou comportamento linear e crescente com o aumento da concentração de extrato (Figura 2). Um dos motivos pode ser explicado pela concentração de pigmentos como clorofila estar em maiores concentrações com o aumento do extrato nos filmes (Figura 2). Contudo, a característica observada mesmo em 20% de extrato de erva mate adicionado ao filme é de que a opacidade não foi muito elevada (menor que 12%) esta característica influencia amplamente em uma embalagem além da sua forma de aplicação.

Existem produtos que requerem embalagens mais opacas e outras menos opacas. Biduski et al. (2015) observou, para filme com amido modificado em diferentes concentrações, opacidade entre 10,25% e 9,18% ficando próximo ao verificado com as concentrações de extrato de 10% e 20%.

Além disso, o comportamento linear é interessante pois, pode-se prever o comportamento desta adição de extrato em outras concentrações através da equação da reta obtida (Figura 2).

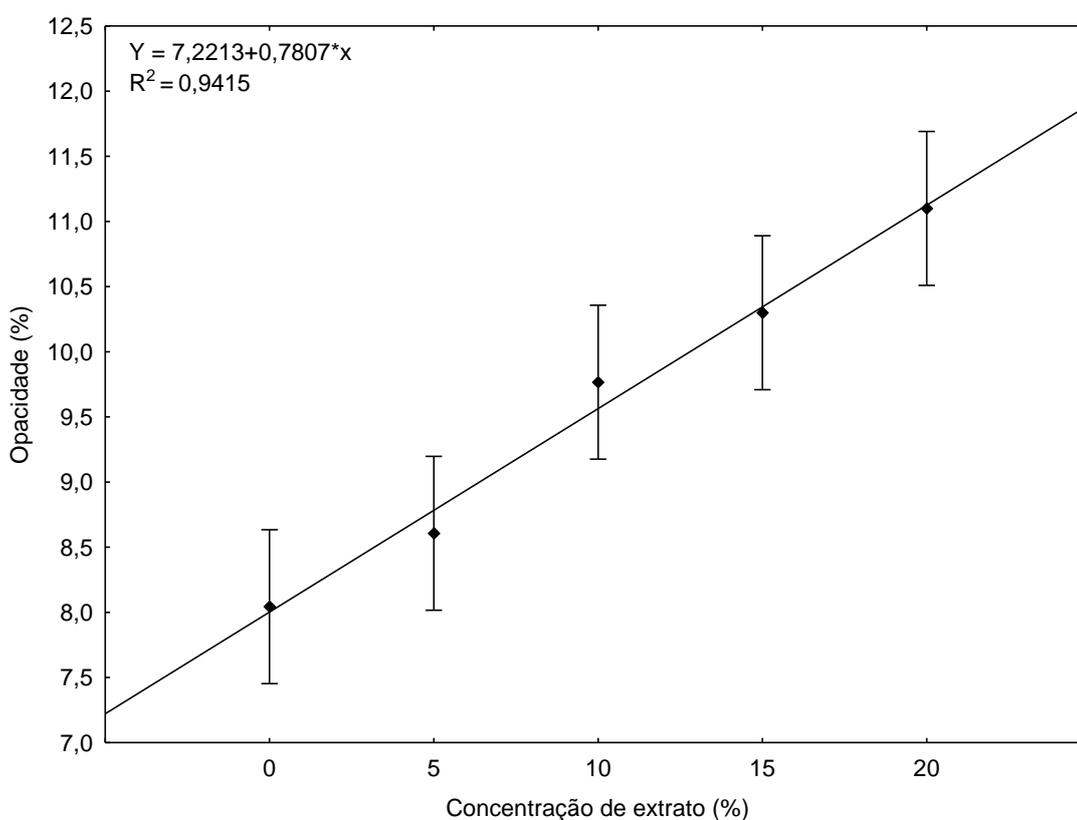


Figura 2 – Opacidade dos filmes de amido com diferentes concentrações de extrato de erva mate Barras de erro representam IC com 5% de significância.

Para os parâmetros de cor (L , a^* , b^*) observa-se que a concentração de extrato influenciou em todos os parâmetros sendo verificado diferença entre suas médias ($p < 0,05$) para alguns tratamentos. Algumas características podem ser observadas, como o decréscimo na luminosidade (L) conforme aumentou-se a concentração de extrato no filme, a tendência em aumentar o parâmetro a^* na escala de cores L a^* b^* variando para maiores tons de verde e b^* para maiores tons

de amarelo, pode-se dizer que tal comportamento foi proporcional a adição de extrato.

Tabela 5 –Parâmetros de cor L, a*, b* e opacidade

Concentração	L	a*	b*
Controle	75,73 ^a	-1,67 ^a	22,48 ^c
Extrato 5%	57,26 ^b	-2,57 ^{ab}	23,80 ^{cd}
Extrato 10%	48,06 ^c	-3,66 ^{cd}	25,03 ^{bc}
Extrato 15%	48,03 ^c	-4,51 ^d	26,36 ^{ab}
Extrato 20%	46,56 ^c	-5,15 ^d	27,21 ^a

*Medias de três determinações. Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna para cada propriedade, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey(p<0,05).

4.2.2 ANÁLISE DE ESPESSURA, PERMEABILIDADE DE VAPOR DE ÁGUA E SOLUBILIDADE.

A espessura, a permeabilidade de vapor de água e a solubilidade dos filmes de amido com adição de extrato de erva mate foram avaliadas e estão descritas na Tabela 5.

Tabela 6 – Espessura, permeabilidade de vapor de água (PVA) e solubilidade em água dos filmes de amido de mandioca adicionados de diferentes concentrações de extrato de erva mate.

Concentração*	Espessura (mm)	PVA ((g.mm)/dia.m ² .kPa)	Solubilidade (%)
Controle	0,0943±0,013 ^b	5,92±0,40 ^b	16,01±0,67 ^c
Extrato 5%	0,0997±0,009 ^{ab}	9,11±0,05 ^a	25,43±0,59 ^b
Extrato 10%	0,1032±0,009 ^a	8,20±0,32 ^a	29,42±1,63 ^{ab}
Extrato 15%	0,1047±0,003 ^a	9,86±0,41 ^a	32,90±0,16 ^{ab}
Extrato 20%	0,1073±0,010 ^a	9,08±0,27 ^a	37,17±2,67 ^a

*Medias de três determinações. Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna para cada propriedade, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os resultados observados para espessura apresentaram diferença entre suas médias (p<0,05) (Tabela 6). O aumento da espessura dos filmes foi proporcional ao aumento da concentração do extrato adicionado nas diferentes formulações, com exceção do tratamento com 5% de extrato que não diferiu do filme sem adição de extrato (controle). Esta característica pode ser atrelada ao aumento na concentração

de sólidos, visto que ao aumentar-se a concentração de extrato conseqüentemente aumenta-se o teor de sólidos.

Para a permeabilidade ao vapor de água foi observada diferença estatística ($p < 0,05$) entre o controle e os filmes com aplicação de extrato de erva mate, podemos apontar uma das possíveis causas do aumento do PVA como a adição de extrato, visto que os fenóis presentes no extrato de erva mate que atuam também como plastificantes, sendo assim lubrificando a rede a amido e permitindo a passagem de água por entre a cadeia de amido (JARAMILLO et al., 2015). Também as ligações covalentes entre a rede do polissacarídeo e o hidrogênio reduziu a disponibilidade de grupos de hidrogênio para se ligar com a água, ligações estas que se rompem ao se adicionar o extrato e ligando-se ao extrato. O trabalho realizado por Zetty (2005) os filmes de amido de mandioca apresentaram PVA de 7,05 (g.mm)/dia.m².kPa, resultado este próximo verificado neste trabalho (Tabela 6).

A solubilidade aumentou conforme se aumentou a concentração de extrato de erva mate (Tabela 6). A solubilidade do extrato pode ser apontada como uma das justificativas para este comportamento, visto que o soluto disperso no extrato é hidrossolúvel então durante o processo de solubilidade há uma difusão dos mesmos para a água. Com isso o filme perde sólidos que migram para água, havendo uma redução na sua massa, esta que contará para o percentual de solubilidade. Para o controle as ligações estabelecidas entre o amido e as pontes de hidrogênio são covalentes, necessitando mais esforço do agente solubilizante no caso a água para se quebrar estas ligações e solubilizar para o meio.

4.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS

As curvas de tensão x deformação obtidas em ensaios quase-estáticos sob esforço axial à temperatura ambiente mostraram o comportamento típico dos filmes de amido plastificado, independentemente da incorporação do extrato, com uma zona linear elástica seguida por um comportamento não linear até a falha. A resistência à tração reduziu com o aumento da concentração de extrato de erva mate (Figura 3).

A resistência à tração é o esforço de tração máximo sustentado pela amostra durante o teste de tensão. Se o estresse de tração máxima ocorrer no ponto de escoamento ou no ponto de ruptura, designa-se então força de tração ao rendimento ou à ruptura, respectivamente (ASTM, 2014). A resistência à tração de filmes

poliméricos é dependente do material utilizado, aditivos, temperatura de transição vítrea (T_g) e cristalinidade do polímero. Este último, no caso de amidos, está relacionado com a proporção amilose:amilopectina (RIBBA et al., 2017).

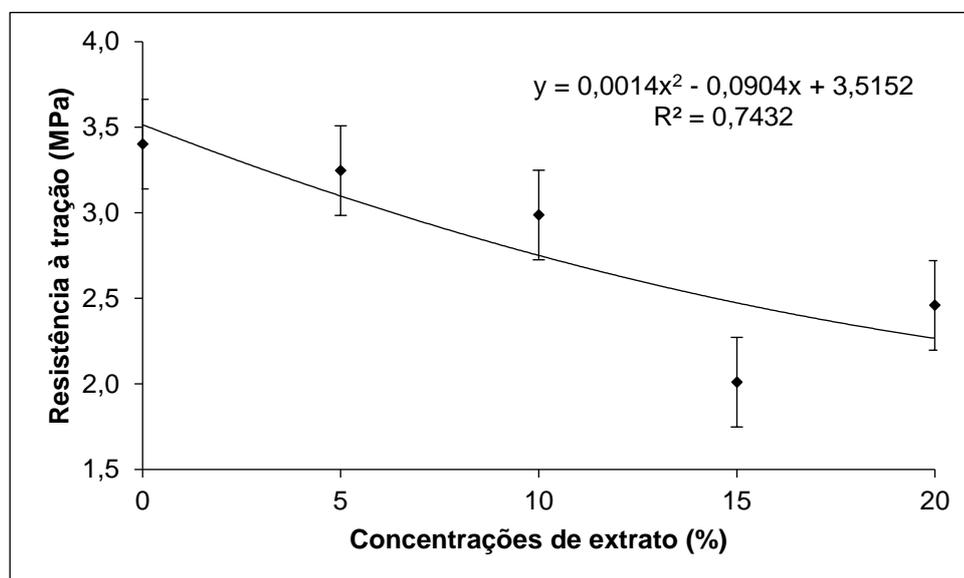


Figura 3 – Resistência à tração dos filmes de amido com diferentes concentrações de extrato de erva mate. Barras de erro representam IC com 5% de significância.

A redução da resistência à tração de filmes à base de amido com o aumento da concentração de plastificante foi relatada por autores (LÓPEZ et al., 2011; MUSCAT et al., 2012). Este fenômeno pode ser explicado através do papel dos plastificantes na redução da forte atração intra-molecular entre as cadeias de amido e na promoção da formação de ligações de hidrogênio entre plastificantes e moléculas de amido (MUSCAT et al., 2012; SARNTHEIN-GRAF; LA MESA, 2004).

A razão possível para a alta resistência à tração nos filmes com baixa concentração de plastificante é a dominação de fortes ligações de hidrogênio produzidas pela interação intermolecular de amido-amido em relação à atração plastificante-amido (SANYANG et al., 2015). Além disso, essas substâncias reduzem a tensão de deformação, dureza, densidade, viscosidade e carga eletrostática de um polímero, ao mesmo tempo que, aumentam a flexibilidade da cadeia polimérica, resistência à fratura e constante dielétrica. Outras propriedades também são afetadas, como grau de cristalinidade, clareza óptica, condutividade elétrica, comportamento frente ao fogo e a resistência à degradação biológica, entre outras propriedades físicas (VIEIRA et al., 2011).

O extrato de erva mate promoveu efeito plastificante nos filmes de amido de mandioca aumentado o alongamento (Figura 4).

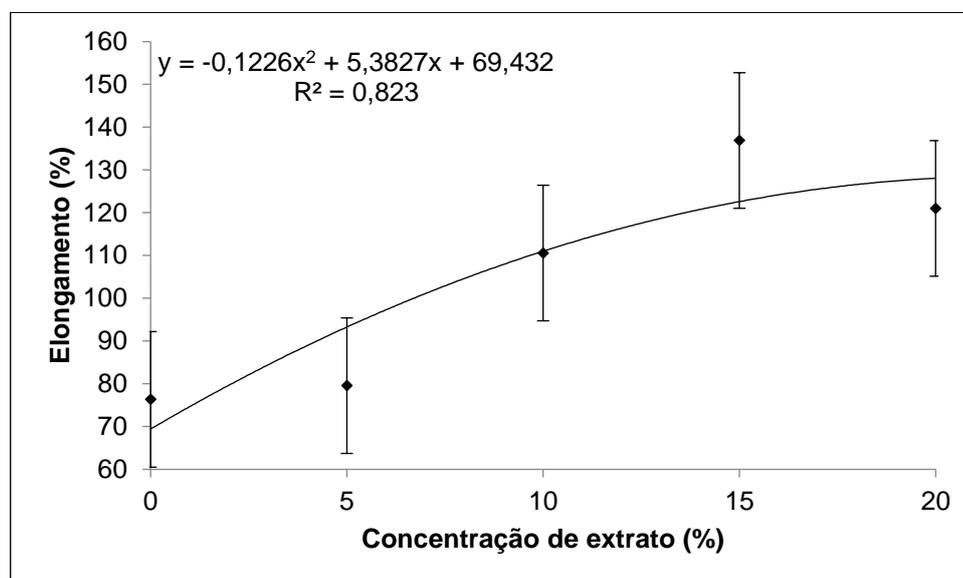


Figura 4 – Porcentagem de alongação dos filmes de amido com diferentes concentrações de extrato de erva mate. Barras de erro representam IC com 5% de significância.

Como é bem estabelecido, a presença de plastificantes torna os filmes mais flexível, sendo que a resistência à tração diminui e o alongamento até a ruptura aumenta (RIBBA et al., 2017). Este comportamento pode ser resultado da presença de compostos fenólicos que atuam como plastificantes (JARAMILLO et al., 2015, 2016), e das saponinas, que atuam como emulsificantes.

Os efeitos plastificantes de uma molécula são determinados por fatores como estrutura química, grupos funcionais, peso molecular, quantidade de plastificantes e sua compatibilidade com a matriz polimérica. A adição de baixa quantidade de plastificante durante o processamento causa fragilidade, o que afeta o desempenho mecânico dos amidos termoplásticos (TPS) produzidos. Entretanto, maior quantidade de plastificante melhora a flexibilidade dos TPS, com desempenho reduzido de barreira à umidade e gases e pode promover lixiviação dos mesmos durante armazenamento prolongado (MEKONNEN et al, 2013).

Os compostos fenólicos promovem alterações nos padrões de gelatinização e retrogradação do amido. Os grupos hidroxilas dos polifenóis solubilizados podem interagir com a água e os grupos hidroxilas do amido através de ligações de hidrogênio, impedindo a interação hidrofóbica das cadeias de amido para a

retrogradação (CHAI et al., 2013). Além disso, a adição de ácidos fenólicos pode alterar o pH do sistema e esta alteração foi correlacionada com os parâmetros formação de pasta de amidos alterando a viscosidade das mesmas (ZHU, 2015). Porém, o uso de compostos fenólicos naturais na embalagem de alimentos é particularmente encorajado, pois eles melhoram o estado oxidativo e microbiano dos alimentos e mostram muitos benefícios diferentes à saúde humana (ARCAN; YEMENICIOĞLU, 2011).

As saponinas, devido à presença de uma aglicona lipossolúvel e de cadeias de açúcares solúveis em água na sua estrutura anfifílica, são compostos tensoativos com propriedades detergentes, umectantes, emulsionantes e espumantes (ANDREUCETTI; CARVALHO; GROSSO, 2010).

O módulo de Young ou módulo de elasticidade é a razão entre a tensão aplicada e a deformação sofrida pelo corpo, sendo um indicador da rigidez dos materiais. Quanto maior o módulo, maior será a rigidez dos filmes. De acordo com a Figura 5 o módulo Young máximo foi observado no filme controle e reduziu com o aumento da concentração de extrato de erva mate. O efeito dos plastificantes nas propriedades mecânicas dos filmes de polímeros biodegradáveis também está relacionada com o volume das suas estruturas, que favorecem o afastamento dos polímeros e assim, suavizam as tensões, reduzindo o módulo de elasticidade (Vieira et. al, 2011),

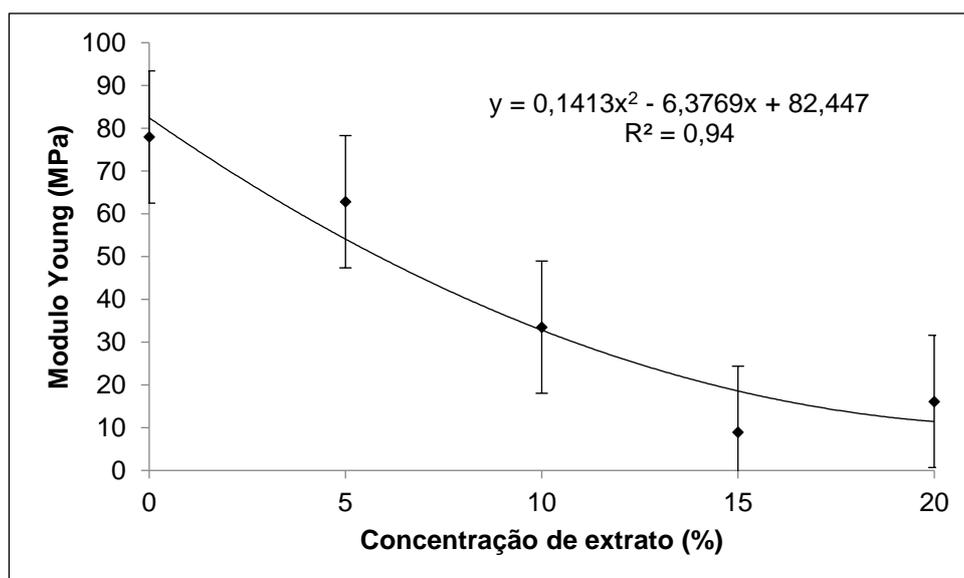


Figura 5 – Módulo Young dos filmes de amido com diferentes concentrações de extrato de erva mate. Barras de erro representam IC com 5% de significância.

O extrato de erva mate em geral é incorporado em filmes de amido e para atuar como antioxidante e plastificante (JARAMILLO et al., 2015). A adição crescente de extrato de erva-mate também foi reportada como responsável por reduzir a temperatura de fusão (T_m) dos filmes, o que limita a recristalização de amido (JARAMILLO et al., 2016) e assim, melhorar a capacidade de processamento dos materiais (RIBBA et al., 2017).

4.4 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO FILME *IN VITRO*

A concentração de compostos fenólicos aumentou com o aumento da concentração de extrato de erva mate nos filmes de amido (Figura 6). Isto pode ser explicado devido ao teor de compostos fenólicos presente no extrato (Tabela 3). Além disso, observa-se comportamento linear no aumento da concentração de composto fenólicos, ocorrendo proporcionalidade entre a concentração de extrato no filme e teor de compostos fenólicos com elevado $R^2 > 0,96$.

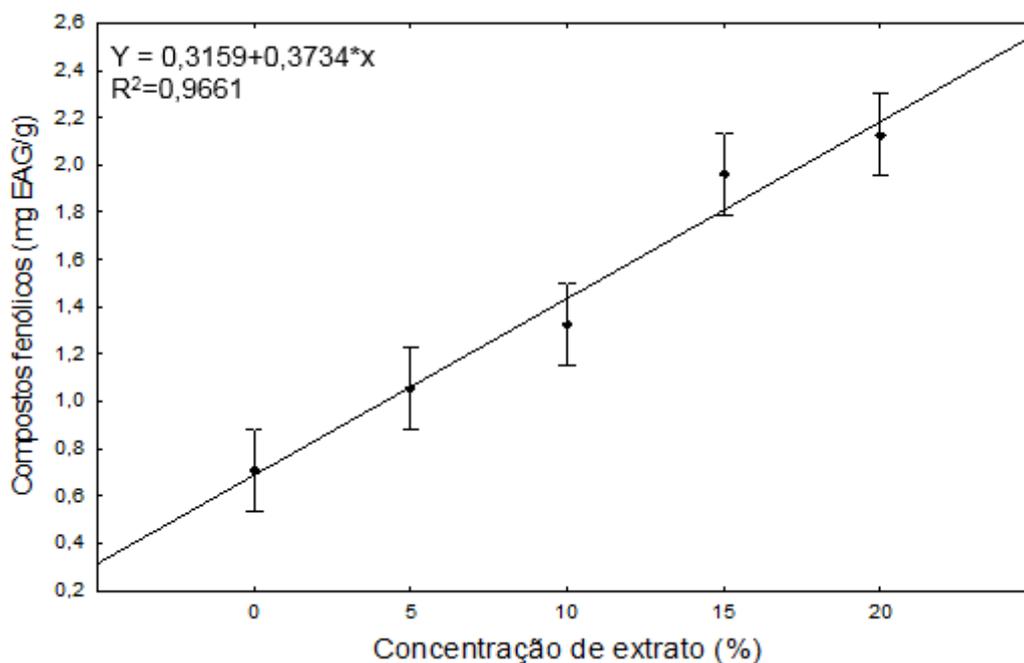


Figura 6 – Teor de compostos fenólicos em filmes de amido com diferentes concentrações de extrato de erva mate. Barras de erro representam IC com 5% de significância.

O teor de compostos fenólicos é muito importante para a finalidade proposta da embalagem, tais como, as funções ativas. Sendo assim, com o aumento da concentração de compostos fenólicos (Figura 6), estes que, são compostos

antioxidantes naturais e podem retardar a degradação de alimentos, pode haver aumento na capacidade antioxidante da embalagem adicionada de extrato de erva mate. As aplicações para este tipo de embalagem são inúmeras, sendo um exemplo a aplicação em alimentos com teor considerável de lipídios. Estes podem sofrer processos oxidativos e com isso alterar características sensoriais e nutricionais dos alimentos. Neste contexto, os compostos fenólicos que são antioxidantes naturais presentes no filme, atuam sobre estes agentes oxidantes fazendo com que os mesmos não tenham efeito sobre o alimento prolongando assim a vida útil dos mesmos. O trabalho Machado et al (2012) encontrou uma redução significativa em níveis de peróxidos durante o período de armazenamento de azeite de dende, o produto embalado em PEBD (polietileno de baixa densidade) chegou a níveis de 3347 % no índice de peróxidos após 40 dias enquanto a embalagem com 20% de extrato de erva mate teve 1121 % no índice de peróxidos para o mesmo período.

As médias e desvio padrão da atividade antioxidante através da inibição do radical DPPH diferiram entre si ($p < 0,05$), exceto as amostras com 10 e 15% de extrato (Figura 7). Isto pode ser justificado devido ao aumento de compostos fenólicos presentes no extrato com o aumento da concentração dos mesmos nos filmes. Estes fenóis atuam como antioxidantes naturais e reagem com os radicais livres DPPH• inibindo a ação dos mesmos. Os estudos de Prado et al (2009) mostraram correlações de $< 0,93$ da inibição do radical DPPH em função da concentração de compostos fenólicos confirmando assim a correlação entre compostos fenólicos e a atividade antioxidante.

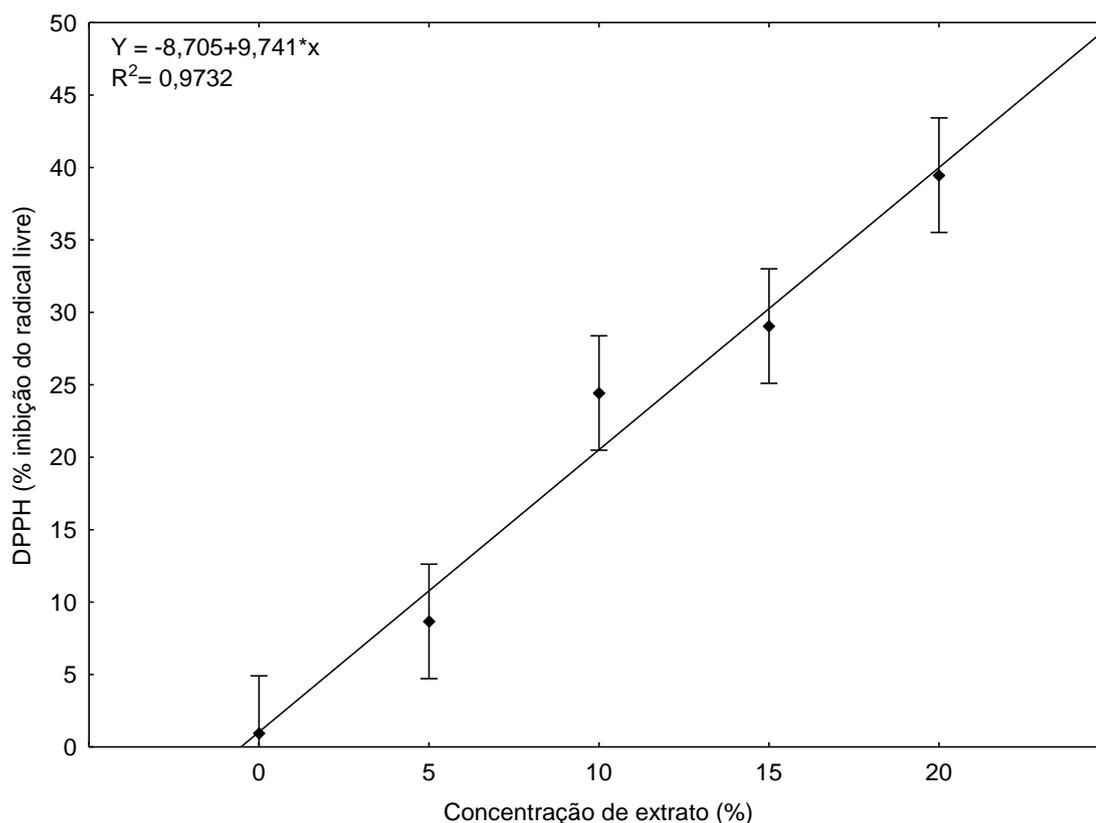


Figura 7 – Atividade antioxidante através da inibição dos radicais livres DPPH• em filmes de amido com diferentes concentrações de extrato de erva mate. Barras de erro representam IC com 5% de significância.

Da mesma maneira que os compostos fenólicos são desejáveis para embalagens ativas, pela atividade antioxidante, esta característica é amplamente desejável, visto que a mesma é um parâmetro que pode informar qual o poder antioxidante do filme. Assim, sabendo sua devida eficácia em combater radicais livres de um possível produto que a utiliza como embalagem, é possível ampliar a vida útil destes alimentos.

4.6 ISOTERMAS DE SORÇÃO

As isotermas de sorção têm sido extensivamente utilizadas para descrever matematicamente o comportamento entre o conteúdo de umidade e atividade de água (a_w) de diferentes materiais.

Ao se expor um material a determinada umidade relativa, ocorre transferência de massa para se alcançar um equilíbrio dinâmico entre a umidade do produto e a do ambiente. Tal fato acontece quando a pressão de vapor da água na superfície do material se iguala à do ar que o envolve. Assim, no equilíbrio, a atividade de água

(aw) está relacionada com a umidade relativa (%UR) do ambiente (KUROZAWA. et. al, 2005).

Uma isoterma é uma curva que descreve a relação de equilíbrio entre o teor total de umidade de um alimento e a pressão de vapor ou umidade relativa, a uma dada temperatura. As equações de isoterma de sorção de água são úteis para prever propriedades de sorção de água de filmes hidrofílicos. Estas fornecem uma visão um pouco mais aprofundada sobre a interação da água e os componentes do filme (MALI et al, 2005). Existem vários modelos matemáticos para descrever as isotermas de sorção de água dos materiais dos sistemas alimentares, mas ninguém dá resultados precisos em toda a gama de atividades de água, ou para todos os tipos de sistemas de alimentos. Essa relação depende de diversos fatores, tais como da estrutura física da superfície do material, composição química e afinidade com a água (KUROZAWA. et. al, 2005; MALI et. al, 2005). O modelo GAB fornece um bom ajuste para a faixa de atividade de água entre 0,1 - 0,9 (RIZVI, 1995). Na Tabela 7 estão as constantes da equação de GAB e os coeficientes de determinação (R^2) para os filmes com diferentes concentrações de extrato de erva mate, as curvas e respectivos pontos estão apresentados na Figura 8

Tabela 7 – Constantes e coeficientes de determinação (R^2) para o modelo GAB de isoterma de adsorção a 25°C

Tratamentos	X	C	k	R^2
Controle	0,1296	14,7688	0,8251	>0,99
Extrato 5%	0,0867	14,1400	0,8398	>0,97
Extrato 10%	0,1480	10,5033	0,7992	>0,99
Extrato 15%	0,4131	0,7579	0,6976	>0,97
Extrato 20%	0,1484	34,0421	0,7988	>0,96

X = conteúdo de umidade na monocamada (base seca); C = constante de Guggenheim que é o fator de correlação para as propriedades de sorção para a primeira camada que representa o volume líquido; k = fator de correlação para as propriedades das multicamadas com seu respectivo volume líquido (ZHANG e HAN, 2008).

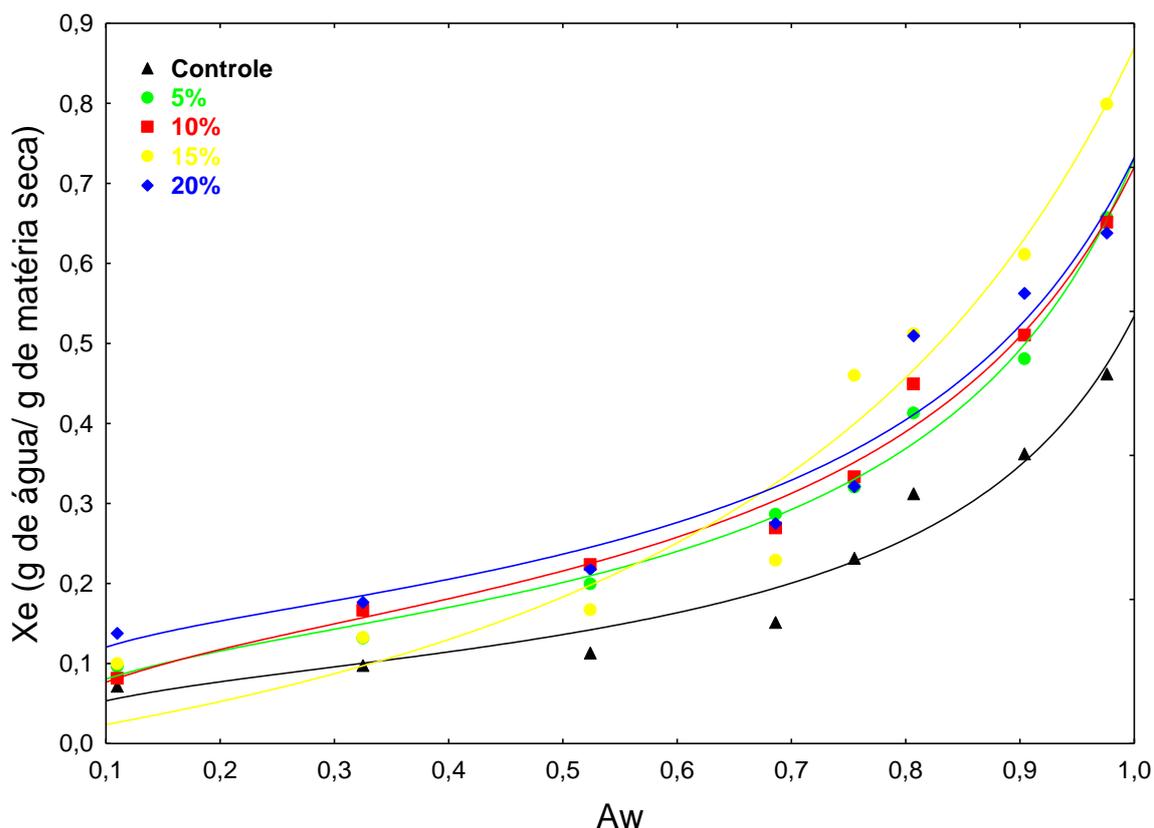


Figura 8 –Isotermas de sorção de filmes de amido com diferentes concentrações de extrato de erva mate ajustadas pelo modelo GAB.

As isotermas de sorção dos filmes de amido com adição de extrato de erva mate, apresentaram boa correlação para o modelo de GAB ficando assim com $R^2 > 0,96$. Este dado é importante para o comportamento de uma embalagem. Através dele sabemos indicar uma aplicação de uma embalagem, bem como as características da mesma em diferentes condições de umidade.

Pode-se relacionar o comportamento das isotermas de sorção com o PVA (Tabela 5) e aumento da umidade de equilíbrio conforme observado nas isotermas de sorção (Figura 8). Como observado na curva, a adição de 20% de extrato foi a que apresentou maior umidade ao final do período de estabilização (21 dias). Também pode-se verificar que as umidades absorvidas pelas amostras com 5, 10 e 15% foram , sendo que, absorveram mais umidade que o controle.

4 CONCLUSÃO

Os extratos de erva mate apresentaram concentrações intermediárias de compostos fenólicos e atividade antioxidante (inibição dos radicais ABTS•+ e DPPH•).

Os filmes elaborados com extrato de erva mate apresentaram características visuais muito semelhantes aos filmes poliméricos, como homogeneidade em sua extensão e certa maleabilidade. O aumento na concentração de extrato de erva mate modificou algumas propriedades dos filmes quando comparados ao controle. As principais características afetadas foram a redução da resistência à tração, aumento do percentual de alongação e redução no módulo Young, indicando a formação de filmes frágeis, mais elásticos, maleáveis e menos rígidos.

Além disso, os filmes apresentaram aumento do PVA com aumento das concentrações de extrato de erva mate, além de alterações nos parâmetros de cor, podendo verificar tonalidade diferentes quando comparada ao controle. O teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante dos filmes foi superior ao filme controle (sem extrato) comprovando a obtenção de filmes com propriedades de embalagens ativas. Também foi verificado que o filme possui comportamento típico para as isotermas de sorção, para diferentes atividades de água analisadas, este comportamento foi observado pelo modelo de GAB com correlações $R^2 > 0,96$.

Por fim os objetivos para o desenvolvimento e caracterização dos filmes propostos foram atingidos, sendo observadas características positivas para elaboração de filmes biodegradáveis ativos com a aplicação de extrato de erva mate.

5 REFERÊNCIAS

ANDREUC CETTI, C.; CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Gelatin-based films containing hydrophobic plasticizers and saponin from *Yucca schidigera* as the surfactant. **Food Research International**, v. 43, n. 6, p. 1710–1718, jul. 2010.

ARCAN, I.; YEMENICIOĞLU, A. Incorporating phenolic compounds opens a new perspective to use zein films as flexible bioactive packaging materials. **Food Research International**, v. 44, n. 2, p. 550–556, 2011.

ASTM D6701-16, Standard Test Method for Determining Water Vapor Transmission Rates Through Nonwoven and Plastic Barriers, **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 2016

ASTM American Society for Testing and Materials – ASTM D882-12. In: **Annual Book of ASTM Standards**, ASTM. Philadelphia. PA: 2012

BIDUSKI, B. et al. Impact of acid and oxidative modifications, single or dual, of sorghum starch on biodegradable films. **Food Chemistry**, v. 214, p. 53–60, 2017.

BOAVENTURA, B. C. B. et al Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) infusion obtained by freeze concentration technology on antioxidant status of healthy individuals, **LWT - Food Science and Technology** , V. 62, 948-954, 2015,

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

CHAI, Y., WANG, M., ZHANG, G. Interaction between amylose and tea polyphenols modulates the postprandial glycemic response to high-amylose maize starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 61, 8608-8615, (2013).

COLUSSI, R. et al. Acetylated rice starches films with different levels of amylose: Mechanical, water vapor barrier, thermal, and biodegradability properties. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1614–1620, 2017.

COSTA, R. B.; Avaliação genética dentro de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), na região de Caarapó, MS, pelo procedimento REML/BLUP. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.15, p.371-376, 2005.

COWAN, M.M. Plant products and antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n.4, p.564-82, 1999.

CUSHNIE, T. P. T; LAMB, A. J. Recent advanced in understanding the antibacterial properties of flavonoids. **International Journal. Antimicrobial. Agents**, v.238, p.99-107, 2011.

DEBEAUFORT, F. A. Edible films and coatings: tomorrow's packaging: a review. **Critical Reviews in Food Science**, v. 38, p. 299-313, 1998.

FAKHOURI, F.M *et al.* Films and edible coatings based on native starches and gelatin in the conservation and sensory acceptance of crimson grapes **Ciência e**

Tecnologia de Alimentos, 27 (2007), pp. 369-375

FERREIRA, E. L.; SAMPAIO, G. R.; TORRES, E. A. F. da S.; BASTOS, D. H. M. Natural Antioxidant from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) Prevents Hamburger Peroxidation, **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 4 p. 803-809, 2011.

FERNANDES, C. E. F. et al, Phytochemical profile, antioxidant and hypolipemiant potential of *Ilex paraguariensis* fruit extracts, **Industrial Crops and Products** V.81,139-146, 2016

FILIP R. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research** 20: 1437-1446, 2000.

GONTARD, N., GUILBERT, S. CUQ J.L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **J Food Science**. v. 57, n. 1, p. 190-199,1992.

GREIZERSTEIN, E. J.;, Espécies de Ilex Del Cono Sur:Estúdios Citogenéticos y de Electroforesis de Proteínas. In: 2 **Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 2.; Reunião Técnica da Erva-Mate**, 3. Encantado. Anais... Porto Alegre: Edição dos Organizadores, 2000. p. 116-120.

HECK C. I, DE MEJÍA, E.G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of food Science**; 72 (9): 138-15, 2007.

JARAMILLO, C. M. et al. Biofilms based on cassava starch containing extract of yerba mate as antioxidant and plasticizer. **Starch/Staerke**, v. 67, n. 9–10, p. 780–789, 2015.

JARAMILLO, C. M. et al. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 150–159, 2016.

KUROZAWA, L. E., EL-AOUAR, A. A. MURR, F. E. X. (2005). Obtenção de isotermas de dessorção de cogumelo in natura e desidratado osmoticamente. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 828–834.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RiMa, 2004. 531 p.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in enzymology**, 1987, 148: 350-382.

LÓPEZ, O. V. et al. Biodegradable packages development from starch based heat sealable films. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 2, p. 254–263, jul. 2011.

MACCARI JUNIOR, A.. Produtos Alternativos e Desenvolvimento da Tecnologia Industrial na Cadeia Produtiva da Erva-Mate. Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva - Mate / MCT / CNPq / Projeto PADCT Erva-Mate. Curitiba, 2000. 176 p

MALI, S. et al. (2005). Water sorption and mechanical properties of cassava starch

films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, 60(3), 283–289.

MEDA, A., L., Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, 91, 571-577. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>

MEKONNEN, T. et al. Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 1, n. 43, p. 13379, 2013.

MOREIRA, L. M., et al. Influência de diferentes sistemas de solvente água-etanol sobre as propriedades físico-químicas e espectroscópicas dos compostos macrocíclicos feofitina e clorofila α . **Química Nova**, 2010, 33.2: 258-262.

MURAKAMI, A. N. N. et al Concentration of biologically active compounds extracted from *Ilex paraguariensis* St. Hil. by nanofiltration **Food Chemistry V.** 141, 60-65, 2013

MUSCAT, D. et al. Comparative study of film forming behaviour of low and high amylose starches using glycerol and xylitol as plasticizers. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 2, p. 189–201, 2012.

OLIVEIRA, Y. M. M. de; ROTTA, E. Área de distribuição natural de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil). In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS – SILVICULTURA DA ERVA-MATE 10. 1985, **Curitiba Anais**. Curitiba, EMBRAPA/CNPF, 1985. p. 17 – 35.

OTHMAN, S. H. Bio-nanocomposite Materials for Food Packaging Applications: Types of Biopolymer and Nano-sized Filler. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 296–303, 2014.

OMS. Organização mundial da saúde, Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2011

PAREEK, S. et al, .Chlorophylls: Chemistry and Biological Functions. **Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health**, 2nd Edition. 2017, p 269-284.

PRADO, A. C. P do, et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]. **Brazilian Journal of food technology**, 2010, 12.4

RIZVI, S. S. H. Thermodynamic properties of food in desydratation. In: RAO, M. A; RIZVI, S.S. **Engineering Properties of Foods**, New York: Marcel Dekker Inc., p. 265-279, 1995.

RIBBA, L. , et al. Disadvantages of Starch-Based Materials, Feasible Alternatives in Order to Overcome These Limitations. **Starch-Based Materials in Food Packaging**. 2018. p. 37-76.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin carotenoids in prepared, processed, and stored foods. Washington: USAID, 1997.

RODIGHERI, H. R. Custos, produtividade e renda da erva mate cultivada na região de Guarapuava, PR. **Colombo: EMBRAPA/CNPF**, 1995. 22p.

RUFINO, M. S. M., et al. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. **Comunicado técnico. Embrapa Agroindústria Tropical**, 2007, 1-4.

SARANTOPOULOS, C. I. G. L.; DE OLIVEIRA, L. M. ; CANAVESI, E. . *Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis*. **CETEA/ITAL**, 2001.

SANYANG, M. et al. Effect of Plasticizer Type and Concentration on Tensile, Thermal and Barrier Properties of Biodegradable Films Based on Sugar Palm (*Arenga pinnata*) Starch. **Polymers**, v. 7, n. 6, p. 1106–1124, 2015.

SARNTHEIN-GRAF, C.; LA MESA, C. Association of saponins in water and water-gelatine mixtures. **Thermochimica Acta**, v. 418, n. 1–2, p. 79–84, 2004.

SILVA, D. F. Desenvolvimento de Blendas de Poliamida 6/Composto de Borracha Reciclada. 2011. 89f. **Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande**, Campina Grande-PB.

SOUZA MACHADO, B. A., et al. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, 2012, 42.11.

SORRENTINO, A.; GORRASI, G.; VITTORIA, V. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, n. 2, p. 84–95, 2007.

TAIZ, L. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: **ArtMed**, 2013. 954 p.

VON ELBE J.H. Colorantes. FENNEMA, O.W. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza : Wisconsin Madison, 2000. Cap.10, p.782-799.

VIEIRA, M. G. A. et al. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v. 47, n. 3, p. 254–263, mar. 2011.

YAMASHITA, F., et al. Filmes biodegradáveis para aplicação em frutas e hortaliças minimamente processadas. **Brazilian Journal of Food Technology (ITAL)**, 2005, 335-343.

ZETTY ARENAS, A. M.. Filme biodegradável à base de fécula de mandioca como potencial indicador de mudança de pH. 2005. PhD Thesis. Universidade de São Paulo.

ZHANG, Y., HAN, J. H. Sorption isotherm and plasticization effect of moisture and plasticizers in pea starch film. **Journal of Food Science**, v.73 n.7, 2008.

ZHU, F. Interactions between starch and phenolic compound. **Trends in Food Science and Technology**, v. 43, n.2, 129–143, 2015