



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

ALEXIA FLÁVIA FRANÇA VIEIRA

**AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES
NA ERVA MATE (*Ilex paraguariensis*) UTILIZANDO O LÍQUIDO IÔNICO 2-
HIDROXIETANOLAMINA (2-HEAA)**

LARANJEIRAS DO SUL

2019

ALEXIA FLÁVIA FRANÇA VIEIRA

**AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES
NA ERVA MATE (*Ilex paraguariensis*) UTILIZANDO O LÍQUIDO IÔNICO 2-
HIDROXIETANOLAMINA (2-HEAA)**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para a obtenção do grau
de Bacharel em Engenharia de Alimentos da
Universidade Federal da Fronteira Sul

Orientador: Prof.^o Dr. Gustavo Henrique Fidelis dos
Santos

LARANJEIRAS DO SUL

2019

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Vieira, Alexia Flávia França
Avaliação da extração de compostos bioativos
presentes na erva maté (*Ilex paraguariensis*) utilizando
o líquido iônico 2-hidroxietanolamina (2-HEAA) / Alexia
Flávia França Vieira. -- 2019.
55 f.:il.

Orientador: Dr. Gustavo Henrique Fidelis dos Santos.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Engenharia de Alimentos, Laranjeiras do Sul, PR , 2019.

1. Compostos Fenólicos. 2. Capacidade antioxidante.
3. Planejamento Experimental. 4. ABTS. 5. Flavonoides.
I. Santos, Gustavo Henrique Fidelis dos, orient. II.
Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

ALEXIA FLAVIA FRANCA VIEIRA

**AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES
NA ERVA MATE (*Ilex Paraguariensis*) UTILIZANDO O LÍQUIDO IÔNICO 2-
HIDROXIETANOLAMININA (2-HEAA)**

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. Gustavo Henrique Fidelis dos Santos

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 13 / 12 / 2019

BANCA EXAMINADORA

Gustavo dos Santos

Prof. Dr. Gustavo Henrique Fidelis dos Santos

Leda Battestin Quast

Prof^a. Dr^a. Leda Battestin Quast

Ernesto Quast

Prof. Dr. Ernesto Quast

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, que me permitiu chegar até aqui com força, coragem e sabedoria pra passar por todas as situações difíceis ao longo desses anos. Sem Ele nada disso seria possível.

Agradecer a minha família que foi meu suporte e minha base, mesmo distante me ajudaram a ter calma, paciência (as vezes) e principalmente a não desistir. Aos meus pais Sidney e Erika por todos os conselhos, amor e confiança. Aos meus avos França, Gentil e Emília por todas as conversas que, mesmo não entendendo, demonstravam interesse e orgulho. A minha avó Nilza que mesmo lá de cima sempre esteve cuidando. Meu irmão Hendrick por todas as brincadeiras e incentivos.

Ao meu namorado Marco por toda paciência que teve comigo (coitado), todo incentivo e apoio ao longo dos anos, por não me deixar desistir e me fazer entender o quanto sou capaz.

Agradeço ao meu orientador, Gustavo Henrique Fidelis dos Santos por todo o incentivo, apoio e conselhos. Obrigada pela confiança e por sempre estar a disposição dando todo o suporte necessário para realização deste trabalho, e também por ouvir meus desabafos e choros por todas as vezes em que algo saia dos planos.

Agradeço a professora Leda Quast e professor Ernesto Quast por aceitarem o convite de fazer parte desta banca, pela disponibilidade do tempo e por todos os ensinamentos compartilhados ao longo da graduação.

Agradeço a professora Cátia Tavares dos Passos Francisco por todo auxílio ao longo da graduação, por ter aceitado me orientar em meus estágios.

Professora Larissa Bertan, por todo conhecimento, incentivo, conselhos e brincadeiras que compartilhamos durante esses anos e também aos demais professores do curso de Engenharia de Alimentos por toda experiência e ensinamento compartilhados.

Às amigas que a Universidade me deu e por todas as vezes que me mandaram ter paciência, respirar e me ouviram desabafar (muitas vezes eu sei, desculpem), Gabriela Bertan, Soliane Helen Franco, Remili Grando, Naiara Nobre Reis e Maria Tereza Scheffel.

Agradeço a Caroline Mayumi Tamura por toda ajuda durante a realização desse trabalho.

A empresa Mate Laranjeiras por toda a doação de erva mate utilizada neste trabalho e por todo carinho e ensinamento ao longo do meu estágio.

“A vida é uma peça de teatro que não permite ensaio. Por isso, cante, chore, dance, ria e viva intensamente, antes que a cortina se feche e a peça termine sem aplausos.” (Charles Chaplin)

RESUMO

A erva-mate possui elevada concentração de compostos fenólicos que atuam como antioxidantes e auxiliam na prevenção de diversas doenças, como por exemplo, o câncer. O uso de líquidos iônicos no processo de extração de compostos bioativos vem aumentando por se tratar de um solvente que baseia-se nos princípios da química verde. Neste trabalho foi avaliada a extração de compostos fenólicos, atividade antioxidante e flavonoides presentes na erva-mate utilizando como solvente o líquido iônico acetato de 2-hidroxietanolamina (2-HEAA). A erva-mate obtida na cidade de Laranjeiras do Sul – PR foi higienizada, seca em estufa, triturada e separada em diferentes granulometrias. Foi realizado ensaio preliminar para verificar qual a concentração de partícula de erva mate por solvente que extrairia maiores teores de polifenóis. Foi realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) para avaliar a influência da temperatura, da granulometria, da concentração do solvente e da velocidade de agitação na extração de compostos fenólicos utilizando o líquido iônico 2-HEAA. O estudo cinético foi realizado utilizando as melhores condições operacionais obtidas pelo planejamento experimental e foi identificado qual o melhor tempo para que a extração entre em equilíbrio. A determinação de compostos fenólicos foi baseada no método que utiliza o reagente Folin-Ciocalteu e a leitura da absorbância das amostras foi realizada em espectrofotômetro a 765 nm. O método utilizado para análise da atividade antioxidante foi baseado na inibição do radical ABTS, analisando decréscimo na absorbância em espectrofotômetro a 734 nm. A determinação de flavonoides foi realizada pelo método que se baseia na reação do extrato com $AlCl_3$, $NaNO_2$ e $NaOH$ e com leitura da absorbância em espectrofotômetro a 510 nm. Os resultados obtidos no ensaio preliminar mostraram que o uso de 2 gramas de partículas de erva mate por 20 gramas de solvente foi o que melhor extraiu os compostos da erva mate. No planejamento experimental, os parâmetros ótimos para extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante foram semelhantes. Os parâmetros ótimos para extração de flavonoides que apresentaram diferença em relação a extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante foram temperatura e concentração de solvente. De forma geral, os parâmetros ótimos para extração dos três componentes foram 60 °C, 100 Mesh, 75% de concentração de solvente e 180 rpm. O estudo cinético mostrou que a extração de compostos fenólicos, flavonoides e compostos antioxidantes presentes na erva mate utilizando o solvente 2-HEAA é rápida e que o tempo de equilíbrio foi de aproximadamente 200 minutos. O modelo cinético avaliado foi a equação não linear de primeira ordem, o qual ajustou-se aos dados experimentais com coeficientes de determinação entre 0,94 a 0,99.

Palavras-chave: Compostos fenólicos; Capacidade antioxidante; Planejamento Experimental; Líquidos iônicos; ABTS; Flavonoides

ABSTRACT

Yerba mate has a high concentration of phenolic compounds that act as antioxidants and help in the prevention of various diseases, such as cancer. The use of ionic liquids in the process of extraction of bioactive compounds has been increasing because it is a solvent based on the principles of green chemistry. In this work was evaluated the extraction of phenolic compounds, antioxidant activity and flavonoids present in yerba mate using as solvent the ionic liquid 2-hydroxyethanolamine acetate (2-HEAA). The yerba mate obtained in the city of Laranjeiras do Sul - PR were sanitized, dried in the oven, ground and separated into different granulometry. A preliminary test was performed to verify the concentration of matte weed particle per solvent that would extract higher polyphenol contents. A central rotational composite design (DCCR) was performed to evaluate the influence of temperature, particle size, solvent concentration and agitation speed on the extraction of phenolic compounds using the ionic liquid 2-HEAA. The kinetic study was performed using the best operational conditions obtained by the experimental design and it was identified the best time for the extraction to come into equilibrium. The determination of phenolic compounds were based on the method using the Folin-Ciocalteu reagent and the samples absorbance reading were performed on a spectrophotometer at 765 nm. The method used to antioxidant activity analysis was based on ABTS radical inhibition, analyzing the decrease in absorbance in spectrophotometer at 734 nm. Flavonoids were determined by the method based on the extract reaction with $AlCl_3$, $NaNO_2$ and $NaOH$ and absorbance reading on spectrophotometer at 510 nm. The results obtained in the preliminary test showed that 2 grams of yerba mate particles per 20 grams of solvent was the test that best extracted compounds of yerba mate. In the experimental design the optimum parameters for phenolic and antioxidant compounds were similar. The optimum parameters for flavonoids extraction that showed differences with phenolic compounds and antioxidant activity were temperature and solvent concentration. In general, the optimum parameters for extraction of the three components were 60°C, 100 Mesh, 75% solvent concentration and 180 rpm. The kinetic study showed that the extraction of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant compounds present in yerba mate using the 2-HEAA solvent is fast and that the equilibrium time was approximately 200 minutes. The kinetic model evaluated was the first-order nonlinear equation, which fitted the experimental data with coefficients of determination between 0.94 and 0.99.

Keywords: Phenolic Compounds; Antioxidant capacity; Experimental planning; Ionic liquids; ABTS; Flavonoids

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Folhas de erva mate em estufa com circulação de ar.

Figura 2: Síntese do líquido iônico acetato de 2-hidroxietanolamina.

Figura 3: Metodologia de análise para determinação de compostos fenólicos.

Figura 4: Metodologia para determinação de flavonoides totais.

Figura 5: Diagrama de Pareto dos efeitos do planejamento para a resposta de compostos fenólicos em função da temperatura, da granulometria, da concentração do solvente e da velocidade de agitação.

Figura 6: Superfícies de resposta para o efeito da temperatura e granulometria (a), temperatura e concentração (b), temperatura e velocidade (c), granulometria e concentração (d), granulometria e velocidade (e) e concentração e velocidade (f) sobre a extração de compostos fenólicos ($\text{mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$).

Figura 7: Curvas de contorno para o efeito da temperatura e granulometria (a), temperatura e concentração (b), temperatura e velocidade (c), granulometria e concentração (d), granulometria e velocidade (e) e concentração e velocidade (f) sobre a extração de compostos fenólicos ($\text{mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$).

Figura 8: Diagrama de Pareto dos efeitos do planejamento para a resposta da atividade antioxidante por meio da captura do radical ABTS em função da temperatura, da granulometria, da concentração do solvente e da velocidade de agitação.

Figura 9: Superfícies de resposta para o efeito da temperatura e granulometria (a), temperatura e concentração (b), temperatura e velocidade (c), granulometria e concentração (d), granulometria e velocidade (e) e concentração e velocidade (f) sobre a atividade antioxidante determinada pela captura do radical ABTS ($\mu\text{g TE mg}^{-1}$).

Figura 10: Curvas de contorno para o efeito da temperatura e granulometria (a), temperatura e concentração (b), temperatura e velocidade (c), granulometria e concentração (d), granulometria e velocidade (e) e concentração e velocidade (f) sobre a atividade antioxidante determinada pela captura do radical ABTS ($\mu\text{g TE mg}^{-1}$).

Figura 11: Diagrama de Pareto dos efeitos do planejamento para a resposta de flavonoides em função da temperatura, da granulometria, da concentração do solvente e da velocidade de agitação.

Figura 12: Superfícies de resposta para o efeito da temperatura e granulometria (a), temperatura e concentração (b), temperatura e velocidade (c), granulometria e concentração (d), granulometria e velocidade (e) e concentração e velocidade (f) sobre a extração de flavonoides ($\text{mg ECA } 100 \text{ g}^{-1}$).

Figura 13: Curvas de contorno para o efeito da temperatura e granulometria (a), temperatura e concentração (b), temperatura e velocidade (c), granulometria e concentração (d), granulometria e velocidade (e) e concentração e velocidade (f) sobre a extração de flavonoides ($\text{mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Ensaio preliminar para extração de compostos fenólicos da erva mate.

Tabela 2: Delineamento experimental composto central rotacional (DCCR) decodificado.

Tabela 3: Resultados dos ensaios preliminares em diferentes concentrações de erva mate por grama de solvente.

Tabela 4: Delineamento experimental composto central rotacional (DCCR): volume de extrato, concentração de compostos fenólicos, concentração de flavonoides e atividade antioxidante realizada pela captura do radical ABTS.

Tabela 5: ANOVA para a resposta de compostos fenólicos extraídos pelo líquido iônico

Tabela 6: ANOVA para a resposta da atividade antioxidante determinada pela captura do radical ABTS no extrato de erva mate.

Tabela 7: ANOVA para a resposta de flavonoides extraídos pelo líquido iônico.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	2
2. MATERIAIS E MÉTODOS	4
2.1. PREPARO ERVA MATE	4
2.2. PREPARO LÍQUIDO IÔNICO	5
2.3. ENSAIO EXPERIMENTAL	6
2.4. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	7
2.5. DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS.....	8
2.6. CAPACIDADE ANTIOXIDANTES PELO MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL ABTS•+	9
2.7. DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS.....	10
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	11
3.1. ENSAIO PRELIMINAR.....	11
3.2. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	14
3.2.1. <i>Compostos Fenólicos</i>	15
3.2.2. <i>Capacidade antioxidantes pelo método de captura do radical ABTS•+ ...</i>	20
3.2.3. <i>Flavonoides</i>	23
4. CONCLUSÃO	30
5. REFERÊNCIAS	31
ANEXO 1. NORMAS DA REVISTA BRAZILIAN JOURNAL OF FOOD TECHNOLOGY.	33

ESPECIFICAÇÕES DA REVISTA QUE SERÁ ALVO PARA A SUBMISSÃO

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi redigido em forma de um artigo de acordo com as normas da revista *Brazilian Journal of Food Technology*. As normas da revista que foram utilizadas como base para a formatação deste trabalho de conclusão de curso se encontram no ANEXO I.

1. INTRODUÇÃO

A erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St. –Hill), pertencente à família Aquifoliaceae, é uma espécie nativa da região subtropical da América do Sul, especificamente Argentina, Uruguai, Brasil e Paraguai. Aproximadamente 80% da produção de erva mate pertence ao Brasil, espalhadas entre os estados de Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Mato Grosso do Sul, São Paulo e Minas Gerias, sendo a região Sul a maior produtora dessa planta (ESMELINDRO et al., 2002; CHAICOUSKI et al., 2014). As folhas secas e trituradas são consumidas principalmente em bebidas como chás, chimarrão, tereré, sucos e pode ser chamada também de mate, erva-verdadeira, erva-congonha e erva (PRZYGODDA et al., 2010; PAULA et al., 2011).

Atualmente, os consumidores têm demonstrado maior preocupação com a saúde e com isso há um aumento na procura por alimentos e bebidas que apresentem capacidades funcionais, ou seja, alimentos nutritivos que previnam a ação de radicais livres, hipertensão, obesidade, AIDS, diabetes e até mesmo cânceres. Neste sentido, a erva mate é uma planta que possui elevada quantidade de compostos bioativos e grande capacidade antioxidante. Dentre esses compostos, os fenólicos têm atraído grande interesse pois apresenta proteção contra processos oxidativos que ocorrem naturalmente no organismo humano, protegem antioxidantes alimentares como vitamina E e C e complexação de íons metálicos. Os compostos fenólicos presentes em plantas podem ser divididos em flavonoides (antocianinas, flavonóis e seus derivados), ácidos fenólicos (ácidos benzoico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas. (ANGELO; JORGE, 2007; DUTRA; HOFFMANN-RIBANI; RIBANI, 2010; PRZYGODDA et al., 2010; ALVES, 2013).

A extração completa destes compostos depende de diversos fatores como solvente utilizado, natureza do composto, tamanho da amostra, método de extração, tempo e condições de armazenamento (TURKMEN; SARI; VELIOGLU, 2006; ANGELO; JORGE, 2007; CHAICOUSKI et al., 2014).

Atualmente, os solventes comumente utilizados para extração de compostos fitoquímicos de tecidos vegetais são solventes orgânicos. O uso destes reagentes pode causar a contaminação ao ambiente e resultar em subprodutos tóxicos para humanos. Visando melhorar estes aspectos, alternativas são estudadas como o uso de solventes que se enquadram nos princípios da Química Verde ou química sustentável, que tem como objetivo reduzir ou eliminar o uso ou geração de substâncias tóxicas, além de melhoria econômica pela diminuição de gastos com armazenamento e tratamento de resíduos, descontaminação e pagamento de indenizações (PRADO, 2003; VASCONCELOS; PIZZUTI, 2012)

Os líquidos iônicos têm demonstrado ser um reagente alternativo e de grande importância para a pesquisa, pois é um solvente coerente com os preceitos da Química Verde. A aplicação dos líquidos iônicos é ampla, podendo ser utilizado como solventes em processos extrativos. Já foram concluídos estudos que mostraram a eficiência dos líquidos iônicos nos processos de extração, além de obterem vantagens pelo baixo custo, serem biocompatíveis e biodegradáveis (TURKMEN; SARI; VELIOGLU, 2006; VASCONCELOS; PIZZUTI, 2012; RIBEIRO et al., 2013).

Para maximização da extração de compostos fitoquímicos presentes na erva mate, além da pesquisa da otimização dos parâmetros operacionais, tais como temperatura de operação, tamanho da partícula, concentração do solvente e velocidade do processo, é importante a compreensão do tempo de extração. Neste sentido, o estudo da cinética de extração é uma ferramenta da engenharia muito utilizada para otimização, simulação, planejamento e controle de processos. Este estudo é realizado por meio do ajuste de um modelo matemático aos resultados experimentais, que tem por objetivo definir a melhor utilização de energia e de tempo para a operação unitária. Além disso, modelos cinéticos podem fornecer informações sobre o processo como a concentração máxima de extração, denominada concentração de equilíbrio e a constante de transferência de massa. A

equação cinética não linear de primeira ordem é um modelo matemático que vem sendo utilizado para representar o processo de extração de compostos fenólicos (AMENDOLA et al., 2010).

Dessa forma o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de extração de compostos fenólicos e compostos com ação antioxidante presentes na erva mate utilizando líquido iônico 2-HEAA como solvente. Esta avaliação foi realizada por meio da aplicação de delineamento composto central rotacional (DCCR) para verificar o efeito de variáveis como temperatura de operação, granulometria das partículas de erva mate, concentração do solvente e velocidade de agitação do processo na extração dos compostos, e também por meio do estudo da cinética de extração.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. PREPARO ERVA MATE

A erva mate foi coletada e doada pela indústria Mate Laranjeiras do município de Laranjeiras do Sul-PR. As folhas foram separadas dos galhos e selecionadas as que não apresentavam danos mecânicos. Em seguida, as folhas foram transportadas para o Laboratório de Frutas e Vegetais da Universidade Federal da Fronteira Sul onde foram higienizadas e sanitizadas em solução de hipoclorito de sódio 1% durante 5 minutos, e posteriormente foram enxaguadas em água corrente.

As folhas foram dispostas em estufas com circulação de ar (Figura 1) a 30 °C e secas durante 4 dias. Após esse período as folhas erva mate foram trituradas em moinho de facas (American Lab) previamente higienizado com álcool isopropílico. As partículas foram separadas, com o auxílio de peneiras nas seguintes granulometrias: 40, 60, 80, 100 e 120 Mesh. As partículas foram embaladas e lacradas em sacos plásticos e armazenadas em ultrafreezer.



Figura 1. Folhas de erva mate em estufa com circulação de ar.

2.2. PREPARO LÍQUIDO IÔNICO

O líquido iônico acetato 2-hidroxietanolamina (2-HEAA) se deu a partir da reação de neutralização ácido-base em que foi utilizado ácido acético 99,7% (Exodo científico) e monoetanolamina 99,9% (Neon) como reagentes. Os reagentes foram reservados e utilizados somente para a síntese do líquido iônico de modo a garantir sua pureza.

O sistema utilizado para síntese do líquido iônico foi adaptado de (SANTOS, 2014) como ilustrado na Figura 2. Neste sistema, o monoetanolamina foi pesado em balão com duas bocas, sendo que em uma foi inserido um condensador e na outra uma bureta com ácido acético previamente pesado. O sistema foi mantido sob agitação com o auxílio de chapa de agitação magnética e, como a reação é exotérmica, foi adicionado gelo ao redor do sistema para baixar a temperatura. O ácido acético foi adicionado ao monoetanolamina gota a gota. Após toda a adição do ácido acético à solução, o sistema foi mantido sob agitação em temperatura ambiente durante 24 horas. Ao final foi realizada análise do pH do líquido iônico, que deve estar entre 8 e 9.



Figura 2. Síntese do líquido iônico acetato de 2-hidroxietanolamina.

2.3. ENSAIO PRELIMINAR

Em Erlenmeyer de 250 mL foi realizado a mistura de partículas de erva mate e solvente em diferentes concentrações conforme Tabela 1.

Tabela 1. Ensaio preliminar para extração de compostos fenólicos da erva mate.

Ensaio	Concentração (g erva mate g ⁻¹ solvente)	Massa de erva mate (g)	Massa de solvente (g)
P1	0,025	0,5	20,0
P2	0,050	1,0	20,0
P3	0,100	2,0	20,0
P4	0,150	3,0	20,0
P5	0,200	4,0	20,0

A granulometria de erva mate utilizada foi de 60 mesh e o líquido iônico foi diluído em água na proporção 1:1 (concentração de 50% do solvente). Os ensaios foram levados para o agitador orbital (Marconi, MA259/50A2000) com os seguintes parâmetros de controle: temperatura 50 °C, agitação 100 rpm durante 5 horas. Após esse processo, as soluções foram transferidas para tubos cônicos de polipropileno de 50 mL e centrifugadas para separar as partículas sólidas do extrato líquido.

Os extratos foram retirados com o auxílio de pipeta graduada, para verificar o volume final, e armazenados em tubos de polipropileno à -80 °C em ultrafreezer.

2.4. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Para avaliar a influência de parâmetros como temperatura, granulometria, velocidade de agitação e concentração do solvente na extração dos compostos fenólicos da erva mate, foi realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR). Em Erlenmeyer de 250 mL foi realizado a mistura de 2 g partículas de erva mate e 20 g de solvente.

O delineamento foi organizado com planejamento fatorial 2^4 , 8 pontos axiais com 3 repetições no ponto central, totalizando 27 ensaios. O planejamento experimental com as variáveis reais e codificadas, bem como os valores de cada variável estão apresentados na Tabela 2. A variável dependente avaliada foi a concentração de compostos fenólicos, teor de flavonoides e a atividade antioxidante dos ensaios.

Tabela 2. Delineamento experimental composto central rotacional (DCCR) decodificado.
Variáveis Codificadas

Ensaio	Temperatura		Granulometria		Concentração		Velocidade	
	Nível	°C	Nível	Mesh	Nível	%	Nível	rpm
1	-1	35	-1	60	-1	25	-1	60
2	+1	65	-1	60	-1	25	-1	60
3	-1	35	+1	100	-1	25	-1	60
4	+1	65	+1	100	-1	25	-1	60
5	-1	35	-1	60	+1	75	-1	60
6	+1	65	-1	60	+1	75	-1	60
7	-1	35	+1	100	+1	75	-1	60
8	+1	65	+1	100	+1	75	-1	60
9	-1	35	-1	60	-1	25	+1	140
10	+1	65	-1	60	-1	25	+1	140
11	-1	35	+1	100	-1	25	+1	140
12	+1	65	+1	100	-1	25	+1	140
13	-1	35	-1	60	+1	75	+1	140
14	+1	65	-1	60	+1	75	+1	140
15	-1	35	+1	100	+1	75	+1	140
16	+1	65	+1	100	+1	75	+1	140

17	-2	20	0	80	0	50	0	100
18	+2	80	0	80	0	50	0	100
19	0	50	-2	40	0	50	0	100
20	0	50	+2	120	0	50	0	100
21	0	50	0	80	-2	0	0	100
22	0	50	0	80	+2	100	0	100
23	0	50	0	80	0	50	-2	20
24	0	50	0	80	0	50	+2	180
25	0	50	0	80	0	50	0	100
26	0	50	0	80	0	50	0	100
27	0	50	0	80	0	50	0	100

2.5. DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

A concentração de compostos fenólicos em cada extrato foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu de acordo com Bucic-Kojic et al., (2007). O fluxograma da análise é ilustrado na Figura 3.

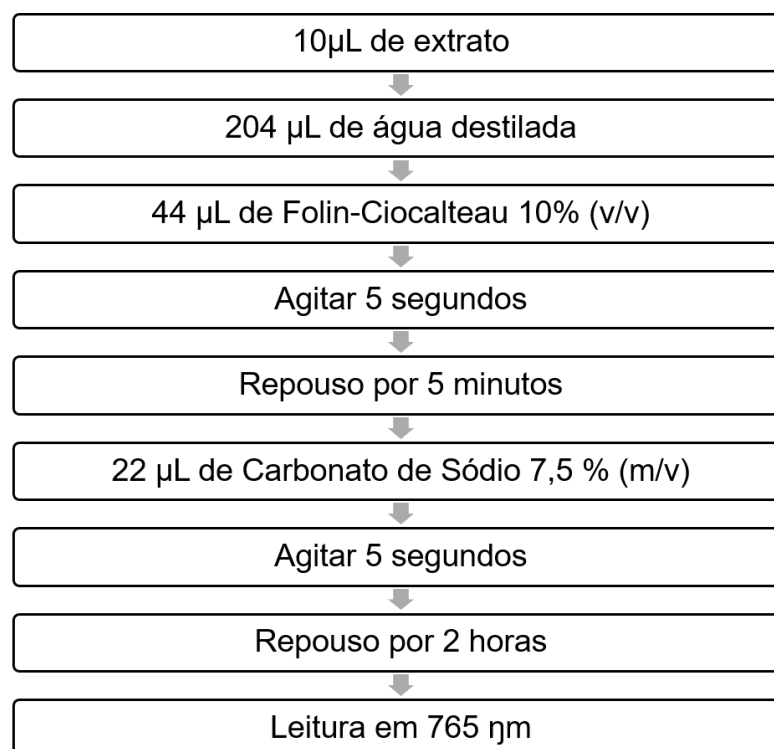


Figura 3. Metodologia de análise para determinação de compostos fenólicos.

Deverá ser inserida na placa uma amostra em branco, com adição de água destilada ao invés de amostra, para descontar o seu valor da absorbância das amostras.

A leitura da absorbância das amostras foi realizada em comprimento de onda de 765 nm em espectrofotômetro (Thermo Scientific), 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, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 40, 60, 70 e 76,4 mg EAG mL⁻¹ (mg Equivalente de Ácido Gálico por mL). Os resultados foram expressos em mg EAG 100 g⁻¹ de erva mate.

2.6. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL ABTS•+

A determinação de antioxidantes foi realizada pelo método de inibição do radical ABTS•+, em que a atividade antioxidante da amostra irá causar a descoloração do ABTS•+ e essa redução será medida em uma absorbância de 734 nm (RE et al., 1999).

O método teve início na preparação da solução de estoque de ABTS 7mM e na solução de persulfato de potássio 140mM. O radical ABTS•+ foi preparado com 5mL da solução estoque de ABTS e 88 µL de persulfato de potássio, e deixado sob ausência de luz e em temperatura ambiente durante 16 horas. Em seguida, esse radical foi diluído com álcool etílico até obter uma absorbância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 nm.

Em microplacas foram adicionados 3 µL do extrato e 300 µL do radical ABTS•+ diluído. A placa foi agitada no espectrofotômetro durante 5 segundos e deixada em repouso durante 6 minutos em temperatura ambiente e na ausência de luz. Após, foi realizada a leitura a 734 nm em espectrofotômetro de placas (Thermo Scientific).

Para leitura de branco foi utilizado 3 µL de álcool etílico, em substituição ao extrato, para ser descontado nos cálculos de concentração das amostras. Os resultados foram

expressos em $\mu\text{g TE mg}^{-1}$ de erva mate (μg de Equivalente de Trolox® por mg de erva mate).

A atividade antioxidante pela inibição do radical ABTS•+ foi quantificada com base na curva de calibração utilizando solução de Trolox® 4000 μM (5 mg de Trolox® diluído em metanol completado para 5 mL). As concentrações utilizadas nos pontos da curva foram 0, 60, 100, 200, 400, 600, 800 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Trolox® diluídos em etanol.

2.7. DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS

Para determinação de flavonoides totais em cada extrato foi realizada a análise seguindo a metodologia descrita na Figura 4 (ZHISHEN; MENGCHENG; JIANMING, 1999).

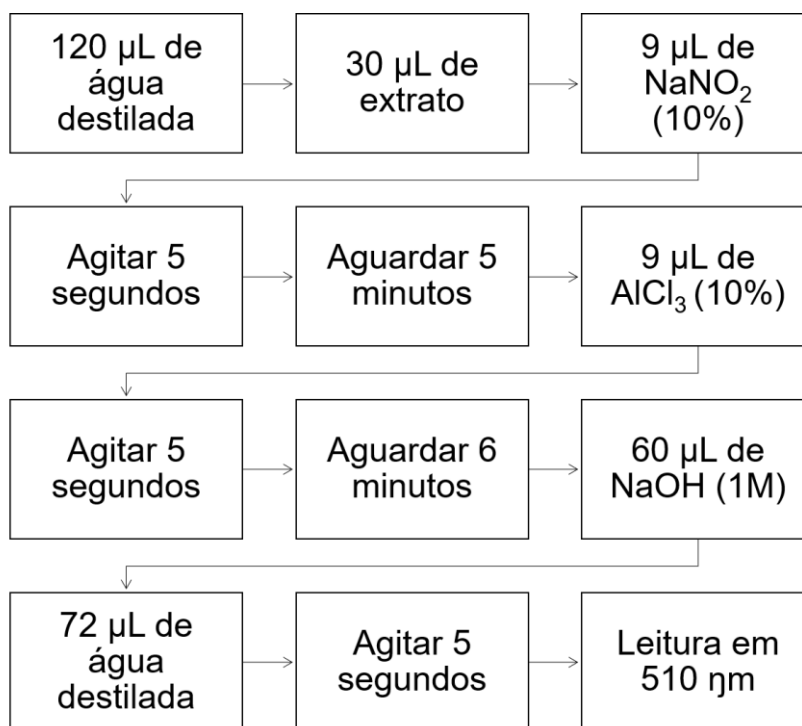


Figura 4. Metodologia para determinação de flavonoides totais.

A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Thermo Scientific) a 510 nm. Para a amostra branco foi adicionado 30 μL de metanol ao invés da amostra/extrato. Uma curva padrão foi elaborada com solução padrão de Catequina (200 $\mu\text{g/mL}$), nas concentrações de 10, 25, 50, 75, 100, 125 e 150 mg ECA mL^{-1} (mg Equivalente de Catequina por mL). Os resultados foram expressos em mg ECA 100 g^{-1} de erva mate.

2.8. CINÉTICA DE EXTRAÇÃO

Misturas de 2 g de erva mate e 20 mL de solvente foram preparadas em Erlenmeyers conduzidas nas seguintes condições de operação: Temperatura de 60 °C, granulometria de 60 Mesh, concentração de solvente de 75% e velocidade de agitação de 180 rpm. As amostras foram coletadas sob o tempo após o período de 1, 5, 10, 30, 60, 180, 300 e 420 minutos. Em cada ponto coletado, o extrato foi separado das partículas de erva mate por meio de centrifugação, e em seguida foi realizada análises de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante pelo método da captura do radical ABTS•+. Um modelo cinético não linear de primeira ordem (Equação 1) descrito por Weibull e Sueden (1951) foi ajustado aos dados obtidos.

$$C(t) = C_{eq} (1 - e^{-k \cdot t}) \quad (1)$$

Em que:

k: coeficiente de transferência de massa global (min^{-1});

C_{eq} : concentração de equilíbrio do soluto na interface sólido-líquido;

$C(t)$: concentração de soluto no tempo t.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. ENSAIO PRELIMINAR

O ensaio preliminar teve como intuito avaliar diferentes concentrações (0,025; 0,050; 0,100; 0,150; 0,200) de erva mate por grama de solvente, afim de padronizar e otimizar a extração de compostos bioativos desta matéria prima. Na Tabela 3 estão apresentados os resultados referentes a rendimento, extração de compostos fenólicos, teor de flavonoides e capacidade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS•+.

Tabela 3. Resultados dos ensaios preliminares em diferentes concentrações de erva mate por grama de solvente.

Ensaio	Rendimento do extrato (m/m)	Compostos Fenólicos (mg EAG 100 g ⁻¹)	Flavonoides (mg ECA 100 g ⁻¹)	ABTS (μmol TE mg ⁻¹)
P1	18,4 ± 6,2 ^d	2089 ± 355 ^c	6022 ± 1572 ^d	52 ± 4 ^c
P2	25,7 ± 5,6 ^c	7395 ± 301 ^a	12811 ± 1017 ^c	139 ± 16 ^b
P3	54,4 ± 3,7 ^b	7137 ± 323 ^a	60669 ± 1220 ^a	164 ± 11 ^a
P4	63,3 ± 6,8 ^a	4397 ± 169 ^b	44073 ± 3360 ^b	138 ± 7 ^b

*P1: 0,5 gramas de erva mate; P2: 1,0 grama de erva mate; P3: 2,0 gramas de erva mate; P4: 3,0 gramas de erva mate.

**Médias com letras diferentes numa mesma coluna indicam amostras que diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, de acordo com a ANOVA e o teste de Tukey.

O ensaio P5 (4 gramas de erva mate) resultou em uma mistura pastosa e de difícil manipulação, não sendo possível realizar a separação fisicamente das partículas sólidas de erva mate do extrato líquido por meio de centrifugação.

De acordo com a Tabela 3, observa-se que o ensaio P3 rendeu 16% a menos de extrato que o ensaio P4. Porém, o mesmo ensaio P3 rendeu 53 e 66% a mais que os ensaios P2 e P1, respectivamente. Com esses dados foi possível observar que com o aumento da massa de partículas de erva mate, maior foi o rendimento de extrato final. No entanto, a partir de 3 gramas de partículas de erva mate, a quantidade de solvente (20 gramas) pode ter sido insuficiente para homogeneização e formação de extrato líquido.

A extração de compostos fenólicos para os ensaios P3 e P2 foi estatisticamente igual ($p \leq 0,05$), e renderam 38 e 71% a mais que os ensaios P4 e P1, respectivamente (Tabela 3). Esses resultados mostram que a utilização de líquido iônico para a extração de compostos fenólicos obtém resultados superiores quando comparados a solventes orgânicos, devida à maior penetração do líquido iônico na rede de ligações de hidrogênio entre as cadeias de erva mate o que permite a dissolução mais rápida dos compostos fenólicos presentes no vegetal (OGEDA; PETRI, 2010). Chaicouski et al. (2014) realizou a extração de compostos fenólicos em erva mate utilizando álcool etílico 70% como solvente,

e obteve resultados abaixo dos encontrados neste trabalho. Turkmen et al. (2006) trabalhou com extração de compostos fenólicos da erva mate utilizando solventes comumente utilizados, como acetona e álcool etílico, o líquido iônico dimetilformamida. Seus resultados indicaram que o líquido iônico favoreceu a extração dos compostos fenólicos e sua eficiência foi superior aos demais solventes utilizados.

O ensaio P3 obteve resultados superior que os demais ensaios para análise de flavonóides e ABTS (Tabela 3). Para flavonóides, o ensaio P3 extraiu 27, 79 e 90% a mais que os ensaios P4, P2 e P1, respectivamente. Para capacidade antioxidante pela captura do radical ABTS, o ensaio P3 extraiu 16% a mais que os ensaios P2 e P4, que são estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$), e 68% a mais que o ensaio P1. Kungen et al. (2018) realizou a extração de compostos da erva mate utilizando etanol como solvente, e os valores encontrados para ABTS foram inferiores aos encontrados neste trabalho, mostrando a eficiência da extração com líquido iônico.

Estes resultados evidenciam que a erva mate apresenta altas concentrações de ácidos clorogênicos e de flavonoides, que podem ser extraídos durante o contato com um solvente (BASTOS; TORRES, 2003; CANTERLE, 2005). De acordo com Barboza (2006) os flavonoides constituem 20% a 30% da composição dos compostos fenólicos da erva mate, são solúveis em água, incolores e conferem o sabor adstringente à bebidas como chimarrão. A alta concentração de flavonoides confere excelentes características químicas à erva mate.

De forma geral, pela Tabela 3, observa-se que o ensaio P3 (2 gramas de erva mate) foi o que obteve melhor desempenho no ensaio preliminar, pois apesar de seu rendimento ser abaixo do ensaio P4 a quantidade de compostos fenólicos, flavonóides e ABTS foi superior aos demais ensaios, sendo o ensaio P3 escolhido para realização dos extratos posteriores.

3.2. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

A segunda etapa deste trabalho consistiu em realizar um DCCR afim de verificar a influência da temperatura, granulometria das partículas de erva mate, concentração de solvente e velocidade de agitação na extração dos compostos bioativos presentes na erva mate utilizando o líquido iônico 2-hidroxietanolamina (2-HEAA) como solvente. Os resultados do planejamento experimental estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Delineamento experimental composto central rotacional (DCCR): volume de extrato, concentração de compostos fenólicos, concentração de flavonoides e atividade antioxidante realizada pela captura do radical ABTS.

Ensaio	Volume de Extrato (mL)	Compostos Fenólicos (mg EAG 100 g⁻¹)	Flavonoides (mg ECA 100 g⁻¹)	ABTS (µg TE mg⁻¹)
1	11,9	2048,9	15051	21,8
2	10,5	4392,9	18448	17,5
3	12,3	1340,3	10334	9,0
4	10,7	4674,7	16768	33,1
5	9,5	3733,3	48721	150,7
6	10,3	4930,2	51728	94,0
7	10,2	3518,0	50389	85,8
8	10,3	4553,1	57045	86,7
9	11,2	3740,5	9004	33,4
10	10,8	4008,8	28029	56,6
11	12,0	2450,7	10397	16,8
12	11,5	5089,7	21148	22,5
13	10,4	5744,8	53679	157,1
14	10,3	6314,4	52962	127,3
15	10,4	7030,4	42044	223,0
16	10,4	11198,2	64213	236,2
17	11,0	6470,0	26407	36,2
18	7,8	4790,4	32781	31,4
19	11,2	5823,4	43626	53,1
20	11,4	6186,0	42569	51,1
21	13,7	1880,7	10657	6,7
22	9,4	10129,2	63303	135,3
23	10,3	5816,9	32596	55,0
24	10,2	11280,2	25599	124,8
25	10,3	8032,4	32437	62,5
26	13,8	7327,1	34261	98,8
27	9,9	7538,1	32250	71,8

A partir da Tabela 4 pode-se verificar que o volume dos extratos para os diferentes ensaios não obteve grande diferença. Estes resultados estão de acordo com outros trabalhos que mostraram que as variações no teor de compostos fenólicos e flavonoides em folhas de erva mate depende de condições operacionais (GRUJIC et al., 2012)

Os ensaios 18 e 22 obtiveram os volumes de extratos mais baixos, isso provavelmente aconteceu pois o ensaio 18 foi o de maior temperatura (80°C) e pode ter ocorrido evaporação de água resultando em perda do volume final. Já no ensaio 22 o volume pode ser resultado da alta viscosidade do extrato pois o solvente para esse ensaio foi 100% líquido iônico, portanto a viscosidade do líquido afetou no processo de separação e resultou em menor volume final do extrato.

3.2.1. Compostos Fenólicos

Na Figura 5 observa-se os principais efeitos que contribuíram de forma significativa para a extração de compostos fenólicos da erva mate por meio do diagrama de Pareto.

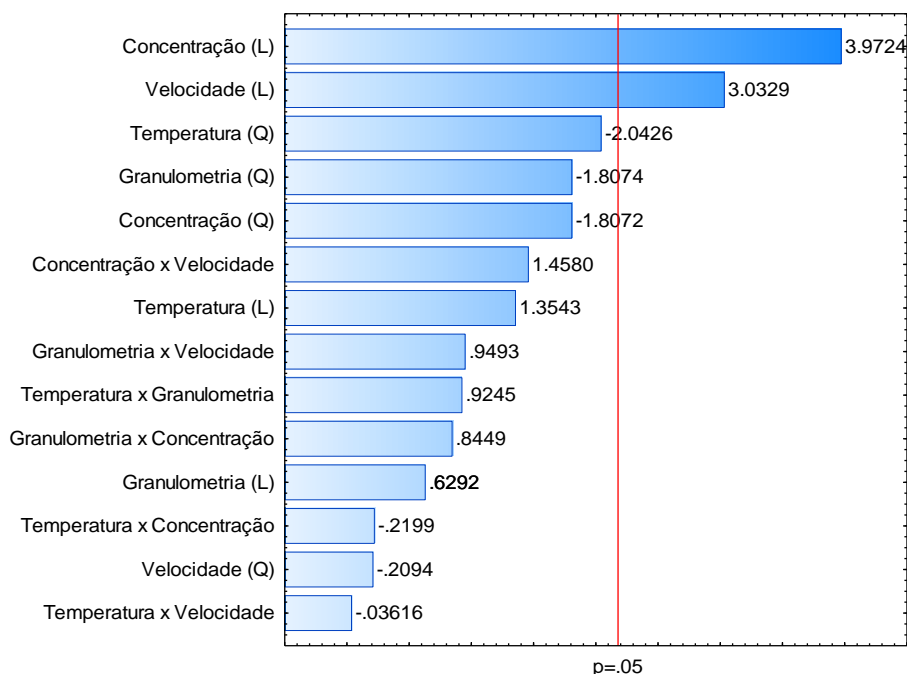


Figura 5. Diagrama de Pareto dos efeitos do planejamento para a resposta de compostos fenólicos em função da temperatura, da granulometria, da concentração do solvente e da velocidade de agitação.

A partir do diagrama de Pareto (Figura 5) foi possível observar que os termos de Concentração e Velocidade lineares (Concentração (L) e Velocidade (L)) foram significativas para o intervalo de confiança de 95%, sendo que ambas influenciaram de maneira positiva a extração de compostos fenólicos. As outras variáveis não se mostraram significativas ao nível de significância de 5%.

Por meio da análise de variância (ANOVA), comparando o valor do F calculado (F_{calc}) com o F tabelado (F_{tab}) é possível afirmar se o modelo proposto é válido e que os parâmetros da equação se ajustam aos dados experimentais. A Tabela 5 apresenta os resultados da ANOVA para a extração de compostos fenólicos da erva mate.

Tabela 5. ANOVA para a resposta de compostos fenólicos extraídos pelo líquido iônico.

	Soma do Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado	R ²
Regressão	133040698	14	9502907	2,812	0,7664
Erro	40547751	12	3378979		
Total	173588449	26			

$F_{\text{tab}} (14;12;0,05) = 2,637$

Pela Tabela 5, a análise de variância apresentou coeficiente de determinação de 0,7664 e $F_{\text{calc}} = 2,812$. O resultado do teste F ($F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$) indicou que o modelo quadrático é válido estatisticamente ao nível de significância de 5% e o valor de R² indicou que a curva descreveu a relação entre as variáveis independentes e a variável dependente, uma vez que 76,64% da variação total em torno da média são explicadas pela regressão. O modelo validado estatisticamente é apresentado na equação abaixo.

$$CF = 7633 + 508T - 813T^2 + 236G - 719G^2 + 1491C - 719C^2 + 1138V - 83V^2 + 425T.G - 101T.C - 17T.V + 388G.C + 436G.V + 670C.V$$

Em que:

CF: concentração de compostos fenólicos (mg AGE 100 g⁻¹);

T: nível codificado da temperatura;

G: nível codificado da granulometria;

C: nível codificado da concentração de solvente;

V: nível codificado da velocidade de agitação.

Além do modelo matemático, foi possível estabelecer superfícies de resposta (Figura 6) e de contorno (Figura 7), que auxiliaram na avaliação dos efeitos das variáveis dependentes (granulometria, temperatura, concentração do solvente e velocidade de agitação) na extração de compostos fenólicos, indicando as condições ótimas.

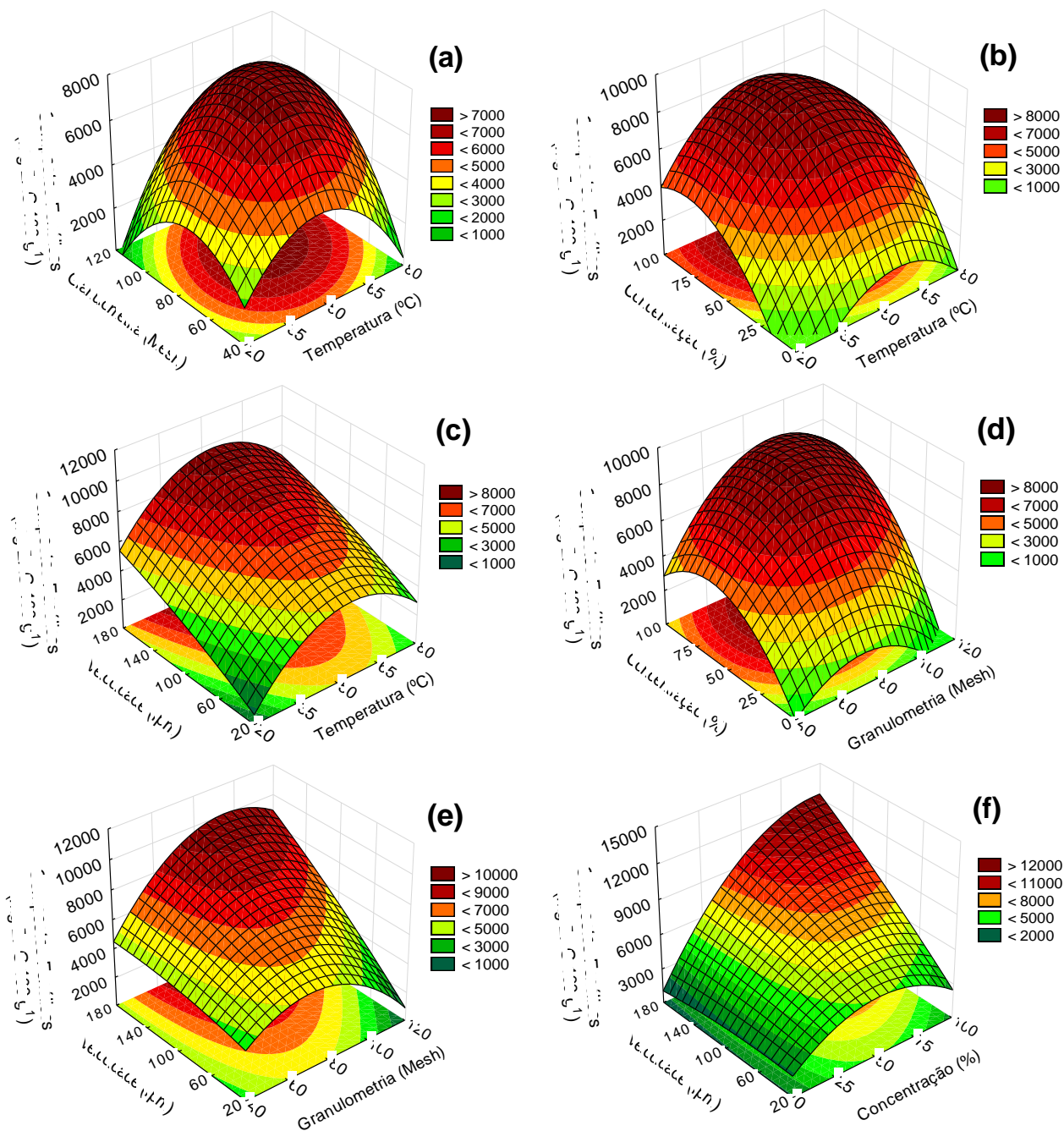


Figura 6. Superfícies de resposta para o efeito da temperatura e granulometria (a), temperatura e concentração (b), temperatura e velocidade (c), granulometria e concentração (d), granulometria e velocidade (e) e concentração e velocidade (f) sobre a extração de compostos fenólicos (mg EAG 100 g⁻¹).

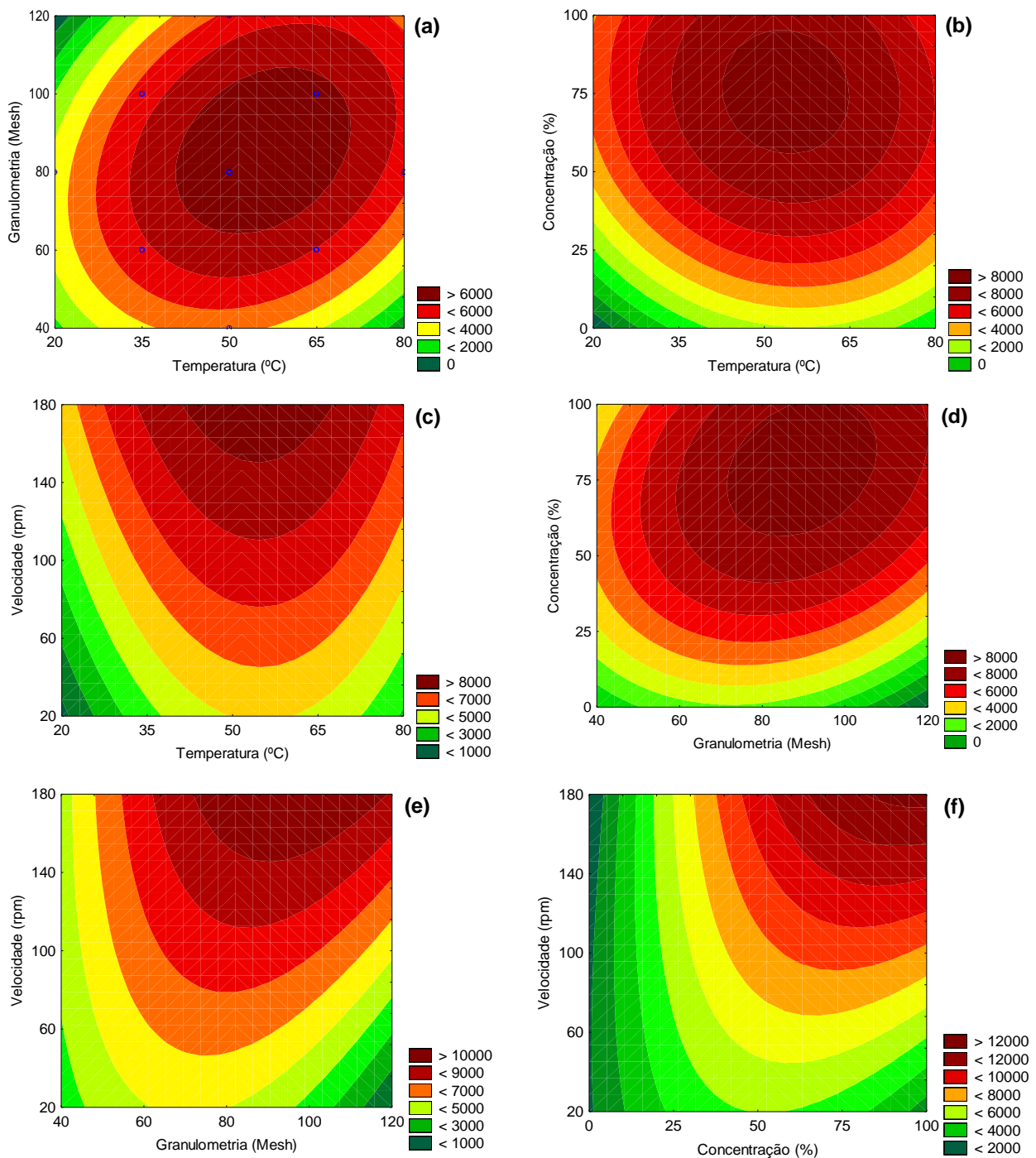


Figura 7. Curvas de contorno para o efeito da temperatura e granulometria (a), temperatura e concentração (b), temperatura e velocidade (c), granulometria e concentração (d), granulometria e velocidade (e) e concentração e velocidade (f) sobre a extração de compostos fenólicos (mg EAG 100 g⁻¹).

Como pode ser observado nas Figuras 6 e 7 (a; b; c), houve uma tendência de aumento na extração de compostos fenólicos presente na erva mate em uma faixa de temperatura entre 45 a 65 °C. Alguns compostos fenólicos, presentes nos vegetais, são sensíveis a altas temperaturas de extração podendo ocorrer perdas de compostos químicos

e por este motivo a temperatura ótima de extração não foi a superior de 80°C (BERTÉ; KLEBER, 2011). As temperaturas abaixo de 40°C foram insuficientes para auxiliar na interação solvente-soluto, pois em altas temperaturas o solvente fica mais líquido, auxiliando na agitação e interação.

Pelas Figuras 6 e 7 (a; d; e), a faixa de granulometria que mais extraiu compostos fenólicos foi entre 70 e 120 Mesh, indicando que quanto menor a granulometria maior será a extração de compostos fenólicos. Segundo Voigt (2005), quanto menor a granulometria da erva mate, maior a superfície de contato para interação com o solvente, o que favorece uma maior extração. Porém como pode ser analisado pelos resultados encontrados, se a granulometria for muito pequena (120 Mesh) a interação com o solvente pode ser reduzida e desfavorecer a extração dos compostos bioativos.

Analisando as Figuras 6 e 7 (b; d; f) temos que a extração de compostos fenólicos foi maior em concentrações entre 75 e 100% indicando que a presença do líquido iônico acetato de 2-hidroxietanolamina afetou diretamente na extração dos compostos fenólicos. A concentração de 100% não foi ótima em todos os casos, pois a viscosidade do líquido iônico afetava na agitação durante a extração, o que reduzia o contato do solvente com o soluto e também prejudicou na separação do extrato líquido e das partículas de erva mate, pois quanto maior a viscosidade maior a dificuldade da centrifugação.

A velocidade de agitação influenciou positivamente na extração de compostos fenólicos, como pode ser observado nas Figuras 6 e 7 (c; e; f), pois quanto maior a velocidade de agitação, mais compostos fenólicos foram extraídos das amostras. Os valores ótimos para velocidade de agitação foram acima de 180 rpm com tendência a continuar aumentando a extração, indicando que valores acima dos utilizados no estudo podem auxiliar em uma melhor extração quando associado a outros parâmetros ótimos. Em baixas velocidades de agitação, mesmo que associadas com os outros parâmetros, a extração de compostos fenólicos foi baixa.

3.2.2. Capacidade antioxidantes pelo método de captura do radical ABTS•+

Na Figura 8 é ilustrado o diagrama de Pareto, onde é possível observar que a Concentração (L) linear de solvente e a Velocidade (V) linear foram os efeitos significativos para o nível de significância de 95% para a extração de antioxidantes pelo método ABTS.

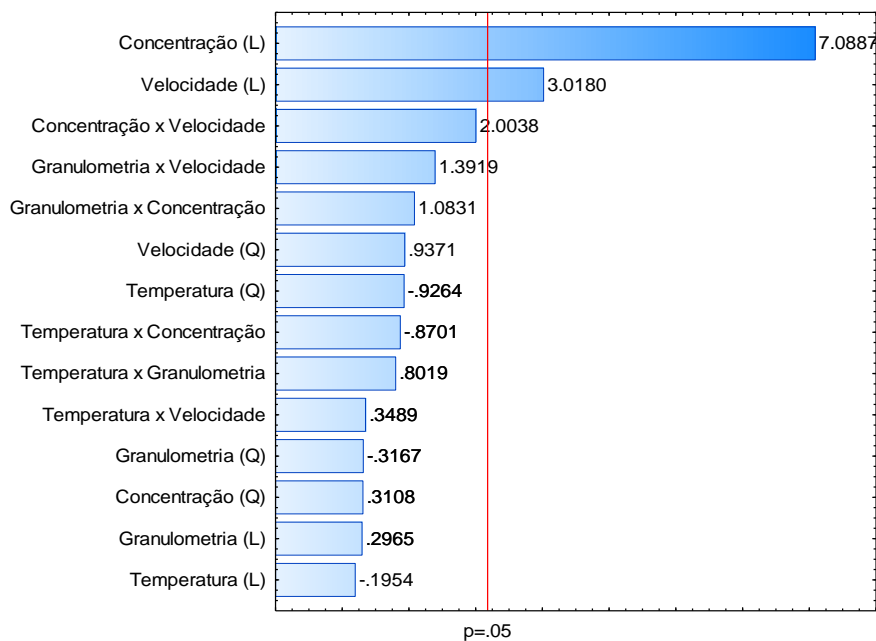


Figura 8. Diagrama de Pareto dos efeitos do planejamento para a resposta da atividade antioxidante por meio da captura do radical ABTS em função da temperatura, da granulometria, da concentração do solvente e da velocidade de agitação.

A Tabela 6 apresenta a análise de variância da regressão do modelo representativo para a extração de antioxidantes pelo método ABTS.

Tabela 6. ANOVA para a resposta da atividade antioxidante determinada pela captura do radical ABTS no extrato de erva mate.

	Soma do Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado	R ²
Regressão	85836,2	14	6131,16	5,074	0,8555
Erro	14501,2	12	1208,44		
Total	100337,4	26			

$$F_{\text{tab}} (14;12;0,05) = 2,637$$

Pela Tabela 6, a análise de variância apresentou coeficiente de determinação de 0,8555 e $F_{\text{calc}} = 5,074$. O resultado do teste F ($F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$) indicou que o modelo quadrático é válido estatisticamente ao nível de significância de 5% e o valor do coeficiente de

determinação indicou que a curva descreveu a relação entre as variáveis independentes e a variável dependente, uma vez que 85,55% da variação total em torno da média são explicadas pela regressão. O modelo matemático validado estatisticamente é apresentado na equação abaixo.

$$AA = 77,7 - 1,4T - 7,0T^2 + 2,1G - 2,4G^2 + 50,3C + 2,3C^2 + 21,4V + 7,1V^2 + 7,0T.G - 7,6T.C + 3,0T.V + 9,4G.C + 12,1G.V + 17,4C.V$$

Em que:

AA: atividade antioxidante ($\mu\text{g TE mg}^{-1}$);

T: nível codificado da temperatura;

G: nível codificado da granulometria;

C: nível codificado da concentração de solvente;

V: nível codificado da velocidade de agitação.

Foram plotados os gráficos de superfície, representados na Figura 9, e as curvas de contorno, Figura 10, afim de verificar a influência das variáveis no processo de extração da atividade antioxidante presente na erva mate.

Nas Figuras 9 e 10 (a; d; e) pode-se observar que a concentração de ABTS foi superior para valores de granulometria de 90 a 120 Mesh, indicando que quanto menor o tamanho da partícula de erva mate maior será a interação do solvente com o soluto, resultando em uma alta extração de compostos antioxidantes.

A concentração de solvente que resultou em uma tendência a aumentar a extração da atividade antioxidante foi de 75 a 100% do líquido iônico acetato de 2-hidroxietanolamina, confirmando a melhor extração de compostos com a utilização do líquido iônico como solvente.

A faixa de temperatura para a otimização da extração foi semelhante a de compostos fenólicos, de 40 a 65°C, indicando que os antioxidantes também podem sofrer degradações em altas temperaturas. A velocidade de agitação afetou de maneira positiva na extração dos compostos, como pode ser observado nas Figuras 9 e 10 (c; e; f), pois no valor máximo

da agitação a extração continuou em uma tendência a aumentar, logo em valores de agitação superiores a 180 rpm, a concentração de ABTS pode continuar a aumentar.

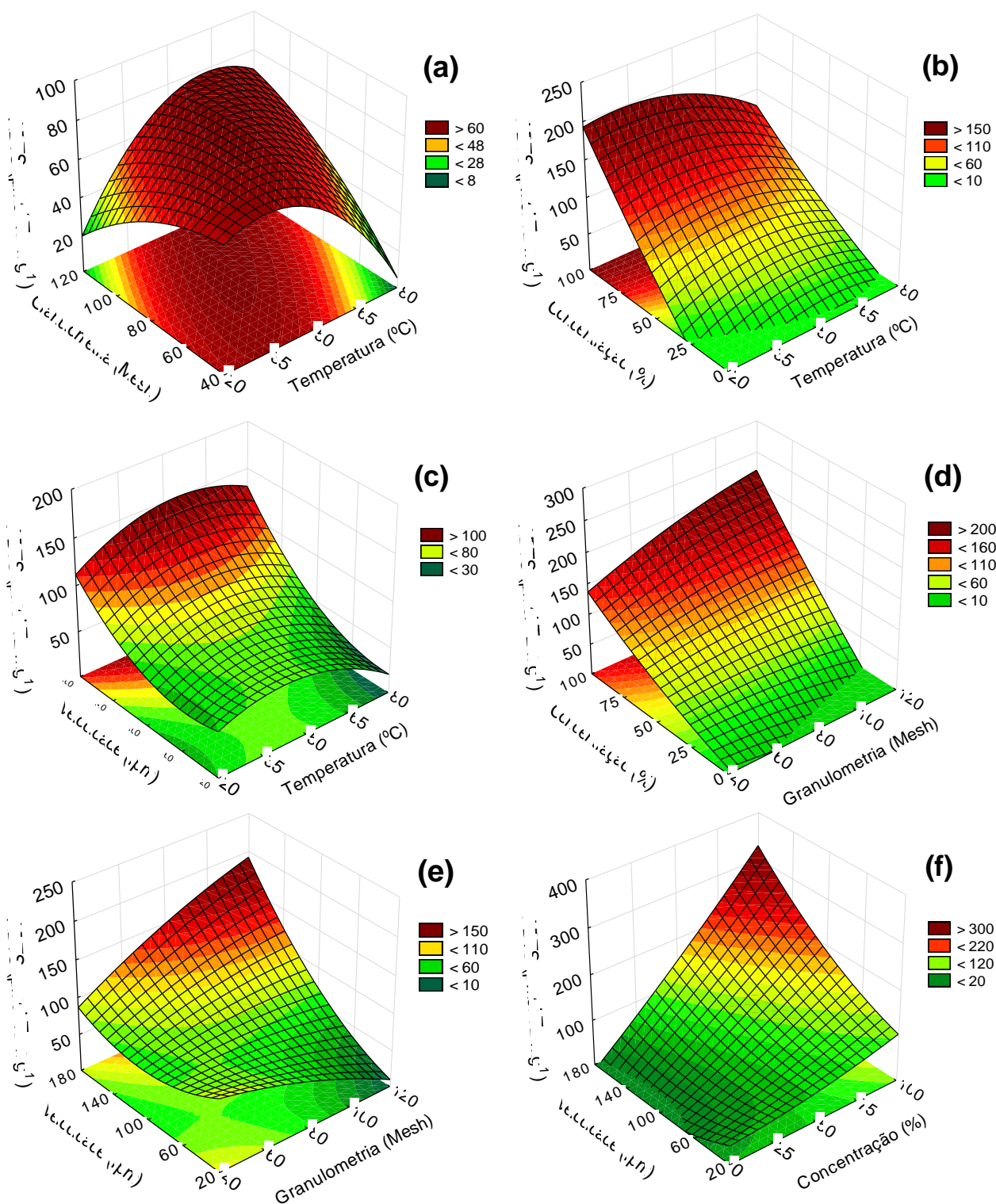


Figura 9. Superfícies de resposta para o efeito da temperatura e granulometria (a), temperatura e concentração (b), temperatura e velocidade (c), granulometria e concentração (d), granulometria e velocidade (e) e concentração e velocidade (f) sobre a atividade antioxidante determinada pela captura do radical ABTS ($\mu\text{g TE mg}^{-1}$).

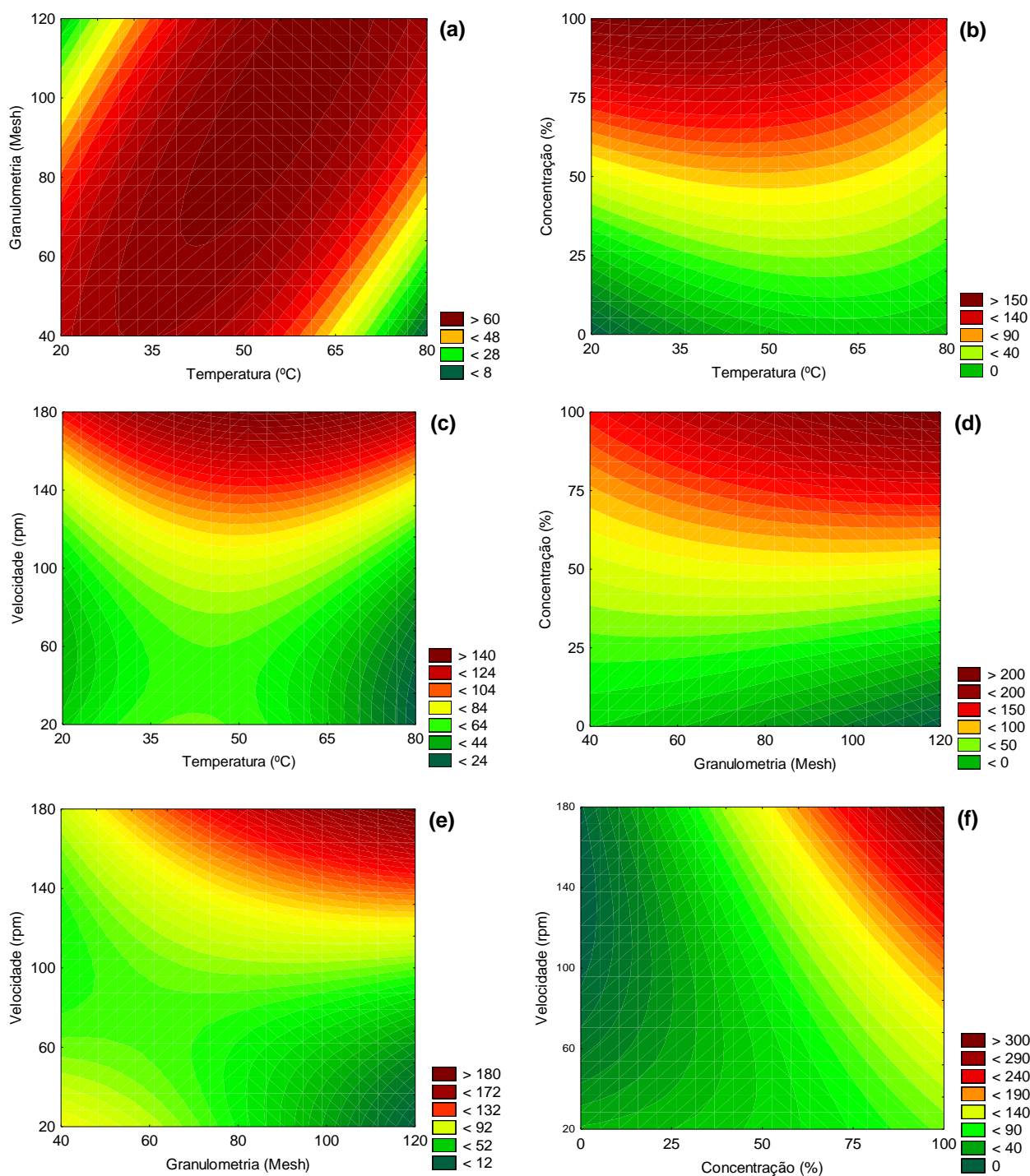


Figura 10. Curvas de contorno para o efeito da temperatura e granulometria (a), temperatura e concentração (b), temperatura e velocidade (c), granulometria e concentração (d), granulometria e velocidade (e) e concentração e velocidade (f) sobre a atividade antioxidante determinada pela captura do radical ABTS ($\mu\text{g TE mg}^{-1}$).

3.2.3. Flavonoides

Os principais efeitos que contribuíram de forma significativa para a extração de flavonoides podem ser visualizados no diagrama de Pareto, representado pela Figura 11.

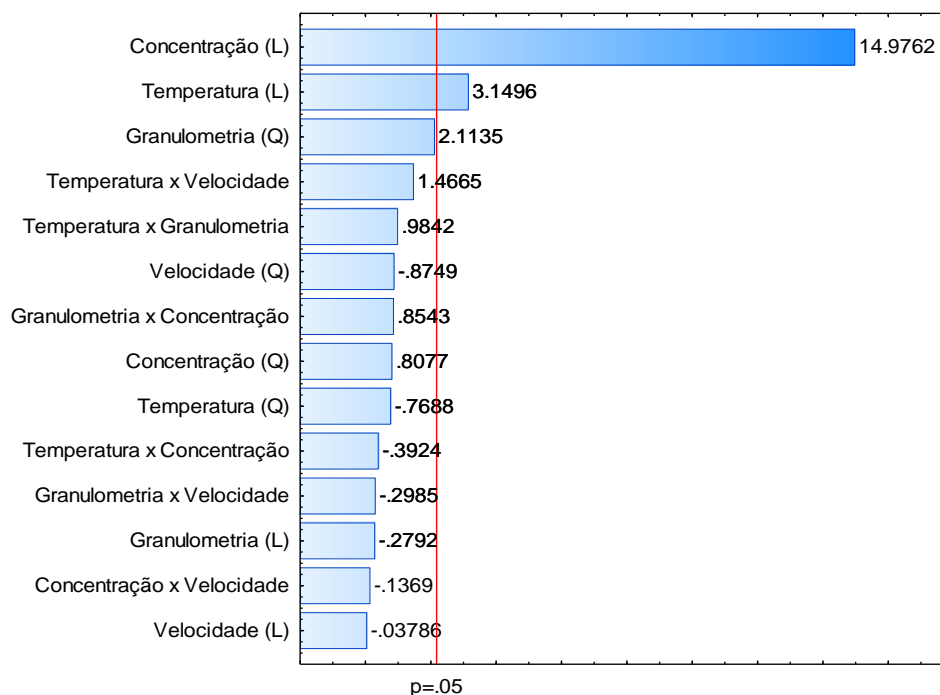


Figura 11. Diagrama de Pareto dos efeitos do planejamento para a resposta de flavonoides em função da temperatura, da granulometria, da concentração do solvente e da velocidade de agitação.

Nota-se que as variáveis Concentração (L) e Temperatura (L) no nível de 95% de significância influenciou de forma proporcional à resposta de extração de flavonoides, sendo que as demais variáveis não se mostraram significativas.

A Tabela 7 apresenta os resultados da ANOVA para a extração de flavonoides da erva mate.

Tabela 7. ANOVA para a resposta de flavonoides extraídos pelo líquido iônico.

	Soma do Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado	R ²
Regressão	7248800238	14	517771446	17,693	0,9538
Erro	351170400,4	12	29264200		
Total	7599970638	26			

$$F_{\text{tab}} (14;12;0,05) = 2,637$$

Pela Tabela 7, a análise de variância apresentou coeficiente de determinação de 0,9538 e $F_{\text{calc}} = 17,693$. O resultado do teste F ($F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$) indicou que o modelo quadrático é válido estatisticamente ao nível de significância de 5% e o valor do coeficiente de determinação indicou que a curva descreveu a relação entre as variáveis independentes e

a variável dependente, uma vez que 95,38% da variação total em torno da média são explicadas pela regressão. O modelo matemático validado estatisticamente é apresentado na equação abaixo.

$$FL = 32983 + 3478T - 900T^2 - 308G + 2475G^2 + 16537C + 946C^2 - 42V - 1025V^2 + 133IT.G - 53IT.C + 1983T.V + 1155G.C - 404G.V - 185C.V$$

Em que:

FL: concentração de flavonoides (mg CAE 100 g⁻¹);

T: nível codificado da temperatura;

G: nível codificado da granulometria;

C: nível codificado da concentração de solvente;

V: nível codificado da velocidade de agitação.

Com o intuito de definir as melhores condições de extração para flavonoides presentes na erva mate, foram plotadas superfícies de resposta (Figura 12) para as diferentes variáveis do planejamento e curvas de contorno (Figura 13) para melhor visualização dos parâmetros de extração.

O fator mais significativo na extração de flavonoides foi a concentração de solvente, observado nas Figuras 12 e 13 (b; d; f). Em valores onde a concentração de líquido iônico foi 100% a extração foi máxima, quando comparada a outras concentrações. Isso indica que os flavonoides apresentam alta afinidade com o líquido iônico, o que favorece sua extração.

Os valores de granulometria que otimizam a extração de flavonoides da erva mate são abaixo de 40 Mesh e acima de 100 Mesh. Outro fator que foi de grande importância para a extração dos flavonoides foi a temperatura, pois foi observado que com o aumento da temperatura a tendência foi aumentar a extração dos compostos (Figuras 12 e 13 (a; b; c)).

A faixa ótima foi entre 70 a 80 °C, enquanto para compostos fenólicos e atividade antioxidante a faixa ótima foi entre 40 a 65 °C. Isso pode ser explicado pois os fenólicos são compostos sensíveis em altas temperaturas e os flavonóides são compostos que não se degradam facilmente em altas temperaturas, principalmente a rutina encontrada em grandes quantidades na erva mate (DUTRA et al., 2010).

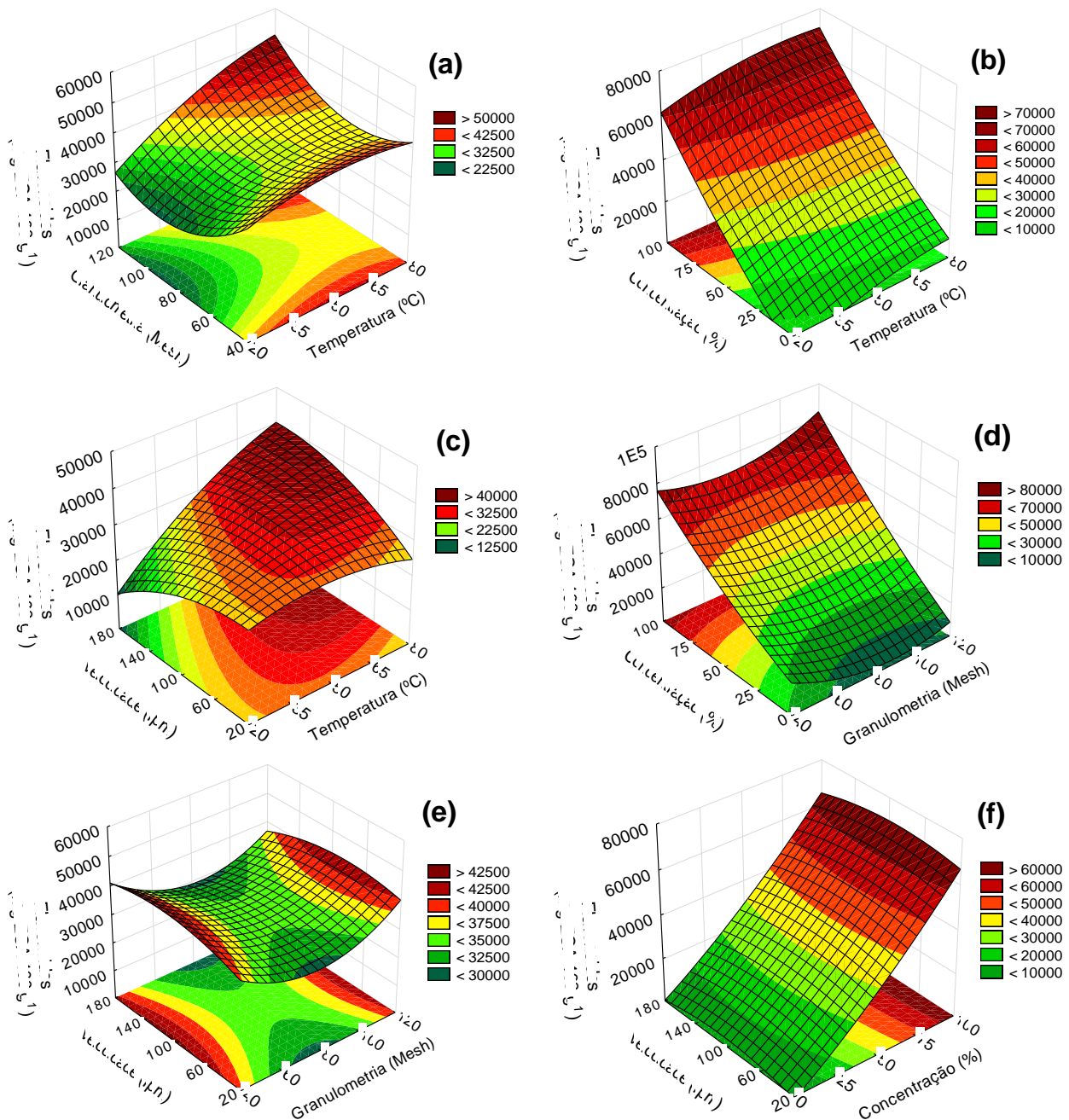


Figura 12. Superfícies de resposta para o efeito da temperatura e granulometria (a), temperatura e concentração (b), temperatura e velocidade (c), granulometria e concentração (d), granulometria e velocidade (e) e concentração e velocidade (f) sobre a extração de flavonoides ($\text{mg ECA } 100 \text{ g}^{-1}$).

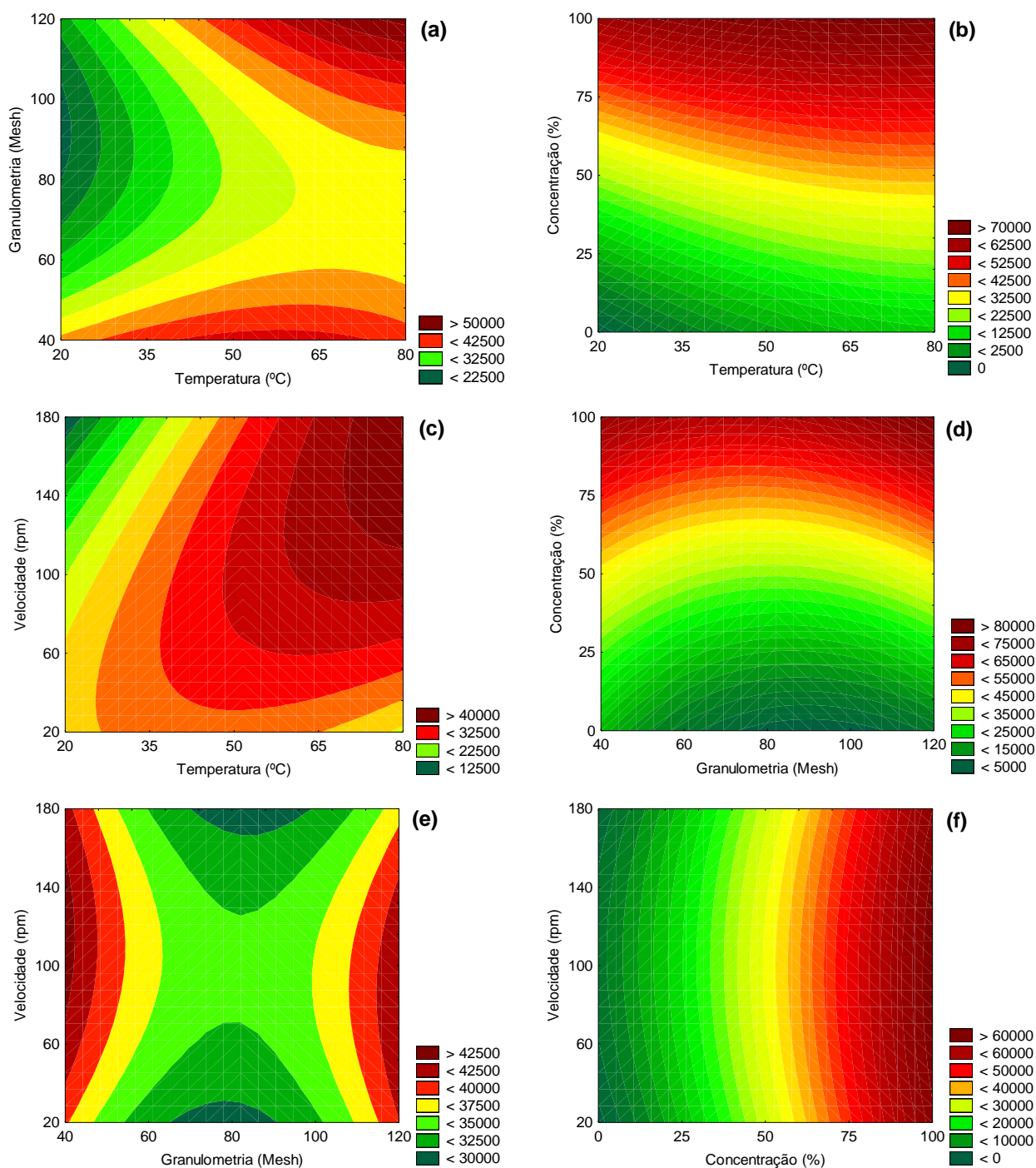


Figura 13. Curvas de contorno para o efeito da temperatura e granulometria (a), temperatura e concentração (b), temperatura e velocidade (c), granulometria e concentração (d), granulometria e velocidade (e) e concentração e velocidade (f) sobre a extração de flavonoides (mg EAG 100 g⁻¹).

3.3. CINÉTICA DE EXTRAÇÃO

O estudo cinético para extração de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante foi realizado a partir das melhores condições operacionais obtidas pelo delineamento experimental. Pelo DCCR, a faixa de temperatura ótima para compostos

fenólicos e atividade antioxidante foi entre 40 a 65 °C e para flavonoides entre 70 a 80 °C. Desta forma, a temperatura foi definida em 60 °C, para não ser tão elevada e degradar os compostos fenólicos e não ser tão baixa e não extrair o máximo de flavonoides.

A granulometria foi definida em 100 Mesh, pois a extração dos três componentes foi ótima nesta granulometria. A velocidade de agitação foi definida em 180 rpm, pois os resultados do DCCR mostraram tendência de maior extração dos componentes para maiores velocidades. Pelo DCCR, foi observado que quanto maior a concentração de solvente, maior a extração dos componentes estudados (faixa entre 75 a 100%). No entanto, como já afirmado, para elevadas concentrações do solvente, a viscosidade do líquido iônico tornava muito difícil a separação física do extrato das partículas de erva mate. Desta forma, a concentração do solvente foi definida em 75%.

Os resultados das curvas cinéticas, assim como o ajuste do modelo matemático não linear de primeira ordem (Eq. 1) aos dados experimentais são ilustrados na Figura 14.

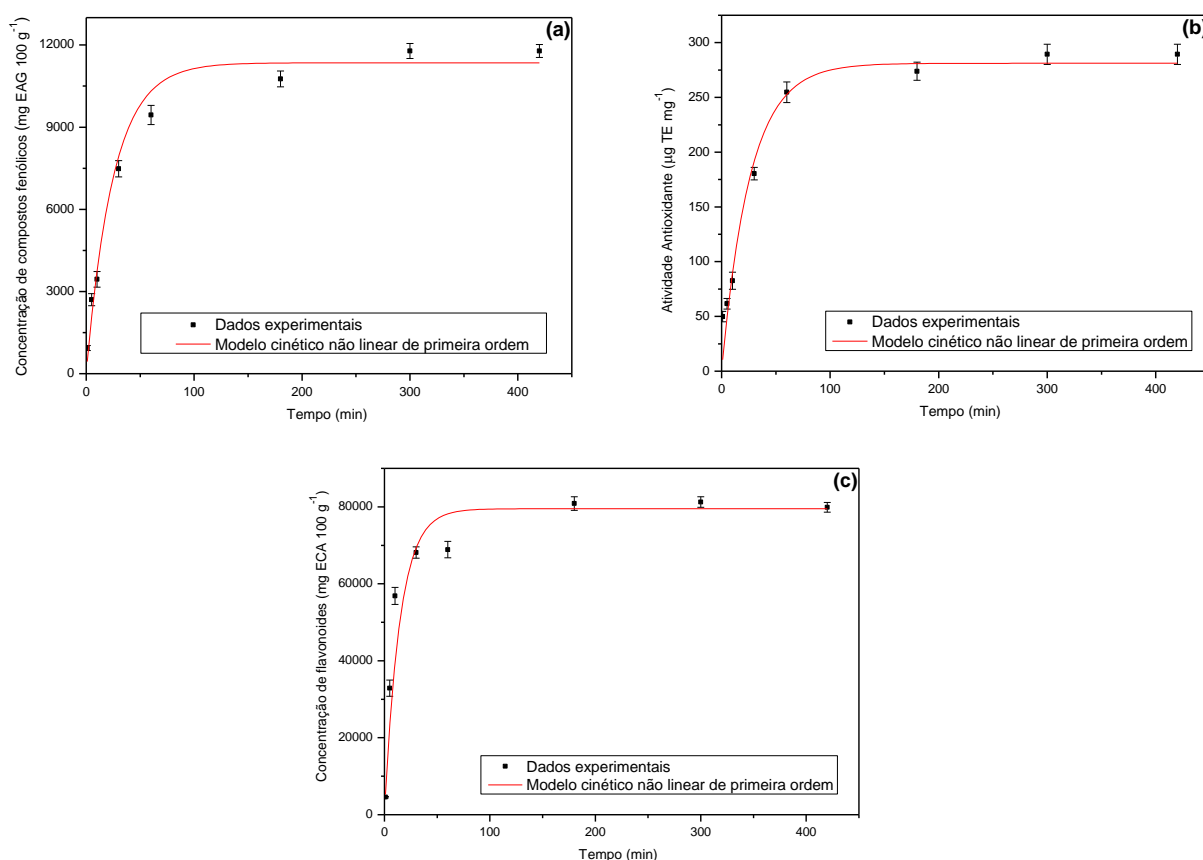


Figura 14. Cinética de extração de compostos fenólicos (a), atividade antioxidante determinada pela captura do radical ABTS (b) e flavonoides (c)

Os resultados referentes aos teores de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante indicam que o rendimento de extração aumenta com o passar do tempo até atingir o equilíbrio. Segundo Pinelo et al. (2008), o processo da cinética de extração pode ser dividido em três fases. Fase I: 40 a 50% dos compostos são extraídos nos primeiros minutos devido a difusão facilitada do solvente pelos poros da matriz sólida; Fase II: velocidade de difusão passa a ser constante, e ocorre liberação dos fenóis com a passagem do solvente nas condições da extração; Fase III: a difusão ocorre lentamente seguindo uma curva exponencial até atingir o rendimento máximo, momento em que as concentrações do sólido e do solvente se igualam, uma vez que o gradiente de concentração é a força motriz durante a transferência de massa.

De acordo com Amendola et al. (2010), a concentração de equilíbrio da extração ocorre independente das condições de extração. Pela Figura 14, observa-se que o ponto máximo para extração de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante ocorreu em aproximadamente 200 minutos. Pelos dados obtidos também foi possível observar que no período de 30 minutos foi obtida a extração de aproximadamente 88% do teor máximo extraído de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante.

Na Tabela 8 são apresentados os parâmetros obtidos pelo ajuste do modelo não linear de primeira ordem aos dados cinéticos de extração.

Pela Tabela 8, observa-se que os dados ajustaram-se ao modelo cinético não linear de primeira ordem, com valores do coeficiente de determinação variando aproximadamente entre 0,94 a 0,99. Os teores máximos de extração obtidos para compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante estão de acordo com os resultados obtidos pelo delineamento experimental. Em relação ao coeficiente de transferência de massa global, observa-se que o valor obtido para a extração de flavonoides foi superior ao obtido para compostos fenólicos e atividade antioxidante. Este resultado evidencia a maior afinidade do líquido iônico em extrair flavonoides.

Tabela 8. Parâmetros obtidos pelo modelo cinético não linear de primeira ordem.

Cinética de Extração	Parâmetros cinéticos		
	k (min ⁻¹)	C _{eq} (mg EAG 100 g ⁻¹)	R ²
Compostos fenólicos	0,0399	11351	0,9835
	k (min ⁻¹)	C _{eq} (µg TE g ⁻¹)	R ²
Atividade antioxidante	0,03816	281	0,9423
	k (min ⁻¹)	C _{eq} (mg ECA 100 g ⁻¹)	R ²
Flavonoides	0,06841	79500	0,9872

4. CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos no ensaio preliminar foi possível determinar que a melhor concentração de erva mate por solvente para otimizar a extração foi de 2 gramas de erva mate em 20 gramas de solvente.

A partir do planejamento experimental, os resultados obtidos para compostos fenólicos e ABTS foram similares em que a temperatura ótima para extração foi na faixa de 40 a 65 °C, granulometria de 70 a 120 Mesh, concentração de 75 a 100% de líquido iônico e velocidade de agitação acima de 160 rpm. A diferença entre os resultados de flavonoides foi principalmente na temperatura, pois os flavonoides são estáveis em altas temperaturas, já os compostos fenólicos e atividade antioxidante se degradam em altas temperaturas. Com isso os parâmetros ótimos foram definidos com base nos resultados obtidos de modo a não degradar nenhum composto. Os parâmetros ótimos foram: Temperatura de 60°C, granulometria de 100 Mesh, concentração de 75% e velocidade de agitação de 180 rpm.

A cinética de extração apresentou o tempo de 180 minutos como o momento em que a extração foi estabilizada. No entanto, com 30 minutos já se obtém 88% da concentração máxima dos componentes. O modelo cinético não linear de primeira ordem ajustou-se aos dados experimentais de extração, e o coeficiente de transferência de massa estimado para flavonoides foi maior que fenólicos e atividade antioxidante indicando a maior afinidade do líquido iônico em extrair flavonoides.

5. REFERÊNCIAS

- ALVES, A. M. **Caracterização Física E Química, Compostos Bioativos E Capacidade Antioxidante De Frutas Nativas Do Cerrado**. p. 0–64, 2013.
- AMEMDOLA, D.; DE FEVERI, D. M.; SPIGNO, G. Grape marc phenolic: extraction kinetics, quality and stability of extracts. **Journal of Food Engineering**, v. 97, p. 384-392, 2010.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- BARBOZA, L. M. V. Desenvolvimento de bebida à base de erva-mate (*Ilex*. paraguariensis Saint Hilaire) adicionada de fibra alimentar.. 236 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)- Setor de Tecnologia, Universidade. Federal do Paraná. Curitiba, 2006.
- BASTOS, M. H. D; TORRES. S. F. A. E. Bebidas a base de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e saúde publica. *Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = *J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP. v.26, p. 77-89, dez., 2003.
- BERTÉ, S. A Kleber A. **Tecnologia da erva-mate solúvel**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Paraná. 2011.
- BUCIĆ-KOJIĆ, A; PLANINIĆ, M; TOMAS, S; BILIĆ, M; VELIĆ, D. Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 1, p. 236-242, 2007.
- CANTERLE, L, P. Erva-mate e atividade antioxidante. Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Santa Maria, 2005.
- CHAICOUSKI, A. et al. Determinação da quantidade de compostos fenólicos totais presentes em extratos líquidos e seco de erva mate (*Ilex paraguariensis*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 16, p. 33–41, 2014.
- DUTRA, F. L. G.; HOFFMANN-RIBANI, R.; RIBANI, M. Determination of phenolic compounds by isocratic high performance liquid chromatographic method during storage of yerba-mate. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 119–123, 2010.
- ESMELINDRO, M. C. et al. Caracterização físico-química da erva mate: influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 199–204, 2002.
- GRUJIC, N.; LEPOJEVIC, Z.; SRDJENOVIC, B.; VLADIC, J.; SUDJI, J. Effects of different extraction methods and conditions on the phenolic composition of mate tea extracts. *Molecules*, v.17, p.2518-2528, 2012.
- OGEDA, T. L; PETRI, D. F. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química nova**, v. 33, n. 7, p. 1549-1558, 2010.
- PAULA, A. et al. Efeito da erva mate (*Ilex paraguariensis* A . St . -Hill) no comportamento e fisiologia de ratos Wistar. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 4, p. 514–519, 2011.

PINELO, M.; ZORNOZA, B.; MEYER, A. S. Selective release of phenols from apple skin: Mass transfer kinetics during solvent and enzyme-assisted extraction. **Separation and Purification Technology**, v. 63, n. 3, p. 620-627, 2008.

PRADO, A. G. S. Química verde, os desafios da química do novo milênio. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 738–744, 2003.

PRZYGODDA, F. et al. Efeito da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae) sobre o colesterol, triacilglicérides e glucose em ratos Wistar com dieta alimentar suplementada com lipídeos e glicídeos. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 6, p. 956–961, 2010.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.

RIBEIRO, B. D. et al. Ionic liquids as additives for extraction of saponins and polyphenols from mate (*Ilex paraguariensis*) and tea (*Camellia sinensis*). **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 52, n. 34, p. 12146–12153, 2013.

SANTOS, R. F. DOS. Estudo da corrosividade de líquidos iônicos base 2-hidroxietilamina em aço carbono AISI 1004. **Tese Mestrado**, p. 97, 2014.

TURKMEN, N.; SARI, F.; VELIOGLU, Y. S. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. **Food Chemistry**, v. 99, n. 4, p. 835–841, 2006.

VASCONCELOS, S. N. S.; PIZZUTI, L. Síntese do líquido iônico hexafluorofosfato de 1-butyl-3-metilimidazólio [bmim][pf 6]. **Revista Cecilians Dez**, v. 4, n. 2, p. 90–93, 2012.

VOIGT, R. **Pharmazeutische Technologie**. 9.ed., Stuttgart: Deutsch Apotheker, 2005.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. **The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals** **Food Chemistry**, 1999.

WEIBULL, W.; SWEDEN, S. A statistical distribution function of wide applicability. **Journal of Applied Mechanics**, v. 19, p. 293-297, 1951.

INSTRUÇÃO AOS AUTORES

A Revista Brazilian Journal of Food Technology (BJFT) é uma publicação eletrônica de fluxo contínuo, com acesso livre, cujo propósito é publicar resultados de pesquisas originais e informações tecnológicas que contribuam para a disseminação de novos conhecimentos relacionados à produção e avaliação de alimentos nas áreas de ciência, tecnologia, engenharia de alimentos e nutrição (não clínica) no Brasil. São aceitos manuscritos de abrangência nacional ou internacional, que apresentem novos conceitos ou abordagens experimentais e que não sejam apenas repositórios de dados científicos.

A revista publica em português, inglês e espanhol artigos inéditos e autênticos, notas científicas, artigos de revisão, relato de caso, resenha crítica de livro, comentário de artigo e comunicação rápida. A submissão do manuscrito pressupõe que o mesmo conteúdo não tenha sido publicado nem esteja em análise para publicação em qualquer outro veículo de divulgação. O conteúdo do artigo será de inteira responsabilidade do(s) autor(es), que serão obrigados a fornecer retrações ou correções de erros, se necessário.

Trabalhos que contemplam especificamente metodologias analíticas são aceitos para publicação desde que elas sejam inovadoras ou proporcionem aperfeiçoamentos significativos de métodos já existentes. Fica a critério dos editores, dependendo da relevância do tema, a aceitação de trabalhos que tenham resultados da análise de produtos industrializados sem informações que permitam reproduzir a sua fabricação. Não são aceitos para publicação trabalhos que visam essencialmente à propaganda comercial.

O manuscrito submetido à publicação no BJFT é avaliado previamente por um Editor e, dependendo da qualidade geral do trabalho, nesta etapa pode ser rejeitado ou retornar aos autores para adequações ou seguir para revisão por dois Revisores ad hoc. Todo o processo de revisão por pares é anônimo (double blind review). Os pareceres dos revisores são enviados para o Editor Associado, que emite um parecer para qualificar a pertinência de publicação do manuscrito. Caso haja discordância entre os pareceristas, outros Revisores poderão ser consultados. Quando há possibilidade de publicação, os pareceres dos revisores e do Editor Associado são encaminhados aos Autores, para que verifiquem as recomendações e procedam às modificações pertinentes. As modificações feitas pelos autores devem ser destacadas no texto em cor diferente. Não há limite para o número de revisões, sendo este um processo interativo cuja duração depende da agilidade dos Revisores e do Editor em emitir pareceres e dos Autores em retornar o artigo revisado. No

final do processo de avaliação, cabe ao Editor Chefe a decisão final de aprovar ou rejeitar a publicação do manuscrito, subsidiado pela recomendação do Editor Associado e pelos pareceres dos revisores. Este sistema de avaliação por pares é o mecanismo de auto regulação adotado pela Revista para atestar a credibilidade das pesquisas a serem publicadas.

Quando o trabalho apresentar resultados de pesquisa envolvendo a participação de seres humanos, em conformidade a Resolução nº466/12 do Conselho Nacional de Saúde, informar o número do processo de aprovação do projeto por um Comitê de Ética em Pesquisa.

Os artigos são publicados em ordem de aprovação, na versão on-line da Revista <http://bjft.ital.sp.gov.br> e na biblioteca eletrônica SciELO - Scientific Electronic Library Online.

O BJFT recebe apoio do Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, vinculado à Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo.

AUTORIA

São considerados autores aqueles com efetiva contribuição intelectual e científica para a realização do trabalho, participando de sua concepção, execução, análise, interpretação ou redação dos resultados, aprovando seu conteúdo final. Havendo interesse dos autores, os demais colaboradores, como, por exemplo, fornecedores de insumos e amostras, aqueles que ajudaram a obter recursos e infraestrutura e patrocinadores, devem ser citados na seção de agradecimentos. O autor de correspondência é responsável pelo trabalho perante a Revista e, deve informar a contribuição de cada coautor para o desenvolvimento do estudo apresentado.

DOCUMENTAÇÃO EXIGIDA

Termo de Responsabilidade

Assinando o Termo de Responsabilidade, os autores assumem o compromisso de:

- Que o manuscrito enviado para publicação na revista Brazilian Journal of Food Technology é um trabalho original e que não foi publicado nem está sendo considerado para publicação em outra revista, em parte ou na íntegra, independentemente do idioma, quer seja no formato impresso ou no eletrônico;
- Ter participado suficientemente do trabalho para tornar pública sua responsabilidade pelo seu conteúdo;
- Ter revisado e aprovado a forma final do manuscrito, na sua totalidade;

- Que cumpre com os critérios de autoria da revista Brazilian Journal of Food Technology e que não foram omitidos nomes de outros indivíduos qualificados para serem autores do artigo;

- Que, se solicitado, concorda em fornecer ou cooperar na obtenção de dados e de informações relacionadas à precisão e à integridade de qualquer parte do trabalho;

- Que está ciente de que o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, é licenciado sob uma Licença Creative Commons BY - Atribuição 4.0 Não Adaptada (CC BY 4.0);

- Que concorda com a indicação do Autor para Correspondência.

NORMAS PARA SUBMISSÃO

1. CONTEÚDO E CLASSIFICAÇÃO DOS DOCUMENTOS PARA PUBLICAÇÃO

Serão aceitos manuscritos de abrangência nacional e/ou internacional que apresentem novos conceitos ou abordagens experimentais e que não sejam apenas repositórios de dados científicos. Trabalhos que contemplam especificamente metodologias analíticas serão aceitos para publicação desde que elas sejam inovadoras ou proporcionem aperfeiçoamentos significativos de métodos já existentes. Ficará a critério dos editores, a depender da relevância do tema, a aceitação de trabalhos que tenham resultados da análise de produtos industrializados sem informações que permitam reproduzir a sua obtenção. Não serão aceitos para publicação trabalhos que visam essencialmente à propaganda comercial.

Os documentos publicados no BJFT classificam-se nas seguintes categorias:

1.1. ARTIGOS CIENTÍFICOS ORIGINAIS: São trabalhos que relatam a metodologia, os resultados finais e as conclusões de pesquisas originais, estruturados e documentados de modo que possam ser reproduzidos com margens de erro iguais ou inferiores aos limites indicados pelo autor. O trabalho não pode ter sido previamente publicado, exceto de forma preliminar como nota científica ou resumo de congresso.

1.2. ARTIGOS DE REVISÃO: São extratos inter-relacionados da literatura disponível sobre um tema que se enquadre no escopo da revista e que contenham conclusões sobre o conhecimento disponível. Preferencialmente devem ser baseados em literatura publicada nos últimos cinco anos.

1.3 NOTAS CIENTÍFICAS: São relatos parciais de pesquisas originais que, devido à sua relevância, justificam uma publicação antecipada. Devem seguir o mesmo padrão do Artigo Científico, podendo ser, posteriormente, publicadas de forma completa como Artigo Científico.

1.4. RELATOS DE CASO: São descrições de casos, cujos resultados são tecnicamente relevantes.

1.5. RESENHAS CRÍTICA DE LIVRO: Trata-se de uma análise de um ou mais livros impressos ou online, que apresenta resumo e análise crítica do conteúdo.

1.6. COMENTÁRIOS DE ARTIGOS: Um documento cujo objeto ou foco é outro artigo ou outros artigos.

1.7. COMUNICAÇÕES RÁPIDAS: Atualização de uma pesquisa ou outros itens noticiosos.

Os manuscritos podem ser apresentados em português, inglês ou espanhol.

2. ESTILO E FORMATAÇÃO

2.1. FORMATAÇÃO.

- Editor de Textos Microsoft WORD 2010 ou superior, não protegido.
- Fonte Arial 12, espaçamento duplo entre linhas. Não formate o texto em múltiplas colunas.

- Página formato A4 (210 x 297 mm), margens de 2 cm.
- Todas as linhas e páginas do manuscrito deverão ser numeradas sequencialmente.
- A itemização de seções e subseções não deve exceder 3 níveis.
- O número de páginas, incluindo Figuras e Tabelas no texto, não deverá ser superior a 20 para Artigos Científicos Originais e de Revisão e a 9 para os demais tipos de documento. Sugerimos que a apresentação e discussão dos resultados seja a mais concisa possível.

- Use frases curtas.

2.2. UNIDADES DE MEDIDAS: Deve ser utilizado o Sistema Internacional de Unidades (SI) e a temperatura deve ser expressa em graus Celsius.

2.3. TABELAS E FIGURAS: Devem ser numeradas em algarismos arábicos na ordem em que são mencionadas no texto. Seus títulos devem estar imediatamente acima das Tabelas e imediatamente abaixo das Figuras e não devem conter unidades. As unidades devem estar, entre parênteses, dentro das Tabelas e nas Figuras. Fotografias devem ser designadas como Figuras. A localização das Tabelas e Figuras no texto deve estar identificada.

As TABELAS devem ser editadas utilizando os recursos próprios do editor de textos WORD para este fim, usando apenas linhas horizontais. Devem ser autoexplicativas e de fácil leitura e compreensão. Notas de rodapé devem ser indicadas por letras minúsculas sobrescritas. Demarcar primeiramente as colunas e depois as linhas e seguir esta mesma sequência para as notas de rodapé.

As FIGURAS devem ser utilizadas, de preferência, para destacar os resultados mais expressivos. Não devem repetir informações contidas em Tabelas. Devem ser apresentadas de forma a permitir uma clara visualização e interpretação do seu conteúdo. As legendas devem ser curtas, auto-explicativas e sem bordas. As Figuras (gráficos e fotos) devem ser coloridas e em alta definição (300 dpi), para que sejam facilmente interpretadas. As fotos devem estar na forma de arquivo JPG ou TIF. As Figuras devem ser enviadas (File upload) em arquivos individuais, separadas do texto principal, na submissão do manuscrito. Estes arquivos individuais devem ser nomeados de acordo com o número da figura. Ex.: Fig1.jpg, Fig2.tif etc.

2.4. EQUAÇÕES: As equações devem aparecer em formato editável e apenas no texto, ou seja, não devem ser apresentadas como figura nem devem ser enviadas em arquivo separado.

Recomendamos o uso do MathType ou Editor de Equações, tipo MS Word, para apresentação de equações no texto. Não misture as ferramentas MathType e Editor de Equações na mesma equação, nem tampouco misture estes recursos com inserir símbolos. Também não use MathType ou Editor de Equações para apresentar no texto do manuscrito variáveis simples (ex., $a=b^2+c^2$), letras gregas e símbolos (ex., α , $-\infty$, Δ) ou operações matemáticas (ex., x , \pm , \geq). Na edição do texto do manuscrito, sempre que possível, use a ferramenta “inserir símbolos”.

Devem ser citadas no texto e numeradas em ordem sequencial e crescente, em algarismos arábicos entre parênteses, próximo à margem direita.

2.5. ABREVIATURAS e SIGLAS: As abreviaturas e siglas, quando estritamente necessárias, devem ser definidas na primeira vez em que forem mencionadas. Não use abreviaturas e siglas não padronizadas, a menos que apareçam mais de 3 vezes no texto. As abreviaturas e siglas não devem aparecer no Título, nem, se possível, no Resumo e Palavras-chave.

2.6 NOMENCALTURA:

Reagentes e ingredientes: preferencialmente use o nome internacional não-proprietário (INN), ou seja, o nome genérico oficial.

Nomes de espécies: utilize o nome completo do gênero e espécie, em itálico, no título (se for o caso) e no manuscrito, na primeira menção. Posteriormente, a primeira letra do gênero seguida do nome completo da espécie pode ser usado.

3. ESTRUTURA DO ARTIGO.

PÁGINA DE ROSTO: título, título abreviado, autores/filiação (deverá ser submetido como Title Page).

3.1. TÍTULO: Deve ser claro, preciso, conciso e identificar o tópico principal da pesquisa. Usar palavras úteis para indexação e recuperação do trabalho. Evitar nomes comerciais e abreviaturas. Se for necessário usar números, esses e suas unidades devem vir por extenso. Gênero e espécie devem ser escritos por extenso e itálico; a primeira letra em maiúscula para o gênero e em minúscula para a espécie. Incluir nomes de cidades ou países apenas quando os resultados não puderem ser generalizados para outros locais. Deve ser escrito em caixa alta e não exceder 150 caracteres, incluindo espaços. O manuscrito em português ou espanhol deve também apresentar o Título em inglês e o manuscrito em inglês deve incluir também o Título em português.

3.2. TÍTULO ABREVIADO (RUNNING HEAD): Deve ser escrito em caixa alta e não exceder 50 caracteres, incluindo espaços.

3.3. AUTORES/FILIAÇÃO: São considerados autores aqueles com efetiva contribuição intelectual e científica para a realização do trabalho, participando de sua concepção, execução, análise, interpretação ou redação dos resultados, aprovando seu conteúdo final. Havendo interesse dos autores, os demais colaboradores, como, por exemplo, fornecedores de insumos e amostras, aqueles que ajudaram a obter recursos e infraestrutura e patrocinadores, devem ser citados na seção de agradecimentos. O autor de correspondência é responsável pelo trabalho perante a Revista e, deve informar a contribuição de cada coautor para o desenvolvimento do estudo apresentado.

Devem ser fornecidos os nomes completos e por extenso dos autores, seguidos de sua filiação completa (Instituição/Departamento, cidade, estado, país) e endereço eletrônico (e-mail). O autor para correspondência deverá ter seu nome indicado e apresentar endereço completo para postagem.

Para o autor de correspondência:

Nome completo (*autor correspondência)

Instituição/Departamento (Nome completo da Instituição de filiação quando foi realizada a pesquisa)

Endereço postal completo (Logradouro/CEP / Cidade / Estado / País)

Telefone

e-mail (não utilizar os provedores hotmail e uol no cadastro do autor de correspondência, pois o sistema de submissão online ScholarOne, utilizado pela revista, não confirma a solicitação de envio de e-mail feita por estes provedores)

Para co-autores:

Nome completo

Instituição/Departamento (Nome completo da Instituição de filiação quando foi realizada a pesquisa)

Endereço (Cidade / Estado / País)

e-mail

DOCUMENTO PRINCIPAL: título, resumo, palavras-chave, texto do artigo com a identificação de figuras e tabelas

Artigo científico original, nota científica e relato de caso deverão conter os seguintes tópicos: Título; Resumo; Palavras-chave; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusões; Agradecimentos (se houver) e Referências.

Artigo de revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título; Resumo; Palavras-chave; Introdução e Desenvolvimento (livre); Conclusão; Agradecimentos (se houver) e Referências.

A estruturação dos demais tipos de documentos é livre.

3.4. RESUMO: Deve incluir objetivo(s) ou hipótese da pesquisa, material e métodos (somente informação essencial para a compreensão de como os resultados foram obtidos), resultados mais significativos e conclusões do trabalho, contendo no máximo 2.000 caracteres (incluindo espaços). Não usar abreviaturas e siglas. Os artigos em português ou espanhol devem também apresentar Resumo em inglês e os artigos em inglês devem incluir também o Resumo em português.

3.5. PALAVRAS-CHAVE: Devem ser incluídas no mínimo 6, logo após o Resumo e Abstract, até no máximo 10 palavras indicativas do conteúdo do trabalho, que possibilitem a sua recuperação em buscas bibliográficas. Não utilizar termos que apareçam no título. Usar palavras que permitam a recuperação do artigo em buscas abrangentes. Evitar palavras no plural e termos compostos (com "e" e "de"), bem como abreviaturas, com exceção daquelas estabelecidas e conhecidas na área. Os artigos em português ou espanhol devem também apresentar as Palavras-chave em inglês e os artigos em inglês devem incluir também as Palavras-chave em português..

3.6. INTRODUÇÃO: Deve reunir informações para uma definição clara da problemática estudada, fazendo referências à bibliografia atual, preferencialmente de periódicos indexados, e da hipótese/objetivo do trabalho, de maneira que permita situar o leitor e justificar a publicação do trabalho. Visando à valorização da Revista, sugere-se, sempre que pertinente, a citação de artigos publicados no BJFT.

3.7. MATERIAL E MÉTODOS: Deve possibilitar a reprodução do trabalho realizado. A metodologia empregada deve ser descrita em detalhes apenas quando se tratar de desenvolvimento ou modificação de método. Neste último caso, deve destacar a

modificação efetuada. Todos os métodos devem ser bibliograficamente referenciados ou descritos.

3.8. RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os resultados devem ser apresentados e interpretados dando ênfase aos pontos importantes que deverão ser discutidos com base nos conhecimentos atuais. Deve-se evitar a duplicidade de apresentação de resultados em Tabelas e Figuras. Sempre que possível, os resultados devem ser analisados estatisticamente.

3.9. CONCLUSÕES: Neste item deve ser apresentada a essência da discussão dos resultados, com a qual se comprova, ou não, a hipótese do trabalho ou se ressalta a importância ou contribuição dos resultados para o avanço do conhecimento. Este item não deve ser confundido com o Resumo, nem ser um resumo da Discussão.

3.10. AGRADECIMENTOS: Deve ser feita a identificação completa da agência de fomento, constando seu nome, país e nº do projeto. Outros agradecimentos a pessoas ou instituições são opcionais.

3.11. REFERÊNCIAS.

3.11.1 Citações no Texto

Citação direta: Transcrição textual de parte da obra do autor consultado (Especificar no texto a(s) página(s), volume(s), tomo(s) ou seção(ões) da fonte consultada).

Citação indireta: Texto baseado na obra do autor consultado (Indicar apenas a data).

Nas citações bibliográficas no texto (baseadas na norma ABNT NBR 10520: 2002), as chamadas pelo sobrenome do autor, pela instituição responsável ou título incluído na sentença devem ser em letras maiúsculas e minúsculas e, quando estiverem entre parênteses, devem ser em letras maiúsculas (caixa alta). Exemplos:

Guerrero e Alzamorra (1998) obtiveram bom ajuste do modelo.

Esses resultados estão de acordo com os verificados para outros produtos (CAMARGO; RASERAS, 2006; LEE; STORN, 2001).

As citações de diversos documentos de um mesmo autor, publicados num mesmo ano, são distinguidas pelo acréscimo de letras minúsculas, em ordem alfabética, após a data e sem espaçamento, conforme a lista de referências. Exemplos:

De acordo com Reeside (1927a)

(REESIDE, 1927b)

Para citação de citação deve-se utilizar a expressão “apud” (citado por, conforme, segundo) após o ano de publicação da referência, seguida da indicação da fonte secundária efetivamente consultada. Exemplos:

“[...] o viés organicista da burocracia estatal e o antiliberalismo da cultura política de 1937, preservado de modo encapuçado na Carta de 1946.” (VIANNA, 1986, p. 172 apud EGATTO, 1995).

Sobre esse assunto, são esclarecedoras as palavras de Silva (1986 apud CARNEIRO, 1981).

3.11.2 Referência.

A lista de referências deve seguir o estabelecido pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), Norma: NBR 6023, de agosto de 2002, na seguinte forma:

- As referências são alinhadas somente à margem esquerda do texto e de forma a se identificar individualmente cada documento, em espaço simples e separadas entre si por espaço duplo.

- O recurso tipográfico (negrito, grifo ou itálico) utilizado para destacar o elemento título deve ser uniforme em todas as referências de um mesmo documento.

- Citar o nome de todos os autores nas Referências, ou seja, não deve ser usada a expressão “et al.”

- Monografias (livros, manuais e folhetos como um todo)

Sobrenome e iniciais dos prenomes do autor (nomes de mais de 1 autor devem ser separados por ponto e vírgula). Título (em negrito): subtítulo. Edição (n. ed.), Local de Publicação: Editora, data de publicação. Número de páginas. Exemplos:

Impressos:

EVANGELISTA, J. Tecnologia de alimentos. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 680 p.

HOROWITZ, W. (Ed.). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18th ed., 3rd rev. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2010. 1 v.

PERFIL da administração pública paulista. 6. ed. São Paulo: FUNDAP, 1994. 317 p.

Eletrônicos:

SZEMPLENSKI, T. Aseptic packaging in the United State. 2008. Disponível em: <<http://www.packstrat.com>>. Acesso em: 19 maio 2008.

- Parte de monografias (Capítulos de livros, volume, fragmento, parte)

AUTOR DO CAPÍTULO. Título do capítulo. In: AUTOR DO LIVRO. Título do livro (em negrito). Edição. Local de publicação (cidade): Editora, data. Capítulo, página inicial-final da parte. Exemplo:

Impressos:

ZIEGLER, G. Product design and shelf-life issues: oil migration and fat bloom. In: TALBOT, G. (Ed.). Science and technology of enrobed and filled chocolate, confectionery and bakery products. Boca Raton: CRC Press, 2009. Chapter 10, p. 185-210.

Eletrônicos:

TAMPAS de elastômeros: testes funcionais. In: AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopéia Brasileira. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. cap. 6, p. 294-299. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/volume1%2020110216.pdf>.

Acesso em: 22 mar. 2012.

- Teses, dissertações e trabalhos de conclusão de curso

AUTOR. Título (em negrito). Ano de defesa. Número de folhas. Categoria (Grau e área) - Unidade da Instituição, Instituição, Cidade, Data de publicação. Exemplo:

CARDOSO, C. F. Avaliação do sistema asséptico para leite longa vida em embalagem flexível institucional do tipo Bag-in-box. 2011. 160 f. Dissertação (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

- Publicação periódica (Artigos de periódicos)

AUTOR DO ARTIGO. Título do artigo. Título do Periódico (por extenso e negrito), Local de publicação (cidade), volume, número, páginas inicial-final, ano de publicação. Exemplo:

Impressos:

KOMITOPOULOU, Evangelia; GIBBS, Paul A. The use of food preservatives and preservation. International Food Hygiene, East Yorkshire, v. 22, n. 3, p. 23-25, 2011.

Eletrônicos:

INVIOLÁVEL e renovável. EmbalagemMarca, São Paulo, v. 14, n. 162, p. 26, fev. 2013. Disponível em: <<http://issuu.com/embalagemmarca/docs/em162/26>>. Acesso em: 20 maio 2014.

- Trabalho apresentado em evento

AUTOR. Título do trabalho apresentado, seguido da expressão In: NOME DO EVENTO, numeração do evento (se houver), ano e local (cidade) de realização. Título do documento (anais, proceedings, atas, tópico temático, etc.), local: editora, data de publicação. Página inicial e final da parte referenciada. Exemplos:

Impressos:

ALMEIDA, G. C. Seleção classificação e embalagem de olerícolas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-COLHEITA, 2., 2007, Viçosa. Anais... Viçosa: UFV, 2007. p. 73-78.

IUFOST INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CHEMICAL CHANGES DURING FOOD PROCESSING, 1984, Valencia. Proceedings... Valencia: Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, 1984.

Eletrônicos:

MARTARELLO, V. D. Balanço hídrico e consumo de água de laranjeiras. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 5., 2011, Campinas. Anais... Campinas: IAC; ITAL, 2011. 1 CD-ROM.

LUIZ, M. R.; AMORIN, J. A. N.; OLIVEIRA, R. Bomba de calor para desumificação e aquecimento do ar de secagem. In: CONGRESSO IBEROAMERICANO DE ENGENHARIA MECÂNICA, 8., 2007, Cusco. Anais eletrônicos... Cusco: PUCP, 2007. Disponível em: <<http://congreso.pucp.edu.pe/cibim8/pdf/06/06-23.pdf>>. Acesso em: 28 out. 2011.

- Normas técnicas

ÓRGÃO NORMALIZADOR. Número da norma (em negrito): título da norma. Local (cidade), ano. nº de páginas. Exemplos:

ASTM INTERNATIONAL. D 5047-09: standard specification for polyethylene terephthalate film and sheeting. Philadelphia, 2009. 3 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 15963: alumínio e suas ligas - chapa lavrada para piso - requisitos. Rio de Janeiro, 2011. 12 p.

- Legislação (Portarias, decretos, resoluções, leis)

Jurisdição (ou cabeçalho da entidade, no caso de se tratar de normas), título, numeração, data e dados da publicação. Exemplos:

Impressos:

BRASIL. Medida provisória no 1.569-9, de 11 de dezembro de 1997. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 dez. 1997. Seção 1, p. 29514.

Eletrônicos:

COMISSÃO EUROPÉIA. Regulamento (UE) n. 202/2014, de 03 de março de 2014. Altera o Regulamento (UE) n. 10/2011 relativo aos materiais e objetos de matéria plástica destinados a entrar em contacto com os alimentos. Jornal Oficial da União Europeia, Bruxelas, L 62, 04 abr. 2014. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2014:062:0013:0015:PT:PDF>>. Acesso em: 21 mar. 2014

4. PROCESSO DE AVALIAÇÃO.

O manuscrito submetido à publicação no BJFT é avaliado previamente por um Editor e, dependendo da qualidade geral do trabalho, nesta etapa pode ser rejeitado ou retornar

aos autores para adequações ou seguir para revisão por dois Revisores ad hoc. Todo o processo de revisão por pares é anônimo (double blind review). Os pareceres dos revisores são enviados para o Editor Associado, que emite um parecer para qualificar a pertinência de publicação do manuscrito. Caso haja discordância entre os pareceres, outros Revisores poderão ser consultados. Quando há possibilidade de publicação, os pareceres dos revisores e do Editor Associado são encaminhados aos Autores, para que verifiquem as recomendações e procedam às modificações pertinentes. As modificações feitas pelos autores devem ser destacadas no texto em cor diferente. Não há limite para o número de revisões, sendo este um processo interativo cuja duração depende da agilidade dos Revisores e do Editor em emitir pareceres e dos Autores em retornar o artigo revisado. No final do processo de avaliação, cabe ao Editor Chefe a decisão final de aprovar ou rejeitar a publicação do manuscrito, subsidiado pela recomendação do Editor Associado e pelos pareceres dos revisores. Este sistema de avaliação por pares é o mecanismo de auto regulação adotado pela Revista para atestar a credibilidade das pesquisas a serem publicadas.

Quando o trabalho apresentar resultados de pesquisa envolvendo a participação de seres humanos, em conformidade a Resolução nº 466 de 12 de outubro de 2012, publicada em 2013 pelo Conselho Nacional de Saúde, informar o número do processo de aprovação do projeto por um Comitê de Ética em Pesquisa.

A avaliação prévia realizada pelos Editores considera: Atendimento ao escopo e às normas e da revista; Relevância do estudo; Abrangência do enfoque; Adequação e reprodutibilidade da metodologia; Adequação e atualidade das referências bibliográficas e Qualidade da redação.

A avaliação posterior por Revisores e Editores/Conselheiros considera originalidade, qualidade científica, relevância, os aspectos técnicos do manuscrito, incluindo adequação do título e a qualidade do Resumo/Abstract, da Introdução, da Metodologia, da Discussão e das Conclusões e clareza e objetividade do texto.

A submissão do artigo deve ser online, pelo sistema ScholarOne, acessando no link: <https://mc04.manuscriptcentral.com/bjft-scielo>

Caso não seja usuário do ScholarOne, crie uma conta no sistema via Create an Account na tela de Log in. Ao criar a conta, atente para os campos marcados com *req.* pois são obrigatórios. Caso já seja usuário mas esqueceu a senha, utilize o Reset Password na mesma tela.

Caso tenha dúvidas na utilização do sistema use o tutorial (Resources - Help / Site Support) abaixo do Log in. Caso necessite de ajuda use o Help no cabeçalho da página, à extrema direita superior.

Durante a submissão, não usar o botão back do navegador.

Uma carta de apresentação (cover letter) do manuscrito deve ser submetida online via ScholarOne, descrevendo a hipótese/mensagem principal do trabalho, o que apresenta de inédito, a importância da sua contribuição para a área em que se enquadra e sua adequabilidade para a revista Brazilian Journal of Food Technology.

O Termo de Responsabilidade (http://bjft.ital.sp.gov.br/instrucao_autores.php) deve ser submetido online via ScholarOne, juntamente com os demais arquivos, no item File upload, como "Supplemental file NOT for Review". Caso não seja possível reunir as assinaturas de todos os autores em um só Termo, cada autor pode enviar seu Termo de Responsabilidade devidamente preenchido e assinado para a Secretaria da Revista (bjftsec@ital.sp.gov.br). Vale ressaltar que a submissão não será considerada finalizada, caso algum dos autores não envie o Termo de Responsabilidade