

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



Dissertação

**OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS CLOROGÊNICOS DO
COPRODUTO DE *ILEX PARAGUARIENSIS* E INCORPORAÇÃO EM
FIBRAS DE AMIDO DE TRIGO OBTIDAS POR *ELECTROSPINNING***

YASMIN VÖLZ BEZERRA MASSAUT

PELOTAS, 2023

YASMIN VÖLZ BEZERRA MASSAUT

**OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS CLOROGÊNICOS DO COPRODUTO
DE *ILEX PARAGUARIENSIS* E INCORPORAÇÃO EM FIBRAS DE AMIDO DE
TRIGO OBTIDAS POR *ELECTROSPINNING***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Dillenburg Meinhart
Coorientadora: Dra. Helen Cristina dos Santos Hackbart

PELOTAS, 2023

Banca examinadora:

Profa. Dra. Adriana Dillenburg Meinhart (Orientadora)

Dra. Helen Cristina dos Santos Hackbart (Coorientadora)

Prof. Dr. Alexandre Lorini

Profa. Dra. Marjana Radünz

Prof. Dr. Milton de Jesus Filho

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M414o Massaut, Yasmin Völz Bezerra

Otimização da extração de ácidos clorogênicos do coproduto de *Ilex paraguariensis* e incorporação em fibrasde amido de trigo obtidas por *electrospinning* / Yasmin Völz Bezerra Massaut ; Adriana Dillenburg Meinhart, orientadora ; Helen Cristina dos Santos Hackbart, coorientadora. — Pelotas, 2023.

100 f.

Dissertação (Mestrado) — Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. *Ilex paraguariensis*. 2. Coproduto. 3. Planejamento multivariado. 4. *Electrospinning*. 5. Amido de trigo. I. Meinhart, Adriana Dillenburg, orient. II. Hackbart, Helen Cristina dos Santos, coorient. III. Título.

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar e sustentar em todos momentos, mostrando a presença Dele em cada detalhe.

Aos meus pais, por todo apoio e amor e que, juntos aos meus irmãos, rezam, torcem e se alegram em cada conquista minha.

A minha diretora espiritual por me incentivar e estar sempre atenta aos meus desabafos e me auxiliar a enxergar meus potenciais.

Ao meu namorado por estar ao meu lado apoiando e encorajando.

Aos colegas do grupo de pesquisa e laboratório por todo auxílio durante este período, pelo convívio e conversas. Este trabalho tem um pouquinho de cada um!

Ao comitê de orientação pelo suporte para a elaboração deste trabalho e disposição para sanar minhas dúvidas em todos os momentos.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa.

RESUMO

MASSAUT, Yasmin Völz Bezerra. **Otimização da extração de ácidos clorogênicos do coproduto de *Ilex paraguariensis* e incorporação em fibras de amido de trigo obtidas por *electrospinning***. 2023. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

O coproduto gerado durante a poda de colheita de *Ilex paraguariensis* tem demonstrado elevado potencial pela alta concentração de compostos fenólicos, majoritariamente os ácidos clorogênicos. Ainda são escassos os estudos de extração desses compostos do coproduto, bem como sua utilização na indústria alimentícia. Para tanto, é necessário estudar as formas de extração de forma sustentável e o encapsulamento destes compostos para evitar a degradação. Neste estudo foi utilizado um planejamento multivariado para a extração dos ácidos clorogênicos presentes no coproduto de *I. paraguariensis* utilizando um método verde. Os extratos obtidos foram avaliados por HPLC-ESI-QTOF-MS, obtendo-se 7,36 g de ácidos clorogênicos (5-cafeoilquínico, 3-cafeoilquínico, 4-cafeoilquínico, 3,4-dicafeoilquínico, 3,5-dicafeoilquínico e 4,5-dicafeoilquínico) por 100 g de coproduto nas condições ótimas de extração. Esse extrato foi avaliado quanto a capacidade antioxidante frente aos radicais DPPH e ABTS e apresentou 94,35% e 99% de inibição, respectivamente, e capacidade redutora de 65,6 mg/ 100 g. No ensaio de toxicidade *in vivo* utilizando larvas de *Galleria Mellonella*, o extrato apresentou dose letal (DL₅₀) na concentração de 5,8 g/kg, podendo ser classificado como levemente tóxico. Após a obtenção do extrato aquoso foi realizado o encapsulamento dos compostos presentes no coproduto de *I. paraguariensis* em fibras ultrafinas de amido de trigo utilizando a técnica de *electrospinning*, no qual foram testados parâmetros da solução polimérica e do processo para a obtenção das fibras. Foram utilizadas as concentrações de extrato de 5, 10 e 15% (m/m) em soluções poliméricas de amido de trigo a 15% em ácido fórmico a 75%. As soluções poliméricas apresentaram maior viscosidade e condutividade elétrica com o aumento de coproduto (1,181 a 1,259 cP e 2,69 a 3,45 mS/cm, respectivamente). As fibras ultrafinas apresentaram diâmetro médio de 195 nm a 218 nm, com morfologia contínua, lisa e uniforme. A eficiência máxima de encapsulamento ocorreu na concentração de 5% (90,8%), sendo observada a diminuição conforme o aumento da concentração. As membranas apresentaram maior hidrofiliabilidade conforme o aumento da concentração do extrato e maior estabilidade do mesmo quando encapsulado, através da análise termogravimétrica. As fibras ultrafinas exibiram atividade antioxidante frente aos radicais livres ABTS, DPPH. As fibras ultrafinas de amido de trigo encapsuladas com coproduto de *I. paraguariensis* apresentaram características positivas e são promissoras na área alimentícia, sendo necessário maiores estudos de sua aplicação.

Palavras-chave: *Ilex paraguariensis*, coproduto, planejamento multivariado, *electrospinning*, amido de trigo

ABSTRACT

MASSAUT, Yasmin Völz Bezerra. **Optimization of the extraction of chlorogenic acids from the co-product of *Ilex paraguariensis* and incorporation into wheat starch fibers obtained by *electrospinning***. 2023. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

The co-product generated during the pruning of *Ilex paraguariensis* has shown high potential due to its high concentration of phenolic compounds, mainly chlorogenic acids. There are still few studies on the extraction of these compounds from the co-product, as well as their use in the food industry. Therefore, it is necessary to study ways to sustainably extract and encapsulate these compounds to avoid degradation. In this study, a multivariate design was used for the extraction of chlorogenic acids present in the co-product of *Ilex p.l. paraguariensis* using a green method. The obtained extracts were evaluated by HPLC-ESI-QTOF-MS, obtaining 7.36 g of chlorogenic acids (5-caffeoylquinic, 3-caffeoylquinic, 4-caffeoylquinic, 3,4-dicaffeoylquinic, 3,5-dicaffeoylquinic and 4,5-dicaffeoylquinic) per 100 g of co-product under optimal extraction conditions. This extract was evaluated for its antioxidant capacity against DPPH and ABTS radicals and showed 94.35% and 99% inhibition, respectively, and a reducing capacity of 65.6 mg/100 g. In the in vivo toxicity test using *Galleria Mellonella* larvae, the extract showed a lethal dose (LD 50) at a concentration of 5.8 g/kg, which can be classified as slightly toxic. After obtaining the aqueous extract, the compounds present in the co-product of *Ilex p.l. paraguariensis* in ultrafine wheat starch fibers using the electrospinning technique, in which parameters of the polymer solution and the process for obtaining the fibers were tested. Extract concentrations of 5, 10 and 15% (w/w) in polymeric solutions of 15% wheat starch in 75% formic acid were used. Polymeric solutions showed higher viscosity and electrical conductivity with increasing co-product (1.181 to 1.259 cP and 2.69 to 3.45 mS/cm, respectively). The ultrafine fibers had an average diameter of 195 nm to 218 nm, with continuous, smooth and uniform morphology. The maximum encapsulation efficiency occurred at a concentration of 5% (90.8%), with a decrease being observed as the concentration increased. The membranes showed greater hydrophilicity as the extract concentration increased and greater stability when encapsulated, through thermogravimetric analysis. The ultrafine fibers exhibited antioxidant activity against free radicals ABTS, DPPH. Ultrafine wheat starch fibers encapsulated with *Ilex p.l. paraguariensis* showed positive characteristics and are promising in the food area, requiring further studies of its application.

Keywords: *Ilex paraguariensis*, coproduct, multivariate design, *electrospinning*, wheat starch

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	9
2.	OBJETIVOS	11
2.1	Objetivo geral	11
2.2	Objetivos específicos	11
3.	HIPÓTESES	12
4.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
5.	ARTIGO 1: MÉTODO VERDE PARA A EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS CLOROGÊNICOS DO RESÍDUO AGRÍCOLA DE <i>ILEX PARAGUARIENSIS</i> INEXPLORADO COMERCIALMENTE	30
6.	ARTIGO 2: ENCAPSULAMENTO DOS ÁCIDOS CLOROGÊNICOS DO COPRODUTO DE <i>I. PARAGUARIENSIS</i> EM FIBRAS DE AMIDO DE TRIGO POR <i>ELECTROSPINNING</i>	55
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	90
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

1. INTRODUÇÃO

A *Ilex paraguariensis* (*I. paraguariensis*) é uma planta nativa da América do Sul, encontrada no Paraguai, na Argentina e no Brasil. No território brasileiro encontra-se no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Mato Grosso do Sul e São Paulo (VIEIRA et al., 2023). As folhas e ramos são muito utilizados em bebidas como o chimarrão e o tererê e em infusões como o chá mate (GOULART, SANTIN E BRASILEIRO, 2022). A exploração comercial da planta possui importância social, econômica e ecológica nos estados produtores, além de estudos demonstrando o potencial da planta quanto a sua composição em compostos bioativos com aplicações em produtos alimentícios, medicamentos, cosméticos, produtos de higiene, dentre outros (DALLABRIDA et al., 2016; JUNIOR; GOULART, 2019).

Os compostos bioativos benéficos são constituintes extranutricionais encontrados em alimentos, responsáveis por ação biológica benéfica à saúde, podendo proteger e melhorar o funcionamento do corpo bem como reduzir o risco do desenvolvimento de doenças (LIU et al., 2018). A maior parte das propriedades biológicas da *I. paraguariensis* tem sido associada à presença dos ácidos fenólicos, metabólitos secundários produzidos pelas plantas (TAIZ & ZEIGER, 2004; COSTA; ROSA, 2010). Os compostos fenólicos majoritários presentes na *I. paraguariensis* são os ácidos clorogênicos, que possuem atividades biológicas comprovadas, destacando-se pelos efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e hipocolesterolêmicos, além de serem considerados benéficos por prevenir doenças cardiovasculares e reduzir a absorção de glicose (BRAVO; GOYA; LECUMBERRI, 2007; ARÇARI et al., 2009; BRAVO et al., 2014; WAN et al., 2013).

No período da colheita das folhas e talos de *I. paraguariensis* é realizada a poda, processo com o intuito de reduzir a altura das plantas e viabilizar a próxima colheita (LORINI et al., 2021). Nessa etapa são gerados resíduos que correspondem a talos maiores de 10 mm de diâmetro e estes são descartados pois ainda não há utilização em produtos comerciais. Estudos demonstram o potencial uso em alimentos pela presença de metabólitos secundários em sua constituição química (PAGLIOSA et al., 2010). Segundo Lorini e colaboradores (2021), a casca destes talos possui em torno de 11,8 g/100 g dos 6 isômeros de ácidos clorogênicos. Entretanto, a forma de obtenção de extratos pode influenciar na concentração final.

Os métodos de extração de ácidos clorogênicos, a partir de *I. paraguariensis*, normalmente envolvem o uso de solventes como metanol, acetonitrila ou etanol (LORINI et al., 2021; MARTIN et al., 2013; SANTOS et al., 2017). Para aplicação em alimentos e bebidas o uso de solventes é um limitante devido à toxicidade para o consumo humano, além de aumentar os custos de produção, apresentando como melhor alternativa o uso de água (MURAKAMI et al., 2011; NACZK & SHAHIDI, 2004).

A utilização de técnicas de otimização multivariadas também pode contribuir para aumentar o rendimento da extração pois permitem avaliar o efeito das variáveis simultaneamente, bem como efeitos de interação. Ainda, permitem descrever o comportamento das variáveis, estabelecer modelos matemáticos e prever a condição ótima de extração (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2000).

Os ácidos clorogênicos são degradados na presença de luz, oxigênio e temperaturas elevadas, necessitando de alternativas que promovam maior estabilidade dos compostos (BAKOWSKA, KUCHARSKA E OSZMIAŃSKI, 2003). Uma forma promissora para tal é a produção de fibras através da técnica de *electrospinning*, relatada como eficiente para a encapsulação de compostos bioativos, com capacidade de proteger compostos sensíveis a fatores ambientais e/ou mascarando características sensoriais indesejáveis (FONSECA, et al., 2020; LIM, 2021; LIM, MENDES & CHRONAKIS, 2019). A utilização de amidos de diversas fontes vegetais como material de parede apresenta características positivas nas fibras e alta eficiência de encapsulamento, tornando-se uma alternativa de material para o encapsulamento dos ácidos clorogênicos presentes no coproduto de *I. paraguariensis* (CRUZ et al., 2021; FONSECA et al., 2022; PIRES et al., 2022).

Por este motivo, este trabalho tem como objetivo a obtenção de um extrato aquoso rico em ácidos clorogênicos obtidos a partir do coproduto da poda de colheita de *I. paraguariensis* e estabilizar os mesmos por encapsulamento em fibras de amido de trigo pela técnica de *electrospinning*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Produzir um extrato aquoso a partir do coproduto da poda de colheita de *Ilex paraguariensis*, rico em ácidos clorogênicos, e encapsulá-lo em fibras ultrafinas de amido de trigo por *electrospinning* para estabilização dos compostos e preservação da atividade antioxidante.

2.2 Objetivos específicos

- Obter um extrato aquoso rico em ácidos clorogênicos de coproduto de poda de *I. paraguariensis* através de uma otimização multivariada;
- Avaliar a atividade antioxidante frente aos radicais DPPH e ABTS do extrato aquoso;
- Avaliar a toxicidade do extrato de *I. paraguariensis* em organismo *in vivo* em modelo de *Galleria mellonella*;
- Produzir fibras ultrafinas de amido de trigo pela técnica de *electrospinning* incorporadas por extrato rico em compostos fenólicos de coproduto de poda de *I. paraguariensis*
- Caracterizar as fibras ultrafinas produzidas com diferentes concentrações do coproduto;
- Determinar a atividade antioxidante das fibras incorporadas de *I. paraguariensis*.

3. HIPÓTESES

- O uso de otimização multivariada de extração permitirá obter um extrato aquoso rico em compostos, com menor tempo e baixo custo;
- O extrato aquoso de *I. paraguariensis* apresentará baixa letalidade no ensaio de toxicidade *in vivo*;
- A utilização de amido de trigo como material de parede resultará na produção de fibras com morfologia homogêneas e uniformes;
- Fibras ultrafinas amido de trigo oferecerão estabilidade dos ácidos clorogênicos, com a manutenção da atividade antioxidante.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 *Ilex paraguariensis*

A *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. é uma planta subtropical dióica pertencente à família Aquifoliaceae e pode atingir 18 m de altura. A época de floração ocorre de outubro a novembro com inflorescências em feixe na região axial das folhas e seus frutos ocorrem de março a junho e são apresentados em bagas com até quatro sementes, servindo de alimento para aves (HECK; DE MEJIA, 2007; DICKEL et al, 2011; SCHULTZ et al, 2011 LANDAU; SILVA; TORRES, 2020).

As folhas das plantas eram consumidas em forma de infusão ou mascadas pelos povos nativos - principalmente os Guaranis – devido aos efeitos estimulantes e propriedades medicinais sendo, inclusive, utilizadas em rituais. Os povos nativos transmitiram o conhecimento aos espanhóis durante a ocupação castelhana no Paraguai (BRACESCO et al., 2011). O cultivo da *I. paraguariensis* teve início pelos Jesuítas em 1670 que descobriram o potencial econômico na planta. Entretanto, com o término das Missões Jesuíticas no Paraguai em 1768, ocorreu a interrupção do cultivo. Após, no Brasil, iniciou-se o cultivo por espanhóis e imigrantes europeus instalados no sul do país (KUJAWSKA, 2018).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a produção de erva mate em 2021 foi de 506.134 toneladas e vem crescendo gradativamente. Na Tabela 1 são apresentadas a produção de erva mate nos últimos 5 anos.

Tabela 1. Produção de Erva mate no Brasil nos últimos 5 anos.

Ano	Produção erva mate (toneladas)
2017	383.922
2018	346.941
2019	371.659
2020	426.034
2021	506.134

Dados: IBGE

Fonte: autora, 2023.

As condições edafoclimáticas podem afetar a planta quanto à composição química e ao seu crescimento. Atualmente, há dois modos de cultivo, sendo eles: 1) pleno sol, em campo aberto e; 2) sombreado, sob a copa de outras plantas (LORINI et al., 2021). A colheita das folhas e talos finos ocorre a cada 18 meses para então ser transportada, processada e destinada ao seu fim comercial. As etapas de produção da erva mate comercial encontram-se na Figura 1.

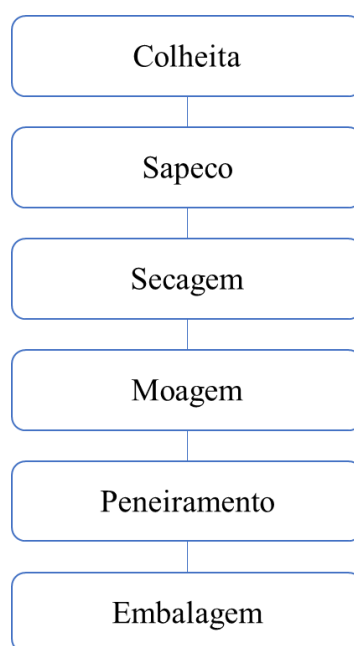


Figura 1. Etapas do processamento de *I. paraguariensis* na indústria ervateira

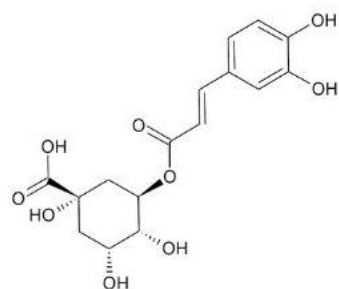
Fonte: autora, 2023.

Ao realizar a colheita, as folhas e talos são transportados à ervateira para o processamento. Inicialmente, passam pelo sapeco que consiste em um cilindro metálico perfurado e rotatório com emprego de fogo de chama direta com, em média, 300 °C, para retirar a umidade superficial e inativar as enzimas oxidantes peroxidase e polifenoloxidase. Após, ocorre a secagem, também utilizando o fogo direto, porém, em menor temperatura para obtenção da erva mate seca, retirando a maior parte da água encontrada na folha (com umidade final em cerca de 5%). Então, as folhas e talos passam pela moagem (ou cancheamento) para diminuir o tamanho das

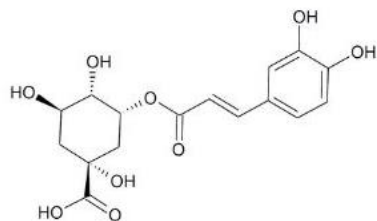
partículas e, em seguida, pelo peneiramento e destinadas ao produto desejado. Finalmente, são embaladas e dirigidas ao comércio (DANIEL, 2009).

A *I. paraguariensis* apresenta em sua composição química proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais, açúcares, metilxantinas, taninos e saponinas, além de alta concentração em compostos fenólicos (FRIZON, 2011; WESTPHALEN et al., 2020). Os compostos fenólicos desempenham funções de proteção às plantas e formam-se mais expressivamente nestas em condições de estresse, como a radiação UV, ferimentos e infecções, podendo variar as concentrações conforme o ambiente (BASTOS et al., 2006; COSTA; ROSA, 2010; HECK; DE MEJIA, 2007). Estes compostos conferem à planta alta capacidade antioxidante, combatendo o estresse oxidativo, através da inibição de radicais livres e promovendo a melhora no sistema imunológico (MANACH, MAZUR & SCALBERT, 2005; SHAHIDI & AMBIGAIPALAN, 2015; TAJIK et al., 2017).

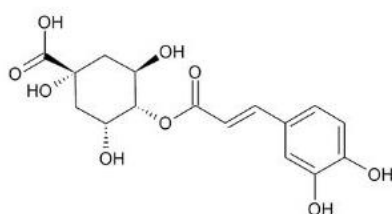
Os ácidos fenólicos apresentam um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes para o organismo humano e alimentos em que estão presentes (HECK & DE MEJIA, 2007; PAGLIOSA et al., 2010). Estes ácidos são subdivididos em dois grupos, sendo eles os derivados do ácido hidroxibenzóico, e os derivados do ácido hidroxicinâmico. A *I. paraguariensis* possui elevada concentração de compostos do grupo do ácido hidroxicinâmico, principalmente os derivados do ácido cafeico, sendo os majoritários os ácidos clorogênicos 5-cafeoilquínico, 3-cafeoilquínico, 4-cafeoilquínico 3,4- dicafeoilquínico, 3,5-dicafeoilquínico e 4,5-dicafeoilquínico (Figura 2). Os ácidos clorogênicos possuem o ácido quínico ligado a ácidos transcinâmicos (ácidos cafeico, ferúlico ou p-cumárico) através de uma ligação éster (BRAVO, GOYA & LECUMBERRI, 2007; BURRIS et al., 2012; LIMA et al., 2016; DE MEJÍA et al., 2010).



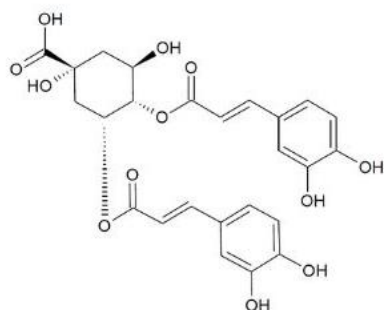
5-cafeoilquínico



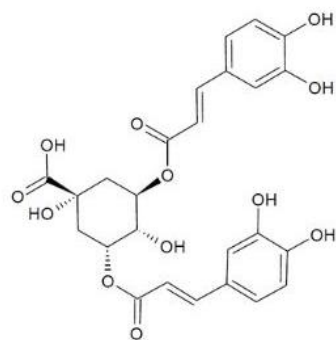
3-cafeoilquínico



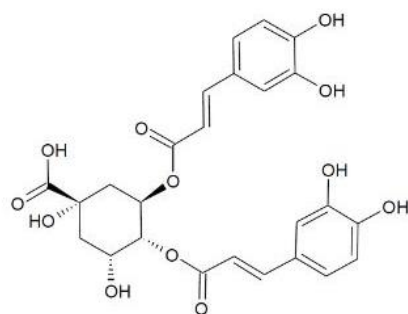
4-cafeoilquínico



3,4-dicafeoilquínico



3,5-dicafeoilquínico



4,5-dicafeoilquínico

Figura 2. Estrutura química dos ácidos clorogênicos presentes na planta de *Ilex paraguariensis*.

Fonte: Lazzarotto, 2021, com adaptações.

Durante a colheita da erva mate é realizada uma poda para reduzir a altura das plantas para viabilizar a próxima colheita (LORINI, 2021). Através da poda de colheita são gerados resíduos e estes correspondem aos talos com diâmetros maiores que 10 mm (Figura 3), que não são utilizados nos produtos comerciais pois as indústrias de processamento exigem ramos cada vez mais finos. Estes ramos são descartados devido ao seu avançado estado de lignificação, ou seja, possui a consistência de madeira (PAGLIOSA, 2009). Cerca de 5 toneladas - por hectare - destes talos são descartados.

Em estudos recentes, há demonstração do grande potencial pela presença de metabólitos secundários na parte externa do resíduo (casca), aqui denominados como coproduto (LORINI et al., 2021, 2022; PAGLIOSA et al., 2010).

A composição bioativa das folhas, dos galhos finos e do coproduto – parte externa dos talos grossos – foi caracterizada por LORINI et al., 2021) por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a ionização por *electrospray* e espectrômetro de massa (HPLC-ESI-QTOF-MS), sendo encontrado 11,8 g/100g de compostos fenólicos, quantidade semelhante ao encontrados nas folhas. Os compostos podem ser encontrados em diversas partes das plantas, como confirmado pelo autor. Dada a quantidade valiosa de compostos fenólicos e o desperdício desse recurso natural é de elevada relevância encontrar uma aplicação para o mesmo.

A obtenção de extratos concentrados de ácidos clorogênicos é uma alternativa de aproveitamento industrial do coproduto. Entretanto, o método de extração e as condições dos mesmos podem promover a degradação dos compostos ou assegurar sua estabilidade, além de aumentar o rendimento da extração (BOAVENTURA et al., 2015; ISOLABELLA et al., 2010; MYLONAKI et al., 2008; DA SILVEIRA et al., 2016).



A: plantação de *Ilex paraguariensis* a pleno sol; B: presença de frutos; C: colheita dos ramos e folhas; D e E: talos com diâmetro < 10 mm; F: separação das cascas dos talos (coproduto); G: interior dos talos maiores, e; H: coproduto seco.

Figura 3. Etapas de produção do coproduto de *Ilex paraguariensis*.

Fonte: autora, 2023.

4.2 Extração de ácidos clorogênicos e a otimização multivariada

Para obter um extrato de matriz alimentar é necessário estudar e avaliar condições para o melhor aproveitamento e atingir melhores concentrações do composto ou compostos de interesse. A extração tem como objetivo obter substâncias ou frações ativas da matéria-prima de interesse e a forma de extração pode influenciar e acarretar em diferentes resultados. A otimização pode ser realizada através de um planejamento univariado, onde é analisado apenas uma variável por vez, ou em um planejamento multivariado, com duas ou mais variáveis (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2000). Planejamentos univariados demandam maior tempo para obtenção dos resultados, maior custo e não se pode relacionar a interação das condições do experimento (CANDIOTI et al., 2014; PERALTA-ZAMORA, MORAIS E NAGATA, 2005; TEÓFILO & FERREIRA, 2006).

Planejamentos multivariados são ferramentas importantes que podem vir a auxiliar para determinar as possíveis interações de fatores, além de benefícios como a redução de experimentos. Consequentemente, ocorre a redução do tempo e dos custos. Ainda, é possível avaliar efeitos de interação e realizar previsões matemáticas das condições ótimas para obter melhores resultados, ou seja, extratos com alta concentração de substâncias (PERALTA-ZAMORA, MORAIS & NAGATA, 2005).

As variáveis de um processo de extração são determinantes no rendimento dos compostos pela interação e sinergismo entre os mesmos nas respostas. Fatores como o tipo de matriz, tempo de extração, solvente, volume do solvente, temperatura de extração, massa de amostra, tamanho de partículas, agitação, entre outros, podem alterar o resultado final e alcançar ótimas concentrações quando combinados adequadamente (GEBARA et al., 2017; DA SILVEIRA et al., 2016; SOUZA, 2009). Por isso é importante a realização de estudos para analisar e definir as melhores condições para extração de compostos fenólicos para cada matriz de forma específica.

Na área alimentícia, diversos trabalhos utilizaram planejamentos multivariados para otimizar os resultados como para a formulação de bolo tipo muffin com adição de derivados de café (SILVA et al., 2022), a extração a frio de café arábica para obter um extrato rico em cafeína em um tempo menor (BARROSO et al, 2022), a extração de compostos fenólicos e antocianinas de frutos de jambolão

(DOS SANTOS et al., 2022) e simulação de preparo do chimarrão e do tererê a efeito de comparação da composição fenólica e atividade antioxidante (SILVEIRA et al., 2016).

A extração de ácidos clorogênicos pode ser realizada através de soluções aquosas, alcoólicas ou hidroalcoólicas, com tempo e temperatura combinados e concentração de amostra utilizada. Não há procedimento padrão para todos os tipos de matéria vegetal, podendo ser muito vantajoso para uma matriz, porém, para outra não, devido as características bioquímicas diferentes (CAVANHOLI et al., 2021; CORREA et al., 2017; MURAKAMI et al., 2011). Entretanto, o uso de soluções alcoólicas ou hidroalcoólicas com determinados solventes pode ser limitante, para o consumo humano e para aplicações na indústria alimentícia, quanto a toxicidade destes solventes, aumento de custos, alterações sensoriais e/ou impacto ambiental (MURAKAMI et al., 2011; RUESGAS-RAMÓN, FIGUEROA-ESPINOZA & DURAND, 2017).

O uso de solventes verdes é uma alternativa para reduzir as limitações e estudos já avaliaram o uso de água como solvente na extração de compostos fenólicos. O extrato aquoso de flores comestíveis de *Theobroma speciosum* apresentou composição de 640 mg GAE g⁻¹ em compostos fenólicos (MAR et al., 2021), Komes e colaboradores (2010), em extração de fenólicos totais em chá verde, utilizando água detectaram 2560 mg/L de GAE em chá verde. Ainda há poucos estudos na área investigando a com extração aquosa da casca do coproduto de *I. paraguariensis* e possíveis aplicações em alimentos.

Quanto à técnica de extração, diversas alternativas podem ser utilizadas para extração de ácidos fenólicos. As mais empregadas são a partição com solventes de elevada toxicidade (para fins analíticos e exaustivos). A partição com solventes verdes tem sido usada com auxílio de agitação com banho-maria, uso de ultrassom, microondas e extração sub e super-críticas (GIL-MARTÍN et al., 2022; PANJA, 2018). Considerando a elevada facilidade de isomerização e degradação dos ácidos clorogênicos (constituintes majoritários do coproduto) a extração por ultrassom e microondas não se apresenta como uma técnica muito apropriada. As extrações sub e super-críticas demandam, ainda, alto custo de implementação, embora apresentem resultados muito bons. Considerando que o propósito do estudo

é investigar um método de extração rápido, de baixo custo e de fácil implementação pela indústria, a técnica por agitação e banho-maria mostra-se como a mais indicada.

4.3 Ensaio de toxicidade em modelo *in vivo* de *Galleria mellonella*

O inseto *Galleria mellonella* (*G. mellonella*) pertence à ordem Lepidoptera, da família *Pyrilidae* e subfamília *Galleriinae*. Conhecida como a mariposa da cera, seu desenvolvimento perpassa quatro estágios: ovo, larva, pupa e adulto - tornando-se mariposa – com um ciclo de vida de 7 a 8 semanas (Figura 4) (CUTULI et al., 2019; KWADHA et al., 2017). Dentre as vantagens desse modelo *in vivo*, destacam-se o tamanho adequado para manipulação, baixo risco biológico, além de baixos custos para a criação e simplicidade na manutenção.



Figura 4. Estágios do inseto *Galleria mellonella*.

Fonte: autora, 2023.

O sistema imunológico destes insetos é composto pela imunidade celular e humoral sem a interferência da imunidade adquirida, semelhante à resposta imune inata dos mamíferos (BROWNE, HEELAN & KAVANAGH, 2013; KWADHA et al., 2017). A hemolinfa das larvas possui células semelhantes aos fagócitos presentes no sistema sanguíneo dos mamíferos. A infecção pode ser induzida nas larvas através de três métodos, sendo eles a aplicação tópica, oral ou por injeção. O método mais comumente utilizado é por injeção utilizando agulha específica, inoculando uma dosagem exata na hemolinfa do inseto (TZOU, DE GREGORIO, LEMAITRE, 2002; FUCHS et al, 2010; TREVIJANO-CONTADOR, ZARAGOZA, 2014).

O uso da larva tem sido uma ótima alternativa para testes toxicológicos em *modelo in vivo* para estudar a resposta imune a patógenos, antibióticos e medicamentos, toxicidade de compostos e conservantes alimentares (ALLEGRA et

al., 2018; DOLAN et al., 2016; MAGUIRE, DUGGAN & KAVANAGH, 2016; MEGAW et al., 2015; MOYA-ANDÉRICO et al., 2021; VELLÉ et al., 2017). Em um estudo utilizando oito conservantes de alimentos houve correlação positiva nos valores de DL₅₀ no modelo de larvas de *G. mellonella* e em modelos de mamíferos (MAGUIRE, DUGGAN & KAVANAGH, 2016).

4.4 Produção de fibras ultrafinas pela técnica de *electrospinning*

A nanotecnologia é uma ciência que envolve a produção, processamento e aplicação de materiais em escala nanométrica e desenvolvida em diversas áreas, como da medicina, em fármacos, alimentos, têxteis, além de dispositivos eletrônicos, visando a melhoria de produtos e o desenvolvimento de novas tecnologias (HUPFFER & LAZZARETTI, 2019; JAYAKUMAR et al., 2010; KIM et al., 2016; MEI et al., 2013; PANTHI et al., 2017). Na área alimentícia, são desenvolvidas nanofibras poliméricas para melhorar as propriedades funcionais desejáveis dos alimentos, bem como manter a estabilidade físico-química e as propriedades biológicas funcionais de compostos.

Para a produção de fibras poliméricas pode ser utilizada a técnica de *electrospinning*, que envolve a aplicação de um campo elétrico sob uma solução polimérica, podendo ser utilizado diversos polímeros como material encapsulante. Estudos relatam ser uma técnica eficiente, simples, versátil e bom custo-benefício, muito utilizada para a encapsulação de compostos bioativos (LIM, 2021) . Possui a capacidade de proteger compostos que são sensíveis a fatores ambientais, como a luz, a temperatura e o oxigênio, ou para mascarar características sensoriais indesejáveis, como odores e sabores (LIM, 2021; LIM, MENDES & CHRONAKIS, 2019; PERSANO et al., 2013).

A eletrofiação é uma técnica muito versátil, pois, as propriedades da solução e as condições operacionais determinam a topografia da superfície, a morfologia da fibra e a orientação. Utilizam-se quatro configurações para o funcionamento desta técnica: fonte de alta tensão, agulha de aço inoxidável, bomba de seringa e sistema coletor aterrado (PERSANO et al., 2013) ilustrados na figura 5. A formação das fibras é impulsionada por forças eletrostáticas repulsivas. Inicialmente é aplicada a alta tensão e baixa corrente, gerando um campo elétrico entre a extremidade do capilar

(conectado a um eletrodo positivo) e o coletor (conectado a um eletrodo negativo). Enquanto isso, a solução polimérica é ejetada pela bomba - com a taxa de saída determinada - através capilar. Na ponta do capilar, a solução polimérica é carregada eletricamente e, pela repulsa das cargas, a gota esférica deforma-se e torna-se cônica, chamada de cone de Taylor. A solução é ejetada e ocorre o alongamento das fibras, afinando-as, enquanto evapora o solvente. As fibras sólidas se depositam no coletor metálico ao final do processo (MENDES; STEPHANSEN; CHRONAKIS, 2017; SCHMATZ; COSTA & MORAIS, 2019; ZHANG et al., 2020).

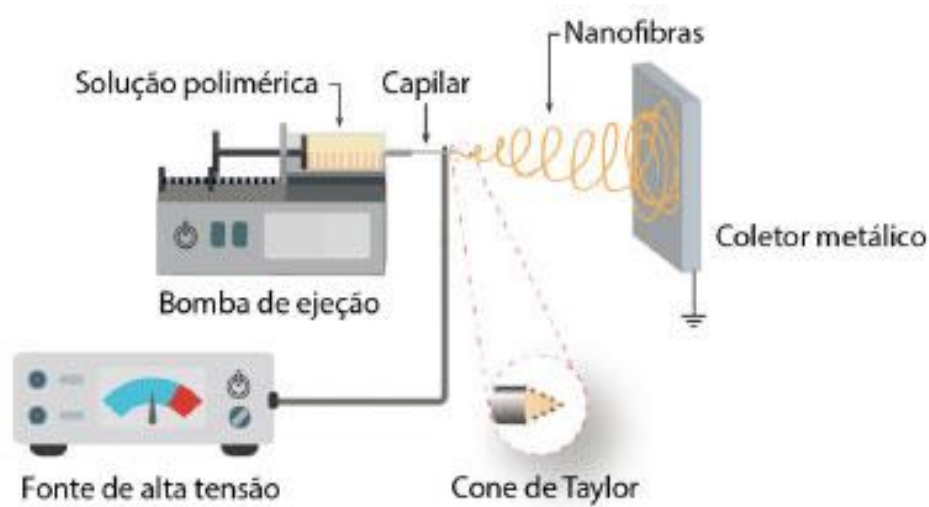


Figura 5. Esquema de funcionamento da estação de *electrospinning*

Fonte: Mercante et al, 2021.

Os parâmetros da solução, assim como as condições do processo de eletrofiação e ambientais (Tabela 2), podem ser controlados e, assim, formar fibras de diferentes morfologias com as características desejadas para diversas aplicações (ASHRAF et al., 2018; GÖNEN et al., 2016; MERCANTE et al., 2021).

Tabela 2. Parâmetros de solução, condições do processo e condições ambientais para a produção de fibras pela técnica de *electrospinning*

Parâmetros	
Solução polimérica	Viscosidade, concentração e condutividade elétrica
Processo de eletrofiação	Voltagem, distância do coletor e fluxo de alimentação
Ambientais	Temperatura e umidade relativa

Fonte: Mercante et al., 2018, com adaptações.

Souza e colaboradores (2021) realizaram um planejamento multivariado 2³ para estudar o efeito da variação dos parâmetros de processo para formação de fibras com amido de cará. Observaram variação na morfologia, nos diâmetros das fibras – de 98 a 166 nm - e a presença de deformidades na estrutura em alguns ensaios. Ainda, dependendo das condições utilizadas no estudo, não ocorreu a formação de fibras, confirmando a necessidade da avaliação dos parâmetros. Na condição ótima do planejamento, obtiveram fibras homogêneas e sem deformidades.

O polímero utilizado, a concentração do ácido e a concentração do material encapsulado também alteram os aspectos reológicos da solução polimérica. Fonseca e outros (2019) observaram que os parâmetros da solução resultaram em nanofibras com morfologia homogênea, sem a presença de “beads”. Estes utilizaram amido de batata, ácido fórmico na solução polimérica e 15% de ácido fólico como material encapsulado, apresentando diâmetro médio entre 75 nm a 81 nm e eficiência de encapsulação de 73 à 95%.

A escolha do material encapsulante é de extrema importância para o sucesso do encapsulamento. Dentre os polímeros naturais empregados encontram-se a zeína, a gelatina, a ciclodextrina e amidos de diferentes fontes vegetais (FONSECA et al., 2021; PANDEY et al., 2020; TANG et al., 2019). O amido vem sendo estudado como material de parede na técnica de *electrospinning* para a encapsulação de compostos bioativos de alimentos (PIRES et al, 2022; CRUZ et al, 2021; FONSECA et al., 2019).

4.5 Amido

O amido é um carboidrato, formado por moléculas de glicose, produzido pelas plantas como reserva de energia e encontrado em raízes, caules, folhas sementes e frutos. Segundo a ANVISA, o amido é o produto amiláceo extraído de partes comestíveis de cereais, tubérculos, raízes ou rizomas (BRASIL, 2005). Pode ser produzido a partir de várias fontes vegetais, como batata, milho, arroz, trigo, mandioca, dentre outros. Quimicamente, o amido é composto por carbono, hidrogênio e oxigênio e possui a fórmula molecular $(C_6H_{10}O_5)_n$.

A sua estrutura é composta por cadeias lineares ou ramificadas de moléculas de glicose interligadas por ligações α -1,4 ou α -1,6. O amido é formado pelos polissacarídeos amilose e amilopectina, que diferem em estrutura e funcionalidade. A amilose é um polímero linear de glicose com ligações α -1,4, ao passo que a amilopectina é um polímero ramificado de glicose com ligações α -1,4 e ramificações do tipo α -1,6. As diferentes proporções destes componentes podem resultar em grânulos de amido com diferentes propriedades físico-químicas e funcionais (FUENTES et al., 2019; SILVA et al., 2023; VANIER et al., 2017).

O amido é armazenado sob a forma de grânulos (Figura 6) com organização molecular, conferindo a característica de semicristalino (YOUNG, 1984). Possui um hilo (centro inicial de formação) e camadas alternadas de moléculas de amilose e amilopectina, além de compostos nitrogenados, lipídeos, proteínas e minerais (FENNEMA et al., 2010). Nas camadas alternadas, a amilopectina faz parte da região cristalina, onde possuem cadeias mais organizadas, região mais densa e maior resistência à permeabilidade de água e ação enzimática. Na região amorfa, formada por cadeias de amilose, as camadas possuem densidade e organização menores, que permite a penetração de água entre elas. Ambas são ligadas por pontes de hidrogênio e envoltas por matriz proteicas. A viscosidade e o poder de geleificação é influenciada pelas proporções de amilose e amilopectina (VIÉGAS, 2016). A molécula de amilopectina, pela alta quantidade de ramificações e, geralmente, maior massa molar do que a molécula de amilose, pode apresentar mobilidade limitada (ROLLAND-SABATÉ et al., 2012). O tamanho e a forma dos grânulos são próprios da planta de origem e podem influenciar no rendimento industrial e nas aplicações tecnológicas (VIÉGAS, 2016).

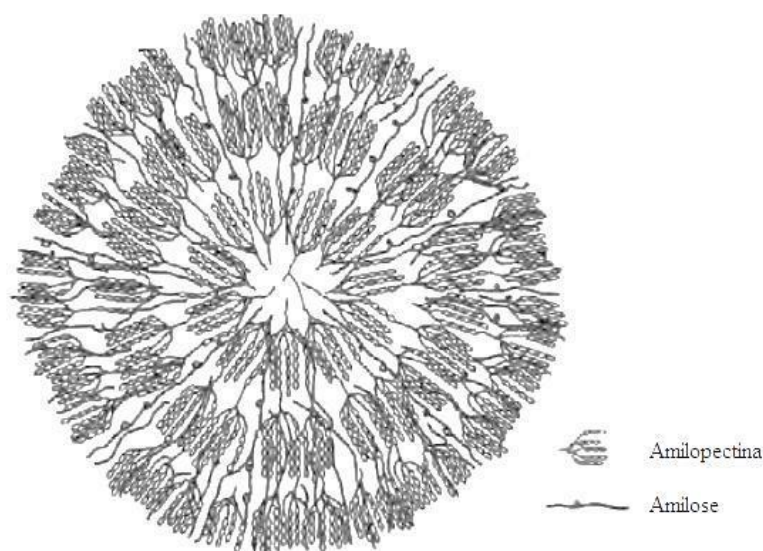


Figura 6. Organização e estrutura do grânulo de amido.

Fonte: ALMEIDA, 2012.

O amido é amplamente utilizado na indústria e conta como vantagens o baixo custo, a facilidade de obtenção, além de comestível e biodegradável. É destinado para o uso na indústria alimentícia, farmacêutica e têxtil. Na área de alimentos, é utilizado como agente espessante, estabilizante e emulsificante, afim de melhorar ou alterar as características e aumentar a vida de prateleira dos produtos alimentícios (CUI et al., 2021; LIU et al., 2017; WIGATI et al., 2022).

Atualmente vem sendo estudado para aplicação em embalagens e como material de parede para encapsulação de compostos bioativos de alimentos pela técnica de *electrospinning* (CRUZ et al., 2021; FONSECA et al., 2019b; PIRES et al., 2022). Entretanto, possui limitações no uso pela presença dos grupamentos hidroxila, conferindo propriedades hidrofílicas, que implicam na alta solubilidade de água, sensibilidade à umidade e propriedades mecânicas inferiores a outros materiais sintéticos utilizados como encapsulantes (IMRE & PUKÁNSZKY, 2013; KUZ & ATEŞ, 2020).

Amidos com maior teor de amilose apresentam melhor comportamento em virtude da conformação das hélices de amilose em estruturas de bobinas aleatórias, com melhor emaranhamento, importante na formação de um jato estável e formar fibras aplicáveis em matrizes alimentares e embalagens (CRUZ et al., 2021; FONSECA et al., 2019; FONSECA et al., 2020; MENDES, STEPHANSEN &

CHRONAKIS, 2017). Por exemplo, fibras de amido de milho de alto teor de amilose apresentaram regularidade, com estrutura lisa e contínua (KONG & ZIEGLER, 2012), assim como fibras de amido solúvel de batata para encapsular óleo essencial de tomilho, apresentando morfologia homogênea, alta eficiência de encapsulação – 99,1% a 99,8% - e alta proteção dos compostos (FONSECA et al., 2020). A curcumina também apresentou alta capacidade de carregamento, variando de 79,01% a 97,09%, maior estabilidade térmica e fibras com diâmetro médio e 108 nm a 142 nm (PIRES et al., 2022).

4.6 Amido de trigo

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é o segundo cereal mais produzido no mundo e, no Brasil, é cultivado nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (CONAB, 2017). O trigo é uma das principais fontes de amido empregadas na indústria de alimentos, juntamente com o amido de milho, de arroz, de batata e de mandioca (TAKEITI, 2019). O grão do trigo apresenta formato ovalado com extremidades arredondadas, composto por três partes: o pericarpo, o endosperma e o gérmen (Figura 7). O endosperma representa cerca de 80% do peso do grão, constituído majoritariamente de carboidratos. O amido está presente nesta região, variando a quantidade de acordo com o tipo de trigo e condições de cultivo (GWIRTZ et al., 2014; CONAB, 2017).

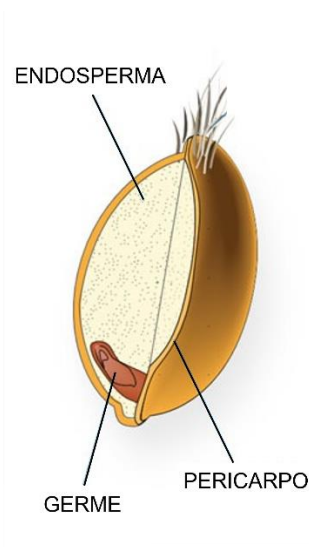


Figura 7. Estrutura do grão de trigo

Fonte: Google imagens, com adaptações.

Os constituintes estão distribuídos pelo grão e estão descritos na tabela 3.

Tabela 3 - Composição química do grão de trigo integral, do farelo, do endosperma e do gérmen (% base seca)

Parâmetro	Grão integral	Farelo	Endosperma	Gérmen
Peso	100	17	80	3
Carboidratos	82	61	88	56
Proteínas	12	11	10	26
Lipídios	2	5	1	10
Fibra total	2	14	>0,5	3
Cinzas	1,5	9	0,5	5

Fonte: Conab, 2017, com adaptações.

O amido de trigo é composto por dois tipos de grânulos. Os grânulos maiores ($> 10 \mu\text{m}$) são denominados do tipo A e os grânulos menores ($< 10 \mu\text{m}$) denominados do tipo B e possuem diferenças nas características morfológicas e químicas (Kim e Huber, 2008). Os grânulos do tipo A apresentam morfologia na forma de disco ou lenticular e os grânulos do tipo B apresentam forma esférica. Quanto a composição química dos grânulos, há diferenças no teor de amilose, na ocorrência de complexo lipídio-amilose e no teor de fósforo. Além de diferenças nas estruturas moleculares, diferindo as propriedades de intumescimento, de gelatinização e de solubilidade (BRUNI et al., 2020; CONAB, 2017; VANIER et al., 2019).

Trigos de diferentes cultivares podem apresentar distintos teores de amilose, variando entre 22 a 35% (Halal, El et al., 2019). A variação dos atributos do grão, incluindo o rendimento de extração e o teor de amilose, estão relacionados a diferenças nas cultivares, nos genótipos, nas condições de plantação, condições climáticas, na forma de extração, dentre outros (SILVEIRA et al., 2020; WANG et al., 2020; ZHANG et al., 2018). Como citado anteriormente, amidos com alto teor de amilose são interessantes para o *electrospinning*, propiciando a produção de fibras mais resistentes (CAO et al., 2022), o que torna o amido de trigo uma excelente alternativa para o processo.

Na literatura, ainda há poucos estudos utilizando o coproduto da poda de *I. paraguariensis*, necessitando de maior exploração do potencial uso e de sua

aplicação em alimentos. Devido a necessidade de manutenção de seus benefícios, buscam-se alternativas que proporcionem a proteção dos compostos fenólicos. O uso de amido de trigo como polímero na técnica de *electrospinning* se mostra uma importante alternativa para a encapsulação dos compostos bioativos encontrados no extrato do coproduto de *I. paraguariensis*

5. ARTIGO 1: MÉTODO VERDE PARA A EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS CLOROGÊNICOS DO RESÍDUO AGRÍCOLA DE *ILEX PARAGUARIENSIS* INEXPLORADO COMERCIALMENTE

**Green method for the extraction of chlorogenic acids from commercially
unexplored agricultural residue of *Ilex paraguariensis***

Yasmin Völz Bezerra Massaut^{a*}, Bruna Trindade Paim^a, Laura de Vasconcelos
Costa^a, Thaís Regina Rodrigues Vieira^a, Thamyres Cesar de Albuquerque
Sousa^a, Lucas Adriano Nascimento Gehres^a, Helen Cristina dos Santos
Hackbart^a, Adriana Dillenburg Meinhart^a

^a *Department of Food Science and Agrotechnology, Federal University of Pelotas
(UFPEL), 96105-900, Pelotas, RS, Brazil. E-mail: yasmin_vbm@hotmail.com;
yasminmassaut@gmail; adrianadille@gmail.com*

* Corresponding author

Abstract

The external part of the residue generated during pruning of *Ilex paraguariensis* (referred to as co-product) is rich in phenolic compounds, predominantly chlorogenic acids. Despite this, this matrix has not been commercially exploited. There are currently no standardized methods for the green extraction of chlorogenic acids from this matrix, which would enable the application of these compounds in food. In this study, a multivariate design and a univariate study were employed to propose a green method for the extraction of a high quantity of the six isomers of chlorogenic acids from the co-product of *I. paraguariensis*. The extract obtained under optimal conditions, determined using desirability function, was evaluated for its chlorogenic acid content, *in vivo* toxicity, reducing potential, and antioxidant activity. After optimization, the study revealed a cost-effective method: 0.25 g of the co-product is simply mixed with 30 mL of water, agitated in a water bath at 30°C for 5 minutes, resulting in the extraction of 7.36 g of chlorogenic acids from 100 g of the co-product. The extract showed an LD₅₀ at a concentration of 5.8 g per kg of body weight and safe for ingestion up to 5.2 g/kg in the *Galleria mellonella* model, corresponding to 0.36 kg for a 70 kg human. The reducing capacity and antioxidant activity against DPPH and ABTS radicals were equivalent to those obtained by other methods employing different solvents. The optimized method is simple, fast, easy to apply, and high yield, allowing for its large-scale application in the food industry.

Keywords: yerba mate, phenolic acids, multivariate optimization, toxicity.

INTRODUCTION

Ilex paraguariensis (*I. paraguariensis*) is a native plant of South America, found in Paraguay, Argentina, and Brazil ¹. During the harvest period of the leaves and thin stems, which are raw materials for the production of yerba mate for chimarrão, tererê, and mate tea production, the plants undergo pruning to reduce their height and facilitate the next Harvest ².

Currently, approximately 5 tons of residue per hectare are generated, corresponding to thick stems (with diameters larger than 10 mm), which are not yet used in commercial products and are discarded due to their advanced lignification state ³. Considering that in Brazil, in 2021, the harvested area was 68,616 hectares ⁴, approximately 344 tons of residue were generated. According to Pagliosa et al. (2010) , this agricultural residue has high potential due to the presence of secondary metabolites in its chemical composition.

The residues are composed of the internal part and the external part (referred to as co-product here). The co-product corresponds to 30% of the total volume (by mass) of the residue. Lorini et al. (2021) conducted the extraction of bioactive compounds from the co-product using a methanol-water solution and found that the composition is similar to that of the leaves. They quantified 11.8 g of six chlorogenic acids (5-caffeoylquinic, 3-caffeoylquinic, 4-caffeoylquinic, 3,4-dicaffeoylquinic, 3,5-dicaffeoylquinic, and 4,5-dicaffeoylquinic acids) in 100 g of co-product.

In the scientific literature, chlorogenic acids have been consistently associated with antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial activities ⁵⁻⁷. Furthermore, extracts of *I. paraguariensis* have been found to exhibit hypolipidemic and hypocholesterolemic effects ^{8,9}, hypoglycemic effects ¹⁰, hepatoprotective properties ^{11,12}, and have shown effects on reducing LDL (low-density lipoprotein) and increasing HDL (high-density lipoprotein) levels ¹³. Moreover, they have demonstrated inhibitory effects on tumor cells ¹⁴. Thus, the co-product from the harvest pruning of *I. paraguariensis* is an overlooked natural source that can be a promising matrix for the extraction of chlorogenic acids for incorporation in the food industry.

To achieve this, it is necessary for the compounds present in the extract to maintain their chemical structure and biological function throughout the entire extraction process. The extraction method can influence and lead to different results ¹⁵. Indeed, the extraction methods for chlorogenic acids mentioned in the literature include the use of solvents such as methanol, ethanol, and acetonitrile, among others ^{16,17}. However, the use of these solvents has disadvantages such as increased costs, safety risks to handlers due to flammability and volatility, incompatibility regarding toxicity for technological applications in food, and the potential to cause sensory changes in the applied food product. Additionally, they can generate waste with environmental impacts ^{18–20}.

The development of an extract from the co-product using green solvents can be a safe alternative for utilizing the entire plant and can be used in food matrices without posing risks to human health ^{21,22}. In addition to the extracting solvent, other factors can significantly impact the final yield, such as extraction time, volume of the extracting solution relative to the sample quantity, extraction temperature, and particle size ^{23,24}. These factors should be carefully optimized to maximize the extraction efficiency of chlorogenic acids from the co-product. Multivariate designs are valuable tools that enable the optimization of a process with a minimum number of experiments. They allow for the evaluation of individual and interaction effects and facilitate mathematical modeling to determine the optimal extraction conditions. By considering multiple variables simultaneously, these designs help in efficiently exploring the parameter space and identifying the most influential factors for achieving the desired extraction outcome. This approach ultimately leads to significant time and resource savings while maximizing the efficiency of the extraction process ^{25,26}.

Regarding the extraction technique, the most commonly employed methods for phenolic acids are solid-liquid partitioning with the aid of agitation using a water bath, ultrasound-assisted extraction, microwave-assisted extraction, and subcritical and supercritical extractions ^{27,28}. Considering the high susceptibility of chlorogenic acids to isomerization and degradation, ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted extraction may not be the most suitable techniques. Subcritical and supercritical extractions can be costly to implement, although they yield excellent results. Considering the purpose of

investigating a fast, low-cost, and easily implementable extraction method for industrial use, the technique of agitation with a water bath is the most suitable.

Considering the above, this study aimed to optimize the aqueous extraction of major chlorogenic acids from the co-product of *I. paraguariensis* in less time and, consequently, lower costs, using water as solvent. In addition, to investigate in vivo toxicity, reducing capacity and antioxidant activity against DPPH and ABTS radicals of the extract obtained in the optimal extraction condition.

MATERIAL E METHODS

Reagents

Ethanol (Neon, Suzano, Brazil), hexane and trichloroacetic acid (Dinâmica, Indaiatuba, Brazil) of analytical grade PA; formic acid (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany) and methanol (Honeywell, Wabash, USA) of chromatographic grade were used. The standards of chlorogenic acids 3-caffeoylquinic acid (3-CQA), 4-caffeoylquinic acid (4-CQA), 5-caffeoylquinic acid (5-CQA), 3,4-dicaffeoylquinic acid (3,4-DQA), 3,5-dicaffeoylquinic acid (3,5-DQA), and 4,5-dicaffeoylquinic acid (4,5-CQA) were obtained from Biopurify (Chengu, China). Gallic acid P.A from Dinâmica (Indaiatuba, SP, Brazil). The MegaPurity® system from MecLab (Jacareí, Brazil) was used for water purification.

The standards were diluted in methanol (1 mg mL⁻¹) and stored in an ultrafreezer at -70 °C for a maximum of two days. All solutions and mobile phases were filtered using nylon membranes with a porosity of 0.22 µm (Analítica, São Paulo, Brazil).

Obtaining the residue

The residue from the harvest pruning of *Ilex paraguariensis*, Cambona 4 cultivar, was collected in Machadinho, RS, Brazil (27°32'35.5" S and 51°39'46.9" W), in November 2022. The collection was performed randomly on 100 plants

from a yerba mate plantation grown under full sun conditions. The residue had its external part (epidermis) separated from the internal part (cortex and pith) using a knife. The external part (co-product) was dried in an industrial tea dryer (Schifel, Erechim, Brazil) at 135°C until it reached 5% moisture content and then crushed to achieve a particle size of 50 mesh. The co-product was packed in sealed plastic bags and stored at -18°C until further use. Access to the genetic heritage of the plant is registered with the Brazilian Ministry of the Environment/National System for the Management of Genetic Heritage and Associated Traditional Knowledge - SISGEN (AEEC386). The sample was deposited in an herbarium of the Institute of Biology of the Federal University of Pelotas (no. 26,978) to ensure botanical identification.

Multivariate optimization and analysis of the extract obtained at the optimal point.

A multivariate optimization was performed to obtain an aqueous extract rich in chlorogenic acids. A central composite design 2^3 was employed for the optimization, including central and axial points, according to De Barros Neto (2010). The variables investigated were infusion time (5 to 60 min), extraction water temperature (30 °C to 85 °C), and water volume (5 mL to 30 mL). For the multivariate optimization, 250 mg of the sample was weighed into amber bottles. Next, filtered water was added to the volume corresponding to the experimental design. The tubes were hermetically sealed and placed in a magnetic stirring bath at the temperatures and times specified by the experimental design. After the specified time elapsed, the extracts were filtered using a 0.22 µm nylon membrane and stored in Eppendorf tubes in a freezer until the time of analysis (maximum 2 days) of chlorogenic acid isomers by high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with electrospray ionization and quadrupole time-of-flight mass spectrometry (ESI-QTOF-MS). All experiments were conducted randomly and in triplicate.

The results were analyzed using Analysis of Variance to assess significant effects and establish mathematical models with appropriate fit to predict the optimal extraction conditions. The optimal extraction condition was obtained using the Derringer and Suich desirability function (1980), which

maximizes the simultaneous extraction of bioactive compounds. The mathematically predicted optimal condition was experimentally executed in triplicate, and the results of the chlorogenic acid content were compared with the values predicted by the models using a t-test (95% confidence level). Based on the results obtained from the models, a univariate design was conducted to investigate the effect of the volume of the extracting solution. The extract obtained under the optimal condition was lyophilized and subjected to toxicity analysis, reducing capacity assessment, and antioxidant activity evaluation.

Methods of analysis

Chlorogenic acids

The analysis of chlorogenic acids, including 5-caffeoylquinic acid, 3-caffeoylquinic acid, 4-caffeoylquinic acid, 3,4-dicaffeoylquinic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid, and 4,5-dicaffeoylquinic acid, was performed using high-performance liquid chromatography with a diode array detector (UFLC, Shimadzu, Japan) operating at 325 nm. The system was equipped with an automatic injector, a quaternary pump, and a Cogent 2.0 Bidentate C18 column (MicroSolv Technology Corp., Leland, NC, USA) with dimensions of 2.1 mm i.d., 100 mm length, and 2.2 μ m particle size. The column was maintained at a temperature of 40 °C. The analysis method was based on the one described by Lorini et al (2021).

The elution was performed using a gradient system starting with 99% of solvent A (water acidified with 0.1% formic acid) and 1% of solvent B (methanol). The gradient increased linearly until reaching 36% of solvent B at 35 minutes and was maintained for 2.5 minutes. From 37.5 to 40 minutes, the gradient reached 100% of solvent B and was maintained for 1 minute for column cleaning purposes. Next, the column was reconditioned with the initial mobile phase composition for 5 minutes. The flow rate of the mobile phase was set at 0.2 mL/min, and the injection volume was 10 μ L. The identification of chlorogenic acids was performed by comparing the retention time, diode array detector (DAD) absorption spectrum, and co-chromatography with an analytical standard.

The method validation included parameters such as limit of detection, limit of quantification, linearity, precision within a day, and precision between

days, following the guidelines of the International Union of Pure and Applied Chemistry (Thompson, Ellison, & Wood, 2002). The validation results were found to be suitable for the analysis.

Toxicity Assay

The toxicity assay was conducted using the *Galleria mellonella in vivo* model, following the procedure described by Sardi et al. (2017). For the analysis, the aqueous extract was freeze-dried to prevent the degradation of chlorogenic compounds, resulting in a yield of 27.98% of chlorogenic acids in dry mass. To determine the lethal dose that kills 50% of the organisms (LD₅₀), 11 dilutions of the freeze-dried aqueous extract from the pruning residue of *Ilex paraguariensis* were selected at concentrations of 10, 25, 40, 55, 70, 85, 100, 115, 130, 145, and 160 mg/mL, along with a control group treated with distilled water. Five randomly selected larvae, weighing between 0.20 and 0.29 g, without signs of melanization, were used. The mentioned concentrations were injected into the abdominal hemocele (body cavity where the blood flows) of the larvae through the last left proleg using a 10 µL Hamilton syringe (Hamilton, Reno, NV). The larvae were incubated in petri dishes in a BOD incubator (ELETROlab, São Paulo/SP) at 30°C and monitored for survival after 24 hours, 48 hours, and 72 hours. The experiment was conducted in triplicate, and larvae that exhibited melanization and/or lack of movement upon touch were considered dead.

Reducing capacity

The reducing capacity of the extract was determined using the Folin-Ciocalteu method, as described by Singleton and Rossi (1965), with modifications. For this purpose, the extraction at the optimal point was initially performed as described earlier. After extraction, the volumes were adjusted to 30 mL. An aliquot of 250 µL of the extract was taken and mixed with 1.25 mL of 0.2 mol/L diluted Folin reagent. The mixture was stirred for 10 seconds and allowed to stand for 5 minutes. Then, 1 mL of 7.5% sodium carbonate solution was added, followed by another 10 seconds of stirring. The solution was then kept in the dark for 2 hours until the reading was taken. The reading was performed at 725 nm

using a spectrophotometer (Molecular Devices, SpectraMax 190, United States of America).

Antioxidant activity (DPPH and ABTS)

The antioxidant activity was evaluated by DPPH radical³² and ABTS radical³³ inhibition method. For the DPPH method, firstly, the solution was prepared using 6 mg of DPPH in 25 mL of methanol and 10 mL of the solution was diluted in 45 mL of methanol, and absorbance adjusted to 1.10 ± 0.02 at 515 nm. Afterward, 3.9 mL of the DPPH solution was added to 10 mg of the extract and vortexed for 60 seconds. The mixture was then kept in the dark at room temperature (25 ± 2 °C) for 2 hours and 30 minutes. The absorbance was measured at 515 nm using a spectrophotometer (Jenway Model 6705 Scanning UV/Visible Spectrophotometers) with a quartz cuvette, and the result was expressed as percentage inhibition according to Equation 1.

$$\text{Eq1} \quad \text{Inibition (\%)} = \frac{Abs_{white} - Abs_{sample}}{Abs_{white}} \times 100$$

For the ABTS radical scavenging capacity, a stock solution of ABTS 7.4 mM (5 mL) was mixed with sodium persulfate 140 mM (88 µL) and kept in the dark for 16 hours at room temperature (22 ± 2 °C). After, the solution was diluted in ethanol and adjusted to 0.70 ± 0.05 nm measured at 734 nm. The samples (1 mg) were weighed in separate tubes, and then 3 mL of the ABTS solution was added and agitated for 1 minute. The tubes were kept in the dark at room temperature (24 ± 3 °C) for 30 minutes, and the absorbance was subsequently measured at 734 nm using a microplate spectrophotometer (SpectraMax 190, Molecular Devices, USA). At the end of the reaction, the radical scavenging capacity was also calculated using Equation 1.

Statistical analysis of data

The results obtained were analyzed using analysis of variance (ANOVA) with a 95% confidence level using the Statistica 7.0 software (Tulsa, USA) and Design Expert 6.0.4 software (Minneapolis, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

The coded and decoded variables, as well as the obtained responses in the 2^3 multivariate experimental design for extraction condition optimization, are presented in Table 1. It can be observed that there was a significant variation in the total extraction (sum) and in each of the compounds when compared to the extracted contents under different studied conditions (ranging from 1.72 to 8.90 g per 100 g for the sum). Table 2 presents the generated mathematical models, as well as the F-values for model fitting and significance. It can be observed that the variables time (A) and temperature (B) did not have a significant effect on the extraction, indicating that any of the studied levels can be employed to achieve maximum extraction. On the other hand, the variable volume of the extracting solution (C) was significant for the extraction of all compounds. The increase in the volume of the extracting solution showed a linear increase in the extraction.

For all the investigated responses, it was possible to establish linear models to explain the behavior of the variable C. All the models did not show evidence of lack of fit ($p > 0.05$), as the calculated $F_{\text{calculated}}$ were lower than the F_{critical} (11.2), which is 19.40. All the regressions were significant ($p < 0.05$) as they presented $F_{\text{calculated}}$ higher than the F_{critical} value (3.13), which is 3.41. All the models generated random residuals. These characteristics indicate that these models are capable of predicting the optimal extraction condition (Table 2).

The combination of mathematical models and prediction of the optimal condition was performed using the desirability function described by Derringer and Suich (1980). The criteria adopted (Table 3) were the maximum extraction of compounds (both with importance 5), reduction of time and temperature for reasons of cost-effectiveness and lack of significance (both with importance 3). Furthermore, reducing the temperature is advantageous for preserving thermosensitive compounds. For variable C (volume of extraction solution), no restrictions were imposed, allowing the models to indicate the optimal volume for maximum extraction of the compounds within the studied range.

In the same table, it can be observed that the combination of models indicated that the optimal extraction condition, within the studied range, occurs when using 30 ml of water (extraction solution), at the point +1.68, with agitation

for 5 minutes (-1.68) at a temperature of 30 °C (-1.68), achieving 94% desirability. The concentrations predicted by the models and the experimentally observed values were statistically similar, with a 95% confidence level.

These parameters differ from the study by Silveira et al. (2017), which investigated the optimal parameters for achieving maximum extraction of these phenolic acids during the preparation of mate tea leaf infusions. The authors observed that the best conditions were obtained when higher temperatures (95 °C) and the maximum extraction time studied (16 min) were employed. Although, the matrix studied by Silveira et al. (2017) had a lower structural rigidity than the coproduct, and the authors did not use agitation or maintain it in a water bath, as they simulated the preparation of mate tea as done by consumers. Thus, it is possible that the presence of constant agitation and controlled temperature allowed for the use of milder conditions.

The optimized extraction condition allowed the extraction of 7.36 ± 0.07 g of the six major isomers present in 100 g of the coproduct. The isomer that was extracted in the highest quantity was 4,5-DQA, followed by 3,5-DQA, and the monocaffeoylquinic acids 3-CQA, 4-CQA, and 5-CQA. These compounds have proven biological action as hypolipidemic and hypocholesterolemic action³⁵⁻³⁷, hypoglycemic action and improvement of insulin resistance in metabolic syndrome³⁸, hepatoprotection^{11,39}, antiobesogenic action, with reduction of body fat^{40,41}, anticancer action with reduction of colon cell proliferation^{13,14}, neuroprotection and attenuation of lung cancer-related⁴² damage prostatic carcinogenesis delay reducing the viability and proliferation of tumor cells⁴³ and protection against small intestine lesions⁴⁴.

Given that the volume of the extraction solution had an impact on the extraction and showed a linear model, a univariate study (Table 4) was conducted to investigate its effect on the extraction when increased. It was observed that increasing the extraction volume did not lead to an increase in the extracted concentration. This result indicates that the volume of 30 mL already achieved the maximum extraction that the established system allows.

In comparison to the study by Lorini et al. (2022) (2022) that investigated the extraction of phenolic compounds using water and ethanol, which resulted in

an extraction of 11.8 g per 100 g, our present study demonstrated an extraction method that achieved 62.7% when compared to the authors' results. Hydroalcoholic extracts generally exhibit higher yields of total phenolics compared to aqueous extracts ²⁴. This difference may be related to the presence of ethanol due to its high capacity to permeate cell structures ²⁷. In terms of practical aspects, ethanol is an undesirable solvent in some food applications and administrations in the pharmaceutical industry, in addition to increasing the cost of production. The method presented in this study demonstrates good efficiency in extraction, shorter processing time, the use of mild temperatures, and high scalability potential for industrial applications.

In the extraction of chlorogenic acids in Brazilian coffee in a water bath, it is also possible to observe that the stirring time did not present a significant effect, being used smaller ranges, favorable for the economy of the process ⁴⁶. With regard to temperature, these when at higher levels increase the solubility and diffusion of the sample in the solvent, however, when too high can lead to loss of solvent and degradation of thermosensitive compounds ⁴⁷.

In comparison to other food matrices, Meinhart et al. (2019) investigated the content of the six isomers of chlorogenic acids in food matrices. Root vegetables such as purple sweet potato, cassava, and carrot have low levels of chlorogenic acids, as well as broccoli and cauliflower. However, herbs such as rosemary and bay leaf have higher levels.

Silveira et al. (2017) observed, in mate tea from leaves and thin stems, that the greater volume of water as an extracting solution allowed greater extraction of chlorogenic acids. According to Firmino et al. (2015), the proportion of dry weight of the plant in relation to the amount of water used has a decisive influence on the amount of total phenolic compounds in infusions, which corroborates with the present study.

Toxicity Assay

Concentrations ranging from 0.4 to 6.4 g/kg were studied, and the lethal dose was found to be 5.8 g/kg of extract, resulting in the death of 50% of the larvae, as shown in Fig. 1.

According to the Gosselin, Smith, and Hodge Scale ⁵⁰, which classifies LD₅₀ values for oral ingestion in humans, the LD₅₀ of the extract is considered slightly toxic (LD₅₀: 5-15 g/kg). Based on the experimental results, the safe dose for consumption is up to 5.2 g/kg, which corresponds to an intake of 0.36 kg for a 70 kg human. In studies using the *in vivo* model of *G. mellonella*, it was observed that the essential oil from cinnamon leaves (*Cinnamomum verum*) is an example of a food matrix that does not exhibit toxicity, as the application of the undiluted concentration (1000 mg/mL) did not result in larval mortality ⁵¹. However, propolis extract exhibits moderate toxicity (LD₅₀: 0.5-5 g/kg) at a concentration of 1.1 g/kg ⁵². The toxicity of *I. paraguariensis* was evaluated by Andrade et al. (2012) in other *in vivo* models (rats). The authors concluded that the administration of 2 g of dried yerba mate extract per kg of body weight of the animal for 14 days did not pose any risks, as there were no effects on animal survival, food and water intake, body weight, and no alterations in clinical signs, biochemical, and hematological parameters of the animals. Since the immune system of *G. mellonella* larvae is similar to the innate immune response of mammals ^{54,55}, its use has been a great alternative for toxicological testing in an *in vivo* model.

Reducing capacity

In the analysis of the reducing potential, the aqueous extract of the pruning coproduct of *I. paraguariensis* obtained under optimal extraction conditions yielded 65.6 ± 0.41 mg GAE (gallic acid equivalent) per gram of sample, demonstrating antioxidant activity and the capacity to inhibit or neutralize oxidizing agents. Different results have been found in other studies. In the variety of morphotypes of green yerba mate leaves, for example, levels ranging from 71.6 to 75.4 mg GAE per gram were reported ⁵⁶. Furthermore, the use of aqueous solutions and hydroalcoholic and acidified hydroalcoholic solutions on the leaves has shown differences in the content of phenolic compounds (18.31 mg GAE per gram, 13.27 mg GAE per gram, and 30.43 mg GAE per gram, respectively) ⁵⁷. The co-product of *I. paraguariensis* proves to be a source of phenolic compounds with reducing potential, demonstrating itself as an alternative for the intake of these compounds.

Similar values are also found in the acetonic extract of coffee pulp and coffee industrial waste (72.88 and 77.25 mg EAG g⁻¹, respectively) ⁵⁸, in the ethanolic extract of *Cordia verbenácia* leaves (79.48 mg EAG g⁻¹) ⁵⁹, and lower than the methanol: water extract of jambolan fruits (148.3 mg EAG g⁻¹) ⁶⁰.

Antioxidant activity - DPPH and ABTS

In the analysis of the antioxidant activity regarding the scavenging of DPPH and ABTS radicals, the aqueous extract of the byproduct showed free radical inhibition of 94.35% ± 0.19 for DPPH and 99% ± 0.44 for ABTS.

The DPPH method is based on the ability of antioxidants in the sample to bind to the organic radical and reduce it. In the present study, the value obtained was close to that found in leaves of mate exposed to sunlight and shade, which showed 95% and 98% inhibition in the aqueous extract, respectively ⁶¹. On the other hand, in the same study, the samples of leaves that underwent the roasting process (240 °C) showed 11% inhibition of the DPPH radical, which can be explained by the degradation of phenolic compounds at high temperatures. Similarly, a lower inhibitory potential was observed in four commercial samples of *I. paraguariensis* tea, with an average of 49.66%, due to the roasting process they undergo ⁶², in extract from red onion peel with 85.0% inhibition ⁶³, and in acetone extract from coffee grounds with 15.1% inhibition ⁵⁸.

The ABTS method is based on the capture of ions by the antioxidants in the sample, leading to the inactivation of the cations and consequently decreasing the absorbance. The aqueous extract of the byproduct showed a high capacity for reducing ABTS cations, superior to that found in commercial dried yerba mate leaves, with an average of 94% ⁶⁴, and in extracts using dry mate powder with tap water and deionized water, obtaining 19.97% and 21.64%, respectively. Lower values are also found in jambolão extract with 64% ⁶⁵, and similar values in red onion peel extract with 96.8% ⁶³.

The extract obtained in this study shows high inhibition of free radicals, confirming its high antioxidant potential, similar to that found in leaves. It can be used for various food purposes in the industry, with low cost and easy obtainability. Natural antioxidants, such as phenolic compounds, can prevent

food and packaging materials from deteriorating, thus extending the shelf life of food products ⁶⁶.

CONCLUSION

In this study, we have demonstrated that it is possible to obtain an edible extract rich in bioactive compounds, with a focus on determining safe consumption levels using the *Galleria mellonella* model. This extract is rich in bioactive compounds that offer potential benefits to the human body. The extract was obtained by a green method using 0.25 g of the dried coproduct and 30 mL of extractant solution are conditioned in a water bath agitation at 30 °C for 5 minutes, with low cost and fast obtaining. The results obtained regarding the reducing capacity and antioxidant activities, which are similar to those found in leaves and fine stems of *I. paraguariensis*, highlight that the extract obtained from the coproduct has great potential to be applied in food or beverages, making them more functional and beneficial. Future studies hold promise in terms of enhancing the preservation of its biological activity under processing and storage conditions, such as encapsulating the compounds, as well as conducting assays on bioaccessibility and bioavailability.

Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

Acknowledgments

The authors thank the Machadinho city association, yerba mate producers (APROMATE) and Barão Trade and Yerba Mate Industry LTDA who kindly contributed by donating the samples of *I. paraguariensis*.

Funding

This study was funded by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS, PQ Gaúcho 19/2551-0001637-9, Edital 05/2019) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Financiamento m^o 001).

REFERENCES

- 1 M. A. Vieira, M. Maraschin, R. Dias De Mello, C. Amboni, E. S. Prudêncio, C. M. Pagliosa, M. Barbosa, H. Mantelli, E. R. Amante, L. Souza Da Silva and M. Walter, *Ciência Rural*, 2023, **53**, e20220178.
- 2 A. Lorini, F. M. Damin, D. N. de Oliveira, R. L. Crizel, H. T. Godoy, V. Galli and A. D. Meinhart, *J Food Sci*, 2021, **86**, 1599–1619.
- 3 C. M. Pagliosa, M. A. Vieira, R. Podestá, M. Maraschin, A. L. B. Zeni, E. R. Amante and R. D. de M. C. Amboni, *Food Chem*, 2010, **122**, 173–178.
- 4 I. B. de G. e E. IBGE, Produção da Extração Vegetal e Silvicultura.
- 5 C. Anesini, S. Turner, L. Cogoi and R. Filip, *LWT*, 2012, **45**, 299–304.
- 6 P. T. A. N. Kungel, V. G. Correa, R. C. G. Corrêa, R. A. Peralta, M. Soković, R. C. Calhelha, A. Bracht, I. C. F. R. Ferreira and R. M. Peralta, *Int J Biol Macromol*, 2018, **114**, 1161–1167.
- 7 M. Mesquita, E. Santos, C. A. Kassuya and M. J. Salvador, *J Ethnopharmacol*, 2021, **279**, 114401.
- 8 L. Bravo, R. Mateos, B. Sarriá, G. Baeza, E. Lecumberri, S. Ramos and L. Goya, *Fitoterapia*, 2014, **92**, 219–229.
- 9 R. D. A. Silva, A. L. S. Bueno, C. W. Gallon, L. F. Gomes, S. Kaiser, C. Pavei, G. G. Ortega, L. C. Kucharski and M. P. Jahn, *Fitoterapia*, 2011, **82**, 818–826.
- 10 K. W. Ong, A. Hsu, L. Song, D. Huang and B. K. H. Tan, *J Ethnopharmacol*, 2011, **133**, 598–607.
- 11 N. Ali, S. Rashid, S. Nafees, S. K. Hasan, A. Shahid, F. Majed and S. Sultana, *Chem Biol Interact*, 2017, **272**, 80–91.
- 12 E. P. S. Conceição, A. R. Kaezer, N. Peixoto-Silva, I. Felzenszwalb, E. De Oliveira, E. G. Moura and P. C. Lisboa, *J Dev Orig Health Dis*, 2017, **8**, 123–132.
- 13 R. S. Garcia-Lazaro, H. Lamdan, L. G. Caligiuri, N. Lorenzo, A. L. Berengeno, H. H. Ortega, D. F. Alonso and H. G. Farina, *J Food Sci*, 2020, **85**, 2186–2197.
- 14 S. S. Ekbatan, X. Q. Li, M. Ghorbani, B. Azadi and S. Kubow, *International Journal of Molecular Sciences* 2018, Vol. 19, Page 723, 2018, **19**, 723.
- 15 J. B. Bavaresco, M. Bandeira, C. Raota, J. da S. Crespo and M. Giovanela, *Scientia cum Industria*, 2020, **8**, 39–45.
- 16 N. Grujic, Z. Lepojevic, B. Srdjenovic, J. Vladic and J. Sudji, *Molecules*, 2012, **17**, 2518–2528.

- 481 17 D. Wianowska, R. Typek and A. L. Dawidowicz, *J AOAC Int*, 2015, **98**, 415–
482 421.
- 483 18 L. L. da Silva, L. C. N. Ribeiro, G. Santacruz, S. Arcaro, A. K. Alves and C.
484 P. Bergmann, *FME Transactions*, 2018, **46**, 70–79.
- 485 19 M. Ruesgas-Ramón, M. C. Figueroa-Espinoza and E. Durand, *J Agric Food*
486 *Chem*, 2017, **65**, 3591–3601.
- 487 20 C. Castiello, P. Junghanns, A. Mergel, C. Jacob, C. Ducho, S. Valente, D.
488 Rotili, R. Fioravanti, C. Zwergel and A. Mai, *Green Chemistry*, 2023, **25**,
489 2109–2169.
- 490 21 Y. Liu, S. Wei and M. Liao, *Ind Crops Prod*, 2013, **49**, 837–843.
- 491 22 E. Tsouko, M. Alexandri, K. Vieira Fernandes, D. Maria Guimarães Freire,
492 A. Mallouchos and A. A. Koutinas, , DOI:10.17113/ftb.57.01.19.5784.
- 493 23 K. S. Gebara, A. Gasparotto-Junior, P. G. Santiago, C. A. L. Cardoso, L.
494 M. De Souza, C. Morand, T. A. Costa and E. L. Cardozo-Junior, *J Agric*
495 *Food Chem*, 2017, **65**, 10093–10100.
- 496 24 S. M. Wolff, A. C. da Silveira and M. Lazzarotto, *Iniciação Científica*
497 *Cesumar*, 2019, **21**, 45.
- 498 25 B. de B. Neto, I. Spacino. Scarminio and R. Edward. Bruns, *Como fazer*
499 *experimentos : pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria (4a.*
500 *ed.)*., Grupo A - Bookman, 2010.
- 501 26 P. Peralta-Zamora, J. L. de Moraes and N. Nagata, *Engenharia Sanitaria e*
502 *Ambiental*, 2005, **10**, 106–110.
- 503 27 E. Gil-Martín, T. Forbes-Hernández, A. Romero, D. Cianciosi, F. Giampieri
504 and M. Battino, *Food Chem*, 2022, **378**, 131918.
- 505 28 P. Panja, *Curr Opin Food Sci*, 2018, **23**, 173–182.
- 506 29 G. Derringer and R. Suich, *Journal of Quality Technology*, 1980, **12**, 214–
507 219.
- 508 30 J. de C. O. Sardi, I. A. Freires, J. G. Lazarini, J. Infante, S. M. de Alencar
509 and P. L. Rosalen, *Microb Pathog*, 2017, **105**, 280–287.
- 510 31 V. L. Singleton and J. A. Jr. Rossi, *Am J Enol Vitic*, 1965, **16**, 144.
- 511 32 W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier and C. Berset, *LWT - Food Science and*
512 *Technology*, 1995, **28**, 25–30.
- 513 33 R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-
514 Evans, *Free Radic Biol Med*, 1999, **26**, 1231–1237.
- 515 34 T. F. F. da Silveira, A. D. Meinhart, T. C. L. de Souza, E. C. E. Cunha, M.
516 R. de Moraes, J. T. Filho and H. T. Godoy, *Plant Foods for Human Nutrition*,
517 2017, **72**, 219–223.

- 518 35 S. Balzan, A. Hernandez, C. L. Reichert, C. Donaduzzi, V. A. Pires, A.
519 Gasparotto and E. L. Cardozo, *Fitoterapia*, 2013, **86**, 115–122.
- 520 36 J. N. Uecker, J. P. Schneider, J. H. Cerqueira, J. A. A. Rincón, F. T.
521 Campos, A. Schneider, C. C. Barros, R. Andreazza, I. B. Jaskulski and S.
522 Pieniz, *Food Science and Technology*, 2019, **39**, 620–626.
- 523 37 C. W. Wan, C. N. Y. Wong, W. K. Pin, M. H. Y. Wong, C. Y. Kwok, R. Y. K.
524 Chan, P. H. F. Yu and S. W. Chan, *Phytotherapy Research*, 2013, **27**, 545–
525 551.
- 526 38 G. M. E. Hussein, H. Matsuda, S. Nakamura, T. Akiyama, K. Tamura and
527 M. Yoshikawa, *Phytomedicine*, 2011, **19**, 88–97.
- 528 39 D. P. Arçari, W. Bartchewsky, T. W. dos Santos, K. A. Oliveira, C. C.
529 DeOliveira, É. M. Gotardo, J. Pedrazzoli, A. Gambero, L. F. C. Ferraz, P.
530 de O. Carvalho and M. L. Ribeiro, *Mol Cell Endocrinol*, 2011, **335**, 110–
531 115.
- 532 40 J.-H. Jung and Y.-I. Hur, *The Korean Journal of Obesity*, 2016, **25**, 197–
533 206.
- 534 41 S. Y. Kim, M. R. Oh, M. G. Kim, H. J. Chae and S. W. Chae, *BMC*
535 *Complement Altern Med*, , DOI:10.1186/S12906-015-0859-1.
- 536 42 M. C. Cittadini, G. Repossi, C. Albrecht, R. Di Paola Naranjo, A. R. Miranda,
537 S. de Pascual-Teresa and E. A. Soria, *Phytotherapy Research*, 2019, **33**,
538 1142–1149.
- 539 43 F. E. Santiano, M. de los Á. Fernández, M. Espino, L. E. Zyla, L. Rey, S. E.
540 Gómez, F. A. Bruna, V. Pistone-Creydt, E. Pietrobon, R. Pérez Elizalde, M.
541 F. Silva, R. W. Carón and C. M. López Fontana, *Nutrition*, 2023, **108**,
542 111957.
- 543 44 Y. Sato, S. Itagaki, T. Kurokawa, J. Ogura, M. Kobayashi, T. Hirano, M.
544 Sugawara and K. Iseki, *Int J Pharm*, 2011, **403**, 136–138.
- 545 45 A. Lorini, F. M. Damin, D. N. de Oliveira, T. Ramires, C. V. Rombaldi, E. da
546 R. Zavareze, Á. R. G. Dias, H. T. Godoy, W. P. da Silva, V. Galli and A. D.
547 Meinhart, *J Environ Sci Health B*, 2022, **57**, 23–38.
- 548 46 A. D. Meinhart, T. F. F. da Silveira, R. A. Silva, F. M. Damin, R. E. Bruns
549 and H. T. Godoy, , DOI:10.1007/s12161-017-0847-9.
- 550 47 Q.-W. Zhang, L.-G. Lin and W.-C. Ye, *Chin Med*, 2018, **13**, 20.
- 551 48 A. D. Meinhart, F. M. Damin, L. Caldeirão, M. De, J. Filho, L. Cardoso Da
552 Silva, L. Da, S. Constant, J. T. Filho, R. Wagner and H. T. Godoy, ,
553 DOI:10.1016/j.jfca.2019.103244.
- 554 49 L. A. Firmino and M. P. S. Miranda, *Rev. Bras. Pl. Med*, 2015, 436–443.
- 555 50 CCOHS, OSH Answers Fact Sheets.

556 51 G. K. Wijesinghe, F. C. Maia, T. R. de Oliveira, S. N. B. de Feiria, F. Joia,
557 J. P. Barbosa, G. C. Boni, J. de C. O. Sardi, P. L. Rosalen and J. F. Höfling,
558 *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2020, **115**, e200349.

559 52 A. S. M. C. Saliba, A. G. de O. Sartori, P. S. Batista, J. E. P. G. do Amaral,
560 N. O. da Silva, M. Ikegaki, P. L. Rosalen and S. M. de Alencar, *Food Chem*,
561 , DOI:10.1016/j.foodchem.2022.134330.

562 53 F. de Andrade, C. A. C. de Albuquerque, M. Maraschin and E. L. da Silva,
563 *Food and Chemical Toxicology*, 2012, **50**, 328–334.

564 54 N. Browne, M. Heelan and K. Kavanagh, , DOI:10.4161/viru.25906.

565 55 C. A. Kwadha, G. O. Ong'amo, P. N. Ndegwa, S. K. Raina, A. T. Fombong,
566 M. J. Stout, J. Davis, R. Diaz and J. M. Beuzelin, *Insects 2017, Vol. 8, Page*
567 *61*, 2017, **8**, 61.

568 56 M. M. Duarte, M. M. Gabira, J. de Cássia Tomasi, E. Amano, A. C.
569 Nogueira and I. Wendling, *Pesqui Agropecu Bras*, 2022, **57**, e02441.

570 57 D. A. Bisognin, L. V. da Luz, K. H. Lencina, C. O. dos Santos and C. K.
571 Sautter, *Pesqui Agropecu Bras*, 2019, **54**, e00856.

572 58 L. R. P. García and V. L. Del Bianchi, *Brazilian Journal of Food Technology*,
573 2015, **18**, 307–313.

574 59 M. M. Santi, ; Sanches, ; Silva and ; Santos, *Rev. Bras. Pl. Med*, 2014, **16**,
575 256–261.

576 60 A. F. Faria, M. C. Marques and A. Z. Mercadante, *Food Chem*, 2011, **126**,
577 1571–1578.

578 61 L. G. Riachi, D. L. R. Simas, G. C. Coelho, P. S. Marcellini, A. J. Ribeiro da
579 Silva and C. A. Bastos de Maria, *Food Chem*, 2018, **266**, 317–322.

580 62 A. A. F. Zielinski, C. W. I. Haminiuk, A. Alberti, A. Nogueira, I. M. Demiate
581 and D. Granato, *Food Research International*, 2014, **60**, 246–254.

582 63 E. P. da Cruz, E. T. Jansen, L. M. Fonseca, H. C. dos S. Hackbart, T. J.
583 Siebeneichler, J. B. Pires, E. A. Gandra, C. V. Rombaldi, E. da R. Zavareze
584 and A. R. G. Dias, *Food Chem*, 2023, **406**, 134954.

585 64 A. Akbarmehr, S. H. Peighambardoust, M. Soltanzadeh, S. M. Jafari and
586 K. Sarabandi, *Int J Biol Macromol*, 2023, **234**, 123678.

587 65 F. N. dos Santos, E. J. D. de Souza, T. Jéssica Siebeneichler, J. Buchveitz
588 Pires, D. Hüttner Kringel, A. Dillenburg Meinhart, A. Renato Guerra Dias
589 and E. da Rosa Zavareze, *Food Anal Methods*, 2022, **15**, 2524–2536.

590 66 P. S. Hornung, S. Ávila, F. B. Apea-Bah, J. Liu, G. L. Teixeira, R. H. Ribani
591 and T. Beta, *J Polym Environ*, 2020, **28**, 1696–1709.

Table 1 Coded and decoded variables and responses obtained in the multivariate design to obtain an extract from the co-product of *Ilex Paraguariensis*.

Test	Coded Variables and Levels ^a			Decoded Variables and Levels			Concentration (g 100 g ⁻¹) ^b						
	A	B	C	Time (min)	Temperature (°C)	Volume (mL)	5-CQA	3-CQA	4-CQA	3,4-DQA	3,5-DQA	4,5-DQA	Sum
1	-1	-1	-1	16,13	41,13	10,06	0,58	0,54	0,54	0,10	0,61	0,66	3,03
2	1	-1	-1	48,87	41,13	10,06	0,99	1,00	1,00	0,19	1,22	1,35	5,75
3	-1	1	-1	16,13	73,87	10,06	0,66	0,59	0,59	0,11	0,66	0,72	3,33
4	1	1	-1	48,87	73,87	10,06	0,57	0,52	0,52	0,11	0,55	0,63	2,89
5	-1	-1	1	16,13	41,13	24,94	1,39	1,27	1,27	0,25	1,62	1,80	7,60
6	1	-1	1	48,87	41,13	24,94	1,35	1,34	1,34	0,22	1,44	1,59	7,29
7	-1	1	1	16,13	73,87	24,94	1,35	1,25	1,25	0,29	1,57	1,84	7,56
8	1	1	1	48,87	73,87	24,94	1,38	1,28	1,28	0,37	1,47	1,78	7,56
9	-1,68	0	0	5	57,5	17,5	0,62	0,58	0,58	0,12	0,78	0,93	3,62
10	1,68	0	0	60	57,5	17,5	0,69	0,63	0,63	0,13	0,74	0,83	3,65
11	0	-1,68	0	32,5	30	17,5	0,61	0,57	0,57	0,11	0,70	0,79	3,34
12	0	1,68	0	32,5	85	17,5	0,99	0,92	0,92	0,25	1,03	1,25	5,37
13	0	0	-1,68	32,5	57,5	5	0,35	0,31	0,31	0,06	0,34	0,36	1,72
14	0	0	1,68	32,5	57,5	30	1,53	1,43	1,43	0,32	1,89	2,30	8,90
15	0	0	0	32,5	57,5	17,5	1,02	0,94	0,94	0,20	1,18	1,33	5,60
16	0	0	0	32,5	57,5	17,5	1,01	0,92	0,92	0,19	1,15	1,31	5,51
17	0	0	0	32,5	57,5	17,5	1,26	1,18	1,18	0,24	1,39	1,60	6,86

^a A: time (min), B: temperature (°C) and C: volume (mL); ^b 5-CQA: 5- *caffeoylquinic acids*; 3-CQA: 3- *caffeoylquinic acids*; 4-CQA: 4- *caffeoylquinic acids*; 3,4-DQA: 3,4- *dicafeoylquinic acids*; 3,5-DQA: 3,5- *dicafeoylquinic acids*; 4,5-DQA: 4,5- *dicafeoylquinic acids*.

Table 2. Mathematical models, significant coefficients, adjustment test and significance of the models generated to explain the behavior of the variables

Compounds ^a	Model	Significant model coefficients (standard error) ^b										Lack of fit (F)	Regressão significance (F)
		Intercept	A	B	C	A ²	B ²	C ²	AB	AC	BC		
5-CQA	Linear	0,96 (0,050)			0,34 (0,056)							2,32	12,60
3-CQA	Linear	0,90 (0,050)			0,32 (0,055)							2,19	11,31
4-CQA	Linear	0,90 (0,0503)			0,32 (0,055)							2,19	11,31
3,4-DQA	Linear	0,19 (0,012)			0,077 (0,013)							3,68	13,53
3,5-DQA	Linear	1,08 (0,061)			0,42 (0,068)							4,20	12,36
4,5-DQA	Linear	1,24 (0,070)			0,51 (0,078)							3,55	14,12
Sum	Linear	5,27 (0,29)			1,98 (0,32)							2,71	12,93

^a 5-CQA: 5- *caffeoylquinic acids*; 3-CQA: 3- *caffeoylquinic acids*; 4-CQA: 4- *caffeoylquinic acids*; 3,4-DQA: 3,4- *dicafeoylquinic acids*; 3,5-DQA: 3,5- *dicafeoylquinic acids*; 4,5-DQA: 4,5- *dicafeoylquinic acids*; ^b A: time (min); B: temperature (°C); C: volume (mL).

Table 3. Desirability criteria, optimal condition predicted by the models and the predicted concentration and experimentally observed concentration

Variables and responses ^a	Desejability criterious for variables and concentration			Importance	Optimal condition predicted (Coded and Decoded)	Predicted concentration (g 100 g ⁻¹)	Observed concentrations (g 100 g ⁻¹)
	Goal	Lower limit	Upper limit				
Time (min)	Minimize	-1,68	1,68	3	-1,68 (5 min)		
Temperature (°C)	Minimize	-1,68	1,68	3	-1,68 (30 °C)		
Volume (mL)	Is in range	-1,68	1,68	3	1,68 (30 mL)		
5-CQA	Maximize	0,35	1,53	5		1,45	1,41±0,01
3-CQA	Maximize	0,31	1,43	5		1,36	1,27±0,01
4-CQA	Maximize	0,31	1,43	5		1,36	1,27±0,01
3,4-DQA	Maximize	0,06	0,37	5		0,26	0,24±0,01
3,5-DQA	Maximize	0,34	1,89	5		1,77	1,55±0,01
4,5-DQA	Maximize	0,36	2,3	5		2,03	1,62±0,02
Sum	Maximize	1,72	8,9	5		8,22	7,36±0,07

^a 5-CQA: 5- *caffeoylquinic acids*; 3-CQA: 3- *caffeoylquinic acids*; 4-CQA: 4- *caffeoylquinic acids*; 3,4-DQA: 3,4- *dicafeoylquinic acids*; 3,5-DQA: 3,5- *dicafeoylquinic acids*; 4,5-DQA: 4,5- *dicafeoylquinic acids*.

Table 4. Content of chlorogenic acids in different volumes of extracting solution.

Volume of water (mL)	Concentration (g 100 g ⁻¹) ^a
30	7,36 ± 0,01 ^a
50	6,97 ± 0,05 ^b
70	7,34 ± 0,32 ^a
90	7,16 ± 0,25 ^a
110	7,34 ± 0,48 ^a
130	7,01 ± 0,17 ^a

^a Equal letters indicate equal samples and different letters indicate that there is a significant difference using the Tukey test, 95% confidence.

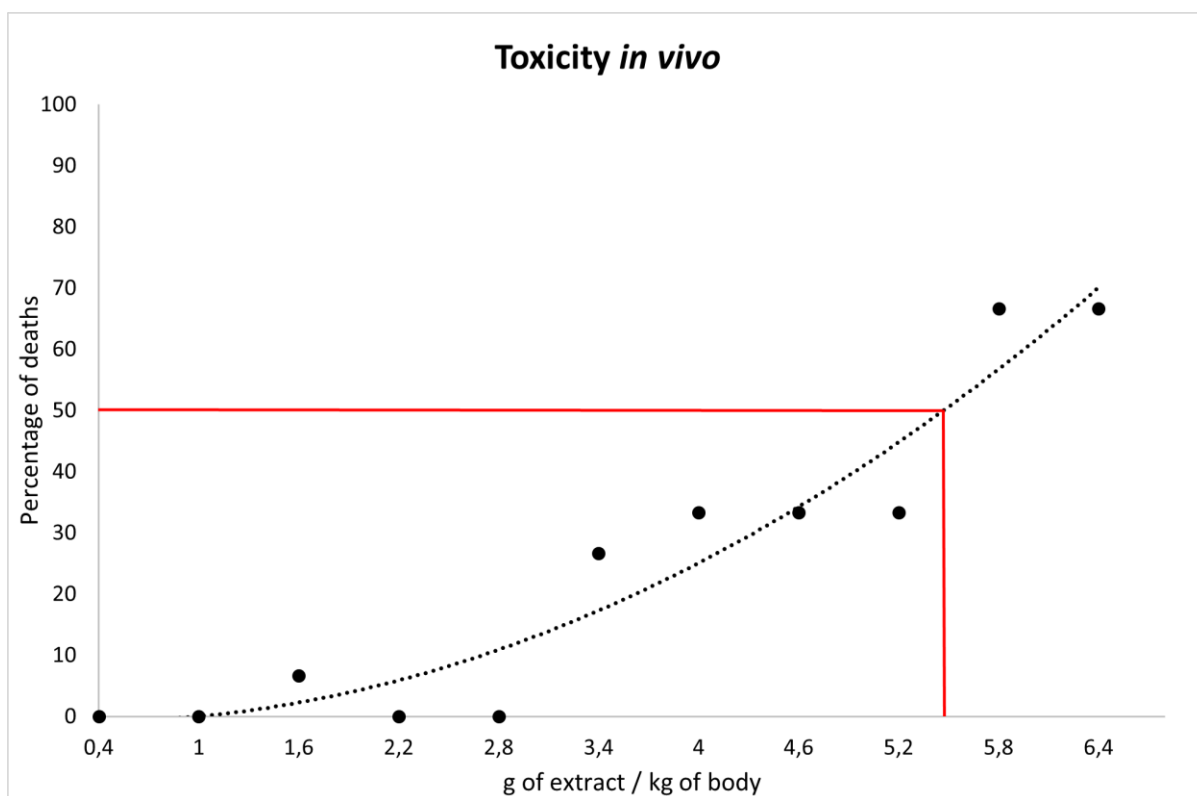


Fig. 1 Graph of survival percentage in the analysis of toxicity in *Galleria mellonella* larvae with aqueous extract of *Ilex paraguariensis* within 72 hours.

6. ARTIGO 2: ENCAPSULAMENTO DOS ÁCIDOS CLOROGÊNICOS DO COPRODUTO DE *ILEX P.* EM FIBRAS DE AMIDO DE TRIGO POR *ELECTROSPINNING*

1 **Encapsulamento dos ácidos clorogênicos do coproduto de *I.***
2 ***paraguariensis* em fibras de amido de trigo por *electrospinning***

3
4 Yasmin Völz Bezerra Massaut, Alexandra Gomes Lizandra Rosas, Felipe Nardo
5 dos Santos, Laura de Vasconcelos Costa, Thaís Regina Rodrigues Vieira,
6 Thamyres Cesar de Albuquerque Sousa, Igor Henrique de Lima Costa, Helen
7 Cristina dos Santos Hackbart, Adriana Dillenburg Meinhart

8
9 **Resumo:** A parte externa do resíduo agrícola da poda de colheita de *Ilex*
10 *paraguariensis* (coproduto de *I. paraguariensis*) é rica em ácidos fenólicos,
11 porém, sensíveis a fatores ambientais como luz e temperatura, necessitando de
12 alternativas para preservar a atividade antioxidante. Nesse sentido, foi elaborado
13 um método para encapsular os ácidos clorogênicos presentes no extrato
14 otimizado do coproduto de *I. paraguariensis* em fibras de amido de trigo pela
15 técnica de *electrospinning*. O extrato foi incorporado nas fibras ultrafinas em
16 diferentes concentrações (0%, 5%, 10% e 15%). As fibras foram caracterizadas,
17 apresentando morfologias homogêneas, lisas e uniformes, com diâmetros
18 médios variando de 195 a 218 nm. As soluções poliméricas aumentaram a
19 viscosidade e condutividade conforme o aumento da concentração de extrato,
20 aumentando o diâmetro médio das fibras. As fibras apresentaram eficiência de
21 encapsulamento entre 90,8% e 63,7%, atividade antioxidante frente aos radicais
22 ABTS e DPPH de 97% e 33,13%, nas fibras de 15% e 10% de extrato,
23 respectivamente. O extrato do coproduto apresentou maior estabilidade térmica
24 quando encapsulado, com diminuição da taxa de degradação pela análise
25 termogravimétrica. A análise de FTIR indicou a presença de interações entre o
26 coproduto e o amido de trigo, com bandas características e sugerindo
27 encapsulamento do extrato. O ângulo de contato diminuiu na medida em que
28 aumentou a adição do extrato nas fibras. Os dados expressam o potencial uso
29 de fibras de amido de trigo para o encapsulamento do extrato do coproduto de *I.*
30 *paraguariensis* e possível aplicação em alimentos.

31
32 **Palavras-chave:** antioxidantes, compostos bioativos, resíduo agrícola, fibras
33 ultrafinas

1 INTRODUÇÃO

Com a alta procura pelos consumidores por produtos mais saudáveis, a indústria de alimentos busca desenvolver novas tecnologias para atender a demanda e garantir alimentos mais nutritivos e seguros para o consumo humano (OLIVEIRA et al., 2020). As fibras poliméricas são estruturas utilizadas para a produção de materiais em escala nano ou micrométrica e, na área alimentícia, são utilizadas para melhorar propriedades desejáveis nos alimentos, mantendo a estabilidade físico-química de moléculas, além da possibilidade da liberação controlada de compostos bioativos (MIN et al., 2022; KIM et al., 2016; MEI et al., 2013; PANTHI et al., 2017).

A técnica de *electrospinning* é utilizada para a produção de fibras poliméricas e envolve a aplicação de um campo elétrico sob uma solução polimérica. É uma técnica de alta eficiência, simples e bom custo-benefício, muito utilizada para a encapsulação de compostos bioativos, com a capacidade de proteger compostos sensíveis a fatores ambientais e a mascarar características sensoriais indesejáveis (LIM, 2021; LIM; MENDES; CHRONAKIS, 2019; PERSANO et al., 2013). Os parâmetros utilizados na técnica podem ser controlados, formando fibras de diferentes morfologias, conforme o desejado (ASHRAF et al., 2018).

Diferentes materiais podem ser utilizados e dentre os polímeros naturais empregados encontram-se a zeína, a gelatina, a ciclodextrina e amidos (FONSECA et al., 2021; PANDEY et al., 2020; TANG et al., 2019). O amido é abundante na natureza, possui baixo custo, facilidade de obtenção, comestível e biodegradável. Atualmente é estudado como material de parede na técnica de *electrospinning* para a encapsulação de compostos bioativos de alimentos (PIRES et al, 2022; CRUZ et al, 2021; FONSECA et al., 2019). No entanto, possui limitações devido suas propriedades hidrofílicas e propriedades mecânicas inferiores comparado a outros materiais.

Amidos com maior teor de amilose apresentam melhor comportamento no processo de eletrofiação, pois a conformação das cadeias de amilose em bobinas aleatórias apresenta melhor emaranhamento, importante na formação de fibras (MENDES, STEPHANSEN & CHRONAKIS, 2017; FONSECA et al.,

2019). Fibras de amido de milho de alto teor de amilose foram produzidas e apresentaram regularidade, com estrutura lisa e contínua (KONG & ZIEGLER, 2012), assim como fibras de amido solúvel de batata para encapsular óleo essencial de tomilho, apresentaram morfologia homogênea, alta eficiência de encapsulação – 99,1% a 99,8% – e alta proteção dos compostos (FONSECA et al., 2020b). O amido de trigo possui alto teor de amilose, demonstrando alto potencial para a produção de fibras, entretanto, ainda não foi estudado para a encapsulação de compostos bioativos por *electrospinning*.

A *Ilex paraguariensis* é uma planta nativa da América do Sul, utilizada principalmente em bebidas produzidas a partir de suas folhas e ramos finos (DE GODOY et al., 2013; MESQUITA et al., 2021; VIEIRA et al., 2023). A planta possui elevada concentração de compostos fenólicos, principalmente os ácidos fenólicos, e são reportados os seus efeitos benéficos quanto a atividades antioxidante, anti-inflamatória, hipolipidêmica, hipocolesterolêmico, antimicrobiana, hipoglicemiante, anticancerígena e antiobesogênica (ALI et al., 2017; GARCIA-LAZARO et al., 2020; KUNGEL et al., 2018; MESQUITA et al., 2021; SANTIANO et al., 2023; UECKER et al., 2019).

Durante a colheita da *I. paraguariensis* é realizada a poda da planta, objetivando reduzir sua altura para viabilizar a próxima colheita (LORINI et al., 2021). Nesta poda são gerados resíduos, que correspondem a talos maiores que 10 mm de diâmetro, não utilizados ainda em produtos comerciais. Estudos da casca do resíduo (coproduto) demonstram o grande potencial pela presença de metabólitos secundários (ácidos clorogênicos), em quantidade semelhante ao encontrado nas folhas e talos finos (PAGLIOSA et al., 2010). Os ácidos clorogênicos são sensíveis à luz, a presença de oxigênio e a temperaturas elevadas, necessitando de alternativas que promovam maior estabilidade dos compostos e mantenham sua função biológica ao longo de todo o processamento (BAKOWSKA; KUCHARSKA; OSZMIAŃSKI, 2003; BAVARESCO, 2020).

Encontra-se na literatura técnicas de encapsulação para o extrato de *I. paraguariensis* através do desenvolvimento de filmes biodegradáveis e comestíveis utilizando fécula de mandioca (JARAMILLO et al., 2016) e

eletrofiação de utilizando zeína como material polimérico (BRUNI et al., 2020). Porém, ainda não há relatos da produção de fibras poliméricas a partir de amido de trigo para a casca *I. paraguariensis*. Por este motivo, o objetivo deste estudo foi produzir e caracterizar fibras de amido de trigo pela técnica de *electrospinning* como alternativa para a proteção e manutenção dos ácidos clorogênicos presentes no extrato aquoso otimizado do coproduto de *I. paraguariensis*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do resíduo

As cascas dos talos grossos para a obtenção do resíduo de *I. paraguariensis* foram adquiridas na Associação de Produtores de Erva Mate de Machadinho/RS/Brasil, da cultivar Cambona 4, em erval cultivado em pleno sol. As amostras foram coletadas em novembro de 2022 (27°32'35.5"S e 51°39'46.9" W). As cascas passaram pelos processos de secagem em estufa a 135° C e foram trituradas até a obtenção de granulometria média de 0,5 mm de diâmetro. O resíduo foi acondicionado em embalagens plásticas fechadas e armazenadas em -18 °C até o momento de utilização.

2.2 Preparo do extrato aquoso

Para a preparação do extrato aquoso do coproduto de *I. paraguariensis* foi utilizado o método descrito por Massaut et al., (2023), no qual 0,25 g de coproduto e 30 mL de água filtrada foram acondicionados em frascos âmbar hermeticamente fechados. Os frascos foram levados a um banho maria à 30 °C, sob agitação magnética, durante 5 minutos. Os extratos foram filtrados em papel filtro e congelados para, após, serem liofilizados. Os liofilizados foram armazenados em freezer à -18 °C até o momento da utilização.

2.3 Extração do amido de trigo, rendimento, umidade e amilose

O amido de trigo foi extraído de acordo com o método descrito por BARANZELLI et al., (2018), com adaptações. A farinha de trigo (Tordilho, Pelotas, Brasil) foi adicionada de solução salina na proporção 2:1, p/v (1000 g

de farinha e 500 mL de solução de cloreto de sódio 2%) e deixada em repouso em um recipiente coberto com água destilada por aproximadamente 30 min. Transcorrido o tempo, a massa foi lavada com água destilada até a completa remoção do amido. A suspensão de amido foi filtrada em uma tela de malha de 200 µm. O filtrado foi centrifugado a 6500xg por 10 min e removida à camada superior. O material decantado foi novamente suspenso em água destilada. Este procedimento foi realizado três vezes. O amido foi seco em estufa com circulação de ar a 40 °C e, ao final, o amido foi moído em moinho de facas, peneirado em tela de malha de 200 µm e armazenado em recipiente plástico vedado até o momento do uso. O rendimento de extração foi determinado pela razão entre a quantidade total de farinha e a quantidade final de amido extraído, expressos em porcentagem.

A umidade do amido foi determinada através do método de ADOLFO LUTZ (1985) em triplicata. O teor de amilose foi determinado seguindo o método de Chen et al., (2021) com adaptações. Inicialmente foi pesado 30 mg de amido de trigo e disperso totalmente em tubo de ensaio com 400 µL de solução de etanol 95% e 3,6 mL de solução de hidróxido de sódio 1 M. Foi homogeneizado durante 10 segundos em vórtex e, em seguida, a mistura foi aquecida em banho maria fervente durante 10 minutos para a gelatinização total do amido. Após, resfriou-se à temperatura ambiente e adicionou-se 25 mL de água deionizada. Após, foi adicionado 3,8 mL de solução de Lugol (2,00 g de iodeto de potássio e 0,200 g de iodo por 100 mL de solução) em 200µL de solução de teste, foi agitado e ficou em repouso por 10 min. A absorbância da solução foi medida a 620 nm ajustando o espectrofotômetro (Molecular Devices, SpectraMax 190, Estados Unidos da América) para zero com hidróxido de sódio 0,09 M. A curva padrão foi feita a partir de padrão de amido de batata, de teor de amilose conhecido. O teor de amilose na amostra foi calculado de acordo com o valor de absorbância e a curva padrão.

2.4 Produção de fibras de amido de trigo pela técnica de *electrospinning*

2.4.1 Preparo das soluções poliméricas

Inicialmente, foram realizados testes preliminares com diferentes concentrações de amido de trigo e dos parâmetros para definir as melhores

condições do processo. Para isso, foram preparadas soluções poliméricas de amido de trigo sem adição de extrato nas concentrações de 15%, 20% e 30% (m/v) em ácido fórmico a 75% e 85% (v/v, em água ultrapura) e homogeneizadas durante 24 h para a completa gelatinização do amido. Foram eletrofiadas em estação de *electrospinning* e analisadas em microscópio a formação de fibras.

Após definidos os parâmetros, foram preparadas as soluções de amido conforme citado e, depois de transcorrido o tempo, adicionadas concentrações de extrato liofilizado de coproduto de *I. paraguariensis* e homogeneizadas durante 30 min até a completa dissolução. As concentrações utilizadas foram 0%, 5%, 10%, 15%, 20% e 30% - onde 0% foi a solução controle, sem adição do extrato de *I. paraguariensis*. Foi realizado o processo de eletrofiação e as fibras resultantes analisadas em microscópico e definidas a concentrações a serem utilizadas.

2.4.2 Caracterização das soluções poliméricas – viscosidade e condutividade

As soluções poliméricas do controle e com as concentrações de extrato de *I. paraguariensis* foram caracterizadas pela condutividade elétrica, utilizando 5 mL de cada solução polimérica, com medidas realizadas em triplicata a temperatura ambiente (20 ± 1 °C) em condutímetro (Tecnopon, mCA 150P, Brasil).

A viscosidade aparente das soluções poliméricas foi realizada com auxílio de um viscosímetro digital (Brookfield, DV-II, EUA). Para essa análise, utilizou-se o *spindle* nº 18 acoplado ao equipamento e, aproximadamente, 10 mL de cada solução polimérica, com medidas realizadas em triplicata a temperatura ambiente (22 ± 1 °C).

2.4.3 Eletrofiação das fibras pela técnica de *electrospinning*

A produção das fibras foi realizada em uma estação de *electrospinning* composta por uma fonte de alimentação de alta tensão (INSTOR, INSES-HV30, Brasil), bomba de infusão de seringas (KD Scientific, Model 100, Holliston, UK) e um coletor de aço inoxidável coberto com folha de alumínio para a deposição

do material. As soluções poliméricas foram dispostas individualmente em seringa de plástico de 3 mL acoplada a uma agulha de aço inoxidável de 0,8 mm de diâmetro. Os parâmetros definidos e utilizados para o processo de eletrofiação foram: vazão de bombeamento das soluções poliméricas em 0,80 mL/h, tensão aplicada de 23 kV e distância de 20,5 cm, conforme definido após os testes preliminares citados na seção de preparo das soluções poliméricas. A umidade relativa foi controlada em $45 \pm 5\%$ utilizando um desumidificador e temperatura ambiente de 23 ± 2 °C.

2.4.4 Morfologia e distribuição de tamanho das fibras

A morfologia das fibras com e sem extrato de coproduto de *I. paraguariensis* foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Jeol, JSM - 6610LV, EUA). Foram retiradas uma porção do material depositado em papel alumínio e fixadas em porta amostra com fita de carbono dupla face, recobertas com ouro utilizando um metalizador (Sputtering, Denton Vacuum Desk V, EUA) e analisadas com uma aceleração de tensão de 10 kV. Foram capturadas micrografias em magnitudes de 1.000x e 5.000x. O diâmetro médio e a distribuição de tamanho das amostras foram obtidas através das imagens com base na medição de setenta fibras selecionadas aleatoriamente, utilizando o programa ImageJ (versão 2015).

2.4.5 Eficiência de encapsulamento

A eficiência de encapsulamento (EE) das fibras de amido de trigo encapsulados com extrato de *I. paraguariensis* foi avaliada conforme o método descrito por Cruz et al., (2023), com adaptações. As amostras de fibras foram pesadas 10 mg e adicionado de 800 µL de solução de ácido fórmico (75%, em água ultra pura, v/v). A mistura foi homogeneizada em vórtex durante 2 min e, posteriormente, foi adicionado 2,2 mL de solução de acetonitrila:água ultra pura (1:1 v/v), homogeneizado em vórtex durante 30 s e centrifugado durante 10 min, a 4 °C e 6000 rpm. As amostras foram analisadas em espectrofotômetro (Jenway Model 6705 Scanning UV/Visible Spectrophotometers) a 325 nm. A identificação dos compostos presentes nas fibras foi confirmada pela comparação com o

composto não encapsulado. A EE foi apresentada em porcentagem (%) e calculada conforme a Equação 1:

$$EE (\%) = \frac{\text{Quantidade de composto} - \text{quantidade nas fibras}}{\text{Quantidade real de composto}} \times 100$$

2.4.6 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR – Fourier Transform Infrared Spectroscopy) das fibras e do composto puro (coproduto de *I. paraguariensis*) foi realizada na Central Analítica da Universidade Federal de Pelotas. O equipamento foi previamente calibrado de acordo com as especificações do fabricante. As análises foram realizadas em equipamento FTIR IRAffinity-1 (ATR, Shimadzu), em resolução de 400 – 4000 cm⁻¹. Uma quantidade de amostra suficiente para cobrir o cristal do equipamento foi adicionada e realizadas 60 varreduras com apodização na função Happ-Genzel. Para aquisição dos dados, expressos em número de onda, foi utilizado o programa IRsolution versão 1.60 (Shimadzu Corporation).

2.4.7 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise para as curvas termogravimétricas foi realizada na Central Analítica da Universidade Federal de Pelotas. O equipamento foi previamente calibrado de acordo com as especificações do fabricante. Para a análise, foram utilizadas aproximadamente 5 mg das amostras - das fibras, do amido puro e do composto puro (extrato liofilizado do coproduto) - e acondicionadas em suporte de α -alumina aberto (Shimadzu). As análises foram realizadas em equipamento TG-60 (TA-60WS, Shimadzu, Kyoto, JP), sob atmosfera de nitrogênio com vazão de 50 mL/min, temperatura inicial de 30 °C, taxa de aquecimento de 10 °C/min até alcançar a temperatura final de 600 °C. Para aquisição dos dados, temperatura inicial (T_{onset}), temperatura máxima do evento (T_{p}), variação de temperatura (ΔT), perda de massa (Δm_{n}) e massa do resíduo (Δm_{R}), foi utilizado o programa TA-60WS versão 2.20 (Shimadzu Corporation).

2.4.8 Ângulo de contato das fibras

As fibras de amido de trigo incorporadas com diferentes concentrações de extrato de coproduto de *I. paraguariensis*, foram avaliadas em relação a sua propriedade de molhabilidade, através da técnica de gota séssil, avaliando o ângulo de contato estático (θ) por tensiômetro óptico Theta Lite (Biolin Scientific, modelo TL100, SE). Para avaliação do θ , entre a membrana das fibras e a água ultra pura, foi gotejado 7 μ L ($n = 3$) sobre a superfície de lâminas de vidro contendo as amostras de fibras. Foi registrada a absorção da água pelas fibras através de câmera digital do próprio equipamento no modo 20 FPS (quadros por segundo), do tempo zero até 20 s. A água ultra pura, obtida em sistema de purificação de água (Milli-Q®, Synergy®, CA), foi utilizada como um líquido modelo.

2.4.9 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do coproduto de *I. paraguariensis* não encapsulado e das fibras com e sem o coproduto, foram avaliadas frente ao radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e ao radical 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS).

O método para avaliar o poder redutor por DPPH, foram pesadas 1 mg de amostras em tubos de centrífuga e adicionado 3,9 mL de DPPH (preparado com metanol e absorbância ajustada em $1,10 \pm 0,02$), e agitadas durante 30 s em vórtex. Após, foram mantidas durante 2 h e 30 min no escuro a temperatura ambiente (22 ± 2 °C). A absorbância das amostras foi medida em espectrofotômetro a 515 nm (Jenway Model 6705 Scanning UV/Visible Spectrophotometers). A atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi calculado e expresso em % de inibição usando a Equação 2:

$$\text{Eq2} \quad \text{Inibição (\%)} = \frac{Abs_{branco} - Abs_{amostra}}{Abs_{branco}} \times 100$$

Para a atividade frente ao radical ABTS, 5 mL da solução estoque de ABTS (7,4 mM) foi misturada com 88 μ L de persulfato de sódio (140 mM) e mantida no escuro durante 16 h a temperatura ambiente (22 ± 2 °C). Após, a solução foi diluída com etanol para ajustar a absorbância entre $0,70 \pm 0,05$ nm, em 734 nm. Foram pesados 1 mg de amostra em tubos de centrífuga e

adicionado 3 mL da solução de ABTS. Em seguida, foram misturadas durante 30 s em vórtex e deixadas no escuro durante 30 min em temperatura ambiente (22 ± 2 °C). A absorbância das amostras foi medida a 734 nm (Jenway Model 6705 Scanning UV/Visible Spectrophotometers) e os resultados expressos em percentual de inibição conforme a Equação 2 utilizada para DPPH.

2.4.10 Análise estatística

Os resultados foram tratados através da análise de variância (ANOVA) do programa *Statistica* versão 7.0, pelo teste de Tukey com nível de significância de 95%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Rendimento, umidade e teor de amilose do amido de trigo

Foram realizadas as análises referentes ao amido de trigo. A extração do amido obteve 41,68% de rendimento a partir da farinha de trigo. O amido é o componente principal do endosperma, representando, em um grão inteiro, cerca de 70 a 75%, sendo o restante formado por proteínas (DELCOUR e HOSENEY, 2010; FILIP et al., 2023).

O amido de trigo apresentou 7,49% de umidade. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) as farinhas, amido de cereais e farelos devem ter umidade máxima de 15,0% (g /100 g). O teor de amilose do amido de trigo a partir da farinha, neste estudo, foi de 31,55%. Baranzelli (2018) investigou o teor de amilose em trigo não germinado e trigo germinado em diferentes tempos apresentando de 30,81% a 35,56%. Trigo de diferentes cultivares podem apresentar teores de amilose de 22 a 35% (EL HALAL et al., 2019). A variação dos atributos do grão, incluindo o rendimento de extração e o teor de amilose, estão relacionados a diferenças nas cultivares, nos genótipos, nas condições de plantação, condições climáticas, na forma de extração, dentre outros (SILVEIRA et al., 2020; WANG et al., 2020; ZHANG et al., 2018).

Amidos com alto teor de amilose são interessantes para a produção de fibras, pois, segundo Kong e Ziegler (2012), as moléculas de amilose penetram-se umas nas outras e podem ser bem emaranhadas devido à conformação das hélices em estruturas de bobinas aleatórias. Entretanto, conforme menor conteúdo de amilose, os componentes da amilopectina predominam e dificulta o emaranhamento, devido seu volume. Amidos com alto teor de amilose propiciam melhor eletrofiação, com fibras mais resistentes (CAO et al., 2022).

Vasilyev, Vilensky & Zussman (2019) avaliaram o efeito do teor de amilose nas propriedades reológicas e eletrofiação de soluções com amido de milho e apontaram que amidos com alto teor de amilose são mais propícios à eletrofiação; as fibras resultantes demonstraram alta resistência, rigidez e influenciaram no diâmetro médio das fibras. Entretanto, as fibras com alto teor de amilopectina eram mais fracas e quebradiças.

3.2 Soluções poliméricas

Inicialmente, foram avaliados os parâmetros para definir quais as melhores condições para produzir fibras. Foram produzidas soluções poliméricas teste, nas quais se variaram os parâmetros da concentração da solução de amido (15%, 20% e 30% de amido e 75% e 85% de ácido fórmico). Do mesmo modo, avaliaram-se os parâmetros do processo, variando a vazão de bombeamento (0,8 e 1,0 mL/h) (Figura 1). A distância e a tensão foram fixadas em 20,5 cm e 23 kV, respectivamente, também em testes preliminares.

A avaliação foi realizada visualmente através de microscópio, observando as condições em que produziram fibras mais finas, em maior volume, mais homogêneas e sem a presença de aglomerados. A solução escolhida, para seguir o processo, foi onde se utilizou a concentração de 15% de amido de trigo e 75% de ácido fórmico. A seguir, foram produzidas fibras em diferentes concentrações do extrato liofilizado de coproduto de *I. paraguariensis* (5%, 10%, 15%, 20% e 30%), para definir as concentrações a serem utilizadas neste estudo (Figura 2).

Foram escolhidas as concentrações de 5%, 10% e 15% de coproduto de *I. paraguariensis*. Em resumo, os parâmetros do processo utilizados para a

produção das fibras de amido de trigo incorporados de coproduto de *I. paraguariensis* foram: vazão de bombeamento das soluções poliméricas em 0,80 mL/h, tensão aplicada de 23 kV e distância de 20,5 cm. A umidade relativa foi controlada em $45 \pm 5\%$ utilizando um desumidificador e temperatura ambiente de 23 ± 2 °C.

3.3 Caracterização das soluções poliméricas

3.3.1 Viscosidade e condutividade

A tabela 1 apresenta os resultados de algumas propriedades elétricas e reológicas das soluções poliméricas de amido de trigo contendo diferentes concentrações de extrato de coproduto de *I. paraguariensis*.

Analisando os valores apresentados, podemos observar que a condutividade elétrica (EC) das soluções de amido de trigo aumenta à medida que a concentração de extrato de coproduto de *I. paraguariensis* é aumentado passando de 2,69 mS/cm para 2,89 mS/cm, 3,14 mS/cm e 3,45 mS/cm das fibras de 0%, 5%, 10% e 15%, respectivamente. Isso pode estar relacionado à presença de componentes condutivos dos extratos incorporados nas fibras de *I. paraguariensis*.

A condutividade da solução permite a passagem das cargas elétricas facilitando a interação entre a solução e o coletor, além de promover o alongamento do jato polimérico, no qual é dependente da capacidade da solução em transportação das cargas (COSTA et al., 2012). Quando a condutividade é mais elevada, ocorre maior mobilidade dos íons da solução e, com a aplicação do campo elétrico, tendem a ser direcionados com maior facilidade, resultando em maior alongamento do jato, reduzindo o diâmetro das fibras e evitando a presença de aglomerados (ANTUNES et al., 2017; MERCANTE et al., 2021). O aumento da condutividade não prejudicou o processo, mantendo a formação de jatos estáveis e contínuos, porém, ocorreu aumento diâmetro média das fibras, que pode ser justificado pelo aumento da viscosidade aparente ou outros fatores do processo.

Em relação às propriedades reológicas, ou seja, a relação entre a tensão aplicada e a taxa de deformação das soluções, pode-se perceber que em relação a tensão de escoamento (T_0), não houve diferença significativa ($p < 0,05$), no entanto, os valores diminuem à medida que a concentração de extrato de coproduto de *I. paraguariensis* aumenta, o que significa que é necessária uma menor força para iniciar o escoamento conforme se adiciona mais extrato. Em relação ao índice de consistência (k), o qual também não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) os valores tiveram um aumento à medida que a concentração de extrato de coproduto aumenta isso indica que a viscosidade da solução aumenta com a adição de mais extrato. Por fim, no índice de comportamento de fluxo (n) percebe-se que os valores se mantêm próximos de 1 para todas as concentrações testadas, sendo o maior valor, na concentração de 15%, isso sugere que o comportamento reológico das soluções é próximo ao newtoniano, independentemente da concentração de extrato de coproduto.

A viscosidade de uma solução aumenta à medida que ocorre aumento da sua concentração, resultando em maior emaranhamento das cadeias, estabilizando o jato para a formação das fibras (COSTA et al., 2012). Apesar do aumento da viscosidade das soluções, não foi suficiente para impossibilitar o processo de eletrofiação, ocorrendo apenas o aumento do diâmetro médio das fibras resultantes. Soluções de baixa viscosidade afetam o grau de emaranhamento das cadeias do polímero instabilizando o jato, podendo causar a formação de fibras não contínuas ou um espalhamento eletrostático, ocasionando partículas esféricas e/ou não esféricas, viável este método para a produção de cápsulas por *electrospray*. No caso de soluções com alta viscosidade, o processo de estiramento do jato é dificultado, aumentando o diâmetro médio e o aparecimento de aglomerados denominados “beads” (WANG et al., 2009).

O módulo de armazenamento (G') e o módulo de perda (G'') em função da frequência (0–10 rad/s) das soluções poliméricas foram analisados e estão apresentados na figura 3. Em todas as concentrações o módulo de perda (G'') foi maior que o módulo de armazenamento (G') em toda a faixa de frequência, onde o comportamento viscoso dominou sobre o comportamento elástico,

corroborando com o comportamento reológico analisado em soluções envelhecidas de amidos de milho com diferentes teores de amilose e em nanopartículas de amido de trigo, que relatam que amidos com comportamento viscoso apresentam maiores viscosidade aparente e diâmetros hidrodinâmicos (HERRERA; VASANTHAN; CHEN, 2017).

3.3.2 Morfologia e distribuição de tamanho das fibras

A morfologia e a distribuição de tamanho das fibras de amido de trigo com e sem adição de extrato de coproduto de *I. paraguariensis* (0%, 5%, 10% e 15%) estão retratadas, através das micrografias (A, B, C e D), na Figura 4. As condições empregadas no processo proporcionaram a formação de fibras ultrafinas homogêneas, cilíndricas, contínuas, lisas e sem a presença de aglomerados (“beads”). A encapsulação do extrato nas diferentes concentrações não demonstrou alteração nas características morfológicas, demonstrando que a incorporação do extrato não afetou negativamente a formação de fibras.

Os diâmetros médios das fibras apresentaram leve aumento com a incorporação do extrato nas soluções. O amido de trigo puro apresentou diâmetro médio de 195 nm, quando adicionado 5% de extrato o diâmetro médio foi para 218 nm, havendo queda nas concentrações de 10% e 15%, com 214 nm e 204 nm, respectivamente. Através da Análise de Variância (ANOVA),

Os diâmetros médios das fibras apresentaram um leve aumento com a incorporação do extrato nas soluções. O amido de trigo puro apresentou diâmetro médio de 195 nm, quando adicionado 5% de extrato do coproduto, o diâmetro médio apresentou valor de 218 nm, havendo uma queda nas concentrações de 10% (214 nm) e 15% (204 nm). Através da Análise de Variância (ANOVA), foi observada uma diferença significativa ($p < 0,05$) no diâmetro das fibras entre os tratamentos 0% (195 nm) e 5% (218 nm), e também entre 0% (195 nm) e 10% (214nm), demonstrando um aumento.

Fonseca e outros (2019) observaram que, ao incorporar óleo de carvacrol em fibras de amido de batata e alterando parâmetros tanto da solução como do processo, pode-se obter melhoria na produção de nanofibras, tornando as soluções mais eletrofiáveis e sem a presença de “beads”.

3.3.3 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação das fibras de amido de trigo com extrato do coproduto de *I. paraguariensis* apresentaram valores de $90,8\% \pm 6,24$, $68,2\% \pm 11,8$ e $63,7\% \pm 9,96$ para as fibras com 5%, 10% e 15% de extrato, respectivamente. Esses resultados foram obtidos em duas produções diferentes de fibras, analisadas em triplicata, com um intervalo de dois meses entre as produções, mostrando resultados próximos.

Os resultados evidenciam que a eficiência declina à medida que aumenta a concentração de extrato do coproduto de *I. paraguariensis*, fato ocorrido similarmente em fibras de amido de batata solúvel encapsulados com extrato da casca de pinhão, onde diminuiu a eficiência conforme aumentado a quantidade de extrato, podendo estar ligado a ausência de material encapsulante para complexar os compostos (FONSECA et al., 2020a).

3.3.4 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O extrato liofilizado do coproduto de erva mate apresentou bandas características de polifenóis (figura 5), sendo uma banda em 3310 cm^{-1} ($\nu\text{O-H}$ sobreposto a $\nu\text{N-H}$), referente a hidroxila presente em compostos como ácido clorogênico, saponinas, xantinas e outros (GULLÓN et al., 2018). Apresentou banda em 2874 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{C-H}$; $\nu_{\text{a}}\text{C-H}$) de grupos alifáticos, 1661 cm^{-1} ($\nu\text{C=O}$) referente ao grupo carbonila presente em ésteres, amidas e xantinas, 1613 cm^{-1} ($\nu\text{C=O}$) de carboxila presentes em ácidos e saponinas. Por fim, foram observadas bandas em 1360 cm^{-1} ($\delta_{\text{s}}\text{CH}_3\text{CO}$), 1255 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}=\text{C-O-C}$; $\delta\text{C-O-H}$ no plano) de éter cíclico e outros grupamentos presentes nos compostos da *I. paraguariensis* (GULLÓN et al., 2018).

A fibra 0% apresentou bandas em 3380 cm^{-1} ($\nu\text{O-H}$) que podem ser atribuídas às hidroxilas inter e intramoleculares entre as cadeias da amilose, 2896 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{C-H}$; $\nu_{\text{a}}\text{C-H}$) da cadeia cíclica. Bandas em 1703 cm^{-1} e 1628 cm^{-1} (δOH) referente à ligação de hidrogênio na região amorfa dos grânulos. Bandas em 1427 cm^{-1} ($\delta_{\text{s}}\text{CH}_2$) da amilopectina, 1288 cm^{-1} ($\delta\text{C-O-H}$) fora do plano, 1158 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}\text{C-O-C}$) da ligação glicosídica alfa 1,4. Ainda foram observadas bandas

de cadeia em $1016\text{ cm}^{-1}(\nu\text{C-O})$, de cadeia. PIRES et al., (2022) observaram bandas semelhantes em amido de batata nativo.

As fibras 5%, 10% e 15% apresentaram bandas características da fibra 0%, onde se observa que a região *fingerprint* ($1000 < \text{cm}^{-1} < 1500$) das diferentes fibras são muito semelhantes a esta região no espectro da fibra 0%, sugerindo uma boa encapsulação do extrato para todas as concentrações estudadas.

3.3.5 Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TG) foi realizada para investigar o comportamento térmico e a degradação das fibras e do composto puro (extrato do coproduto de *I. paraguariensis*) nas condições estabelecidas, determinando a perda de massa através da mudança de peso conforme a mudança de temperatura (PARTHASARATHY; NARAYANAN; AROCKIAM, 2013). Os resultados das análises termogravimétricas estão apresentados na tabela 2.

O extrato do coproduto apresentou duas taxas de degradação, iniciando a primeira a uma temperatura de $214,79\text{ }^{\circ}\text{C}$ e decompondo 7,94% da massa, associada à degradação de compostos de baixo peso molecular (JARAMILLO et al., 2016) e a segunda, ocorrendo a temperatura máxima de evento em $296,76\text{ }^{\circ}\text{C}$, decompondo 13,05% de sua massa. O extrato aquoso de erva mate comercial estudado por Bruni e outros (2020) apresentou três taxas de decomposição, sendo a primeira em $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, a segunda em $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a terceira em $310\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente, indicando a evaporação da umidade, a decomposição de alguns componentes com baixo peso molecular e a decomposição de estruturas mais complexas, respectivamente.

A fibra 0% apresentou dois efeitos. O primeiro, entre $219,59$ e $230,12\text{ }^{\circ}\text{C}$, com menor perda de massa, referente à perda da água ligada que ocorre a partir da quebra das ligações de hidrogênio, da água do ambiente, formadas pelas hidroxilas das unidades de glicose ao longo da cadeia a fibra e, o segundo, entre $289,01$ e $306,75\text{ }^{\circ}\text{C}$, com maior perda de massa, referente à eliminação de grupos polihidroxílicos, decomposição e despolimerização das cadeias da fibra (FONSECA et al., 2019).

As fibras de amido 5%, 10% e 15% apresentaram curvas termogravimétricas semelhantes, com uma decomposição térmica em duas

etapas, sendo a primeira etapa referente à liberação da água absorvida pela fibra de amido. A absorção de água ou umidade do ambiente pelo amido é elevada em virtude das ligações de hidrogênio formadas pelas hidroxilas das unidades de glicose ao longo de sua cadeia. A segunda curva refere-se à liberação do extrato incorporado na fibra, mostrando que, para todos os casos, houve um aumento da estabilidade térmica do extrato, visto que todos apresentaram temperatura máxima de evento superior à temperatura máxima apresentada pelo extrato em 296,76 °C. Este segundo evento também é o efeito termogravimétrico correspondente a maior perda de massa, para todas as fibras estudadas atribuídas a despolimerização e degradação das fibras em processos não-oxidativos.

Por fim, a análise de resíduo demonstra que houve a eficiência da incorporação dos extratos, para todas as concentrações avaliadas, visto que, o extrato apresentou 7,01% de resíduo, a fibra 0% apresentou 8,10% de resíduo, enquanto que as fibras incorporadas com o extrato apresentaram valores superiores de resíduo, sendo aproximadamente 22%, 9% e 11% para as fibras 5%, 10% e 15% respectivamente, isto sugere que houve uma estabilidade térmica das fibras incorporadas com o extrato.

3.3.6 Ângulo de contato das fibras

O ângulo de contato avalia a molhabilidade entre um líquido e a superfície do material utilizado, indicando a hidrofobicidade/hidrofilicidade da superfície. Ângulos menores de 90° indicam que o material polimérico é molhado pelo líquido, ou seja, os materiais são hidrofílicos. No entanto, ângulos maiores de 90° indicam a hidrofobicidade, não havendo interação entre o material e a água (KONTOGEORGIS; KIIL, 2016; SINDERSKI, 2020).

O ângulo de contato estático (θ) da interface sólido-líquido foi medido entre a membrana das fibras e a água ultra pura (θ_w). Todas as fibras apresentaram ângulos de contato menores que 90°, sendo elas $\theta_w = 28,26 \pm 6,15^\circ$, $\theta_w = 32,67 \pm 0,15^\circ$, $\theta_w = 27,72 \pm 0,56^\circ$ e $\theta_w = 27,24 \pm 2,91^\circ$, das fibras 0%, 5%, 10% e 15%, respectivamente, indicando superfícies hidrofílicas segundo classificação de AHMAD et al., (2015).

Em um primeiro momento houve um aumento do θ_w comparando-se a fibra 0% e 5%. Esse comportamento pode ter sido gerado porque a molhabilidade é afetada pela presença de grupos polares e não polares na superfície da fibra. A modificação superficial pode ser explicada pela incorporação do extrato que possui, em sua composição, diferentes compostos, no entanto, o aumento no valor do ângulo sugere a presença de grupos polares livres na superfície da fibra, sugerindo que os sítios ativos da fibra 5% foram responsáveis por este comportamento. No entanto, as fibras 10% e 15% apresentaram uma diminuição no ângulo, sendo assim, comprovando a ocupação de mais sítios ativos e demonstrando que a fibra, à medida que aumenta a concentração de coproduto incorporado, torna-se cada vez mais hidrofílica, com o aumento da sua propriedade de molhabilidade.

Estes resultados corroboram com os resultados de Cruz et al. (2023), onde houve diminuição do ângulo de contato conforme houve aumento de concentração do extrato encapsulado de casca de cebola vermelha em amidos de batata-doce amarela e branca.

3.3.7 Atividade antioxidante

A tabela 3 apresenta os resultados das atividades antioxidantes do extrato de coproduto de *Ilex paraguariensis*, quando não está encapsulado e quando é incorporado em fibras ultrafinas de amido de trigo, em relação aos radicais ABTS e DPPH.

A atividade antioxidante é uma medida importante para avaliar a capacidade de um composto em neutralizar os radicais livres que podem causar danos celulares e contribuir para o envelhecimento e desenvolvimento de doenças. Os radicais ABTS e DPPH são usados comumente para medir a capacidade antioxidante de extratos e compostos.

O coproduto não encapsulado apresenta uma atividade antioxidante significativa contra os dois tipos de radicais testados (ABTS e DPPH) com 28,98% e 67,65% de inibição.

As fibras sem extrato (0%) não mostraram atividade antioxidante contra o radical ABTS e apresentou uma atividade baixa contra o radical DPPH (6,57%),

isso sugere que as fibras de amido de trigo sozinhas não possuem uma atividade antioxidante relevante.

A atividade antioxidante aumenta significativamente quando o extrato é incorporado nas fibras de amido de trigo. Quanto maior a quantidade de extrato incorporado, maior a atividade antioxidante observada.

As fibras 5%, 10% e 15% apresentaram um aumento significativo ($p>0,05$) de inibição do radical ABTS, sendo a fibra 15% a que apresentou a maior atividade (97,83%). No entanto, para o radical DPPH as fibras 5 e 10% apresentaram um aumento e a fibra 15% uma diminuição. Isso pode ter ocorrido porque as fibras 5% e 10% possuem concentrações intermediárias do extrato de *Ilex paraguariensis* e, é possível que, nessas concentrações, os compostos antioxidantes do extrato estejam mais acessíveis e distribuídos de forma adequada nas fibras, o que leva a um aumento na atividade antioxidante medida pelo radical DPPH. Ainda, este radical é uma espécie química particular que pode reagir de forma diferente com os compostos antioxidantes do extrato em diferentes concentrações. Isso pode explicar as variações observadas na atividade antioxidante das fibras em relação ao DPPH.

Estes resultados indicam que fibras de amido de trigo apresentam maior capacidade de inibição frente ao radical ABTS em comparação ao radical DPPH e, ao adicionar o coproduto em fibras de amido de trigo eletrofiadas, pode ocorrer a proteção em parte das propriedades funcionais dos compostos fenólicos.

Estudos como de Fonseca e colaboradores (2020b), demonstraram que ao incorporar óleo essencial de tomilho em fibras de amido de batata doce, também observaram menor capacidade de inibição de DPPH. Em estudo com a utilização de amido de batata doce branca e amarela para encapsular os flavonoides de casca de cebola roxa, os autores observaram aumento significativo na atividade antioxidante conforme o aumento da concentração do composto liofilizado (CRUZ et al, 2023). Não foram encontrados estudos utilizando fibras de amido de trigo no encapsulamento de compostos bioativos.

Entretanto, no extrato livre liofilizado, houve menor capacidade de inibição frente ao radical ABTS, podendo ter ocorrido a complexação dos compostos e aumentando sua capacidade quando adicionadas às fibras. Em amostras de folhas secas de erva mate comercial, a inibição pode apresentar 94% (AKBARMEMHR et al., 2023). Ao incorporar o extrato da casca do pinhão em

589 fibras de amido de batata, obteve-se 28% de inibição, menor do que o
590 encontrado no presente estudo (FONSECA et al., 2020a). Pires e colaboradores
591 (2022), ao incorporar curcumina em diferentes concentrações (0,5%, 0,75% e
592 1%) em amido de batata nativo, observaram aumento gradativo na eliminação
593 do radical até 45%.

594 Segundo Cruz e colaboradores (2023), os antioxidantes podem retardar
595 ou inibir a oxidação dos alimentos, entretanto, estes podem ser degradados
596 quando expostos ao ambiente. A encapsulação de compostos fenólicos do
597 coproduto de *I. paraguariensis* é importante para manter sua estabilidade,
598 minimizando os efeitos de degradação por fatores ambientais como luz, calor e
599 temperatura.

601 **CONCLUSÃO**

602 As fibras ultrafinas de amido de trigo incorporadas com extrato de
603 coproduto de *I. paraguariensis* nas concentrações de 0, 5, 10 e 15% - pela
604 técnica de *electrospinning* - apresentaram morfologia lisa, homogênea, cilíndrica
605 e sem a presença de *beads*, ocorrendo o aumento da viscosidade aparente e da
606 condutividade elétrica, resultando em aumento dos diâmetros médios das fibras
607 (195 nm a 218 nm). A eficiência de encapsulação máxima foi de 90,8% na
608 concentração de 5% de extrato, diminuindo conforme o aumento da adição de
609 extrato do coproduto.

610 O extrato de coproduto não encapsulado apresentou menor capacidade
611 de eliminar os radicais livres ABTS, mas essa capacidade aumentou quando
612 incorporado nas fibras, com maior eficiência em concentrações mais altas.
613 Quanto à eliminação do radical DPPH, as fibras mostraram menor atividade
614 antioxidante do que o extrato não encapsulado, mas ainda assim apresentaram
615 aumento em comparação com as fibras sem extrato, sugerindo que as fibras
616 podem reter parte da atividade antioxidante do coproduto.

617 A análise termogravimétrica revelou que o extrato encapsulado nas
618 fibras ultrafinas de amido de trigo é mais estável em comparação ao extrato não
619 encapsulado. Os espectros de FTIR mostraram que a encapsulação foi eficiente,
620 pois apresentaram bandas características das fibras de controle e a presença do

extrato do coproduto. Além disso, a encapsulação aumentou a molhabilidade das membranas das fibras de amido de trigo, tornando-as mais hidrofílicas.

O extrato do coproduto da poda de *I. paraguariensis* apresentou grande importância e pode ter potencial uso industrial devido suas propriedades antioxidante semelhantes ao encontrado em folhas e talos finos e demonstrou boa eficiência de encapsulamento em fibras de amido de trigo e elevado potencial para o uso em aplicações tecnológicas alimentares, para o melhorar a qualidade nutricional de alimentos e produtos, com maior resistência e proteção contra fatores externos, necessitando de estudos futuros da aplicação e avaliação. O amido de trigo demonstrar ser como uma alternativa de polímero para produção de fibras técnicas de *electrospinning*, necessitando de estudos de aplicação para destinar ao melhor aproveitamento da matéria prima para o encapsulamento de compostos bioativos.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, N. A.; LEO, C. P.; AHMAD, A. L.; RAMLI, W. K. W. **Membranes with great hydrophobicity: A review on preparation and characterization** *Separation and Purification Reviews* Bellwether Publishing, Ltd., 15 abr. 2015.
- AKBARMENHR, A.; PEIGHAMBARDOST, S. H.; SOLTANZADEH, M.; JAFARI, S. M.; SARABANDI, K. Microencapsulation of Yerba mate extract: The efficacy of polysaccharide/protein hydrocolloids on physical, microstructural, functional, and antioxidant properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 234, p. 123678, 15 abr. 2023. . Acesso em: 10 maio. 2023.
- ALI, N.; RASHID, S.; NAFEEES, S.; HASAN, S. K.; SHAHID, A.; MAJED, F.; SULTANA, S. Protective effect of Chlorogenic acid against methotrexate induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat liver: An experimental approach. **Chemico-Biological Interactions**, v. 272, p. 80–91, 25 jun. 2017. . Acesso em: 20 mar. 2023.
- ANTUNES, M. D.; DANNENBERG, G. da S.; FIORENTINI, Â. M.; PINTO, V. Z.; LIM, L. T.; ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G. Antimicrobial electrospun ultrafine fibers from zein containing eucalyptus essential oil/cyclodextrin inclusion complex. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 874–882, 1 nov. 2017. . Acesso em: 31 maio. 2023.
- ASHRAF, R.; SOFI, H. S.; MALIK, A.; BEIGH, M. A.; HAMID, R.; SHEIKH, F. A. Recent Trends in the Fabrication of Starch Nanofibers: Electrospinning and Non-electrospinning Routes and Their Applications in Biotechnology. **Applied Biochemistry and Biotechnology** 2018 187:1, v. 187, n. 1, p. 47–74, 8 jun. 2018. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-018-2797-0>>. Acesso em: 23 abr. 2023.
- BARANZELLI, J.; KRINGEL, D. H.; COLUSSI, R.; PAIVA, F. F.; ARANHA, B. C.; MIRANDA, M. Z. de; ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G. Changes in enzymatic activity, technological quality and gamma-aminobutyric acid (GABA) content of wheat flour as affected by germination. **LWT**, v. 90, p. 483–490, 1 abr. 2018. . Acesso em: 29 abr. 2023.
- BRUNI, G. P.; ACUNHA, T. dos S.; DE OLIVEIRA, J. P.; FONSECA, L. M.; DA SILVA, F. T.; GUIMARÃES, V. M.; ZAVAREZE, E. da R. Electrospun protein fibers loaded with yerba mate extract for bioactive release in food packaging. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 8, p. 3341–3350, 1 jun. 2020.
- CAO, P.; WU, G.; YAO, Z.; WANG, Z.; LI, E.; YU, S.; LIU, Q.; GILBERT, R. G.; LI, S. Effects of amylose and amylopectin molecular structures on starch electrospinning. **Carbohydrate Polymers**, v. 296, p. 119959, 15 nov. 2022. . Acesso em: 2 maio. 2023.
- CHEN, L.; DAI, Y.; HOU, H.; WANG, W.; DING, X.; ZHANG, H.; LI, X.; DONG, H. Effect of high pressure microfluidization on the morphology, structure and rheology of sweet potato starch. **Food Hydrocolloids**, v. 115, 1 jun. 2021.

COSTA, R. G. F.; DE OLIVEIRA, J. E.; DE PAULA, G. F.; DE PICCIANI, P. H. S.; DE MEDEIROS, E. S.; RIBEIRO, C.; MATTOSO, L. H. C. **Eletrofiação de polímeros em solução. Parte I: Fundamentação teórica** Polimeros 2012.

CRUZ, E. P. da; JANSEN, E. T.; FONSECA, L. M.; HACKBART, H. C. dos S.; SIEBENEICHLER, T. J.; PIRES, J. B.; GANDRA, E. A.; ROMBALDI, C. V.; ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G. Red onion skin extract rich in flavonoids encapsulated in ultrafine fibers of sweet potato starch by electrospinning. **Food Chemistry**, v. 406, p. 134954, 16 abr. 2023. . Acesso em: 5 jun. 2023.

DE GODOY, R. C. B.; DELIZA, R.; GHENO, L. B.; LICODIEDOFF, S.; FRIZON, C. N. T.; RIBANI, R. H.; DOS SANTOS, G. G. Consumer perceptions, attitudes and acceptance of new and traditional mate tea products. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 801–807, 1 out. 2013. . Acesso em: 19 mar. 2023.

EL HALAL, S. L. M.; KRINGEL, D. H.; ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G. **Methods for Extracting Cereal Starches from Different Sources: A Review** Starch/Staerke Wiley-VCH Verlag, 1 nov. 2019.

FILIP, E.; WORONKO, K.; ST_Ł EPIÉ N, E.; CZARNIECKA, N. An Overview of Factors Affecting the Functional Quality of Common Wheat (*Triticum aestivum* L.). **International Journal of Molecular Sciences** 2023, Vol. 24, Page 7524, v. 24, n. 8, p. 7524, 19 abr. 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/24/8/7524/htm>>. Acesso em: 30 abr. 2023.

FONSECA, L. M.; CRUXEN, C. E. dos S.; BRUNI, G. P.; FIORENTINI, Â. M.; ZAVAREZE, E. da R.; LIM, L. T.; DIAS, A. R. G. Development of antimicrobial and antioxidant electrospun soluble potato starch nanofibers loaded with carvacrol. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 139, p. 1182–1190, 15 out. 2019. . Acesso em: 5 jun. 2023.

FONSECA, L. M.; OLIVEIRA, J. P. de; CRIZEL, R. L.; SILVA, F. T. da; ZAVAREZE, E. da R.; BORGES, C. D. Electrospun Starch Fibers Loaded with Pinhão (*Araucaria angustifolia*) Coat Extract Rich in Phenolic Compounds. 2020a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11483-020-09629-9>>.

FONSECA, L. M.; RADÜNZ, M.; DOS SANTOS HACKBART, H. C.; DA SILVA, F. T.; CAMARGO, T. M.; BRUNI, G. P.; MONKS, J. L. F.; DA ROSA ZAVAREZE, E.; DIAS, A. R. G. Electrospun potato starch nanofibers for thyme essential oil encapsulation: antioxidant activity and thermal resistance. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 11, p. 4263–4271, 30 ago. 2020b. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jsfa.10468>>. Acesso em: 11 jun. 2023.

FONSECA, L. M.; SOUZA, E. J. D.; RADÜNZ, M.; GANDRA, E. A.; ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G. Suitability of starch/carvacrol nanofibers as biopreservatives for minimizing the fungal spoilage of bread. **Carbohydrate Polymers**, v. 252, p. 117166, 15 jan. 2021. . Acesso em: 23 abr. 2023.

GARCIA-LAZARO, R. S.; LAMDAN, H.; CALIGIURI, L. G.; LORENZO, N.; BERENGENO, A. L.; ORTEGA, H. H.; ALONSO, D. F.; FARINA, H. G. In vitro and in vivo antitumor activity of Yerba Mate extract in colon cancer models. **Journal of Food Science**, v. 85, n. 7, p. 2186–2197, 1 jul. 2020. Disponível em:

722 <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1750-3841.15169>>. Acesso em:
723 21 mar. 2023.

724 GULLÓN, B.; EIBES, G.; MOREIRA, M. T.; HERRERA, R.; LABIDI, J.; GULLÓN,
725 P. Yerba mate waste: A sustainable resource of antioxidant compounds.
726 **Industrial Crops and Products**, v. 113, p. 398–405, 1 mar. 2018. . Acesso em:
727 5 jun. 2023.

728 HERRERA, M. P.; VASANTHAN, T.; CHEN, L. Rheology of starch nanoparticles
729 as influenced by particle size, concentration and temperature. **Food**
730 **Hydrocolloids**, v. 66, p. 237–245, 1 maio 2017. . Acesso em: 31 maio. 2023.

731 JARAMILLO, C. M.; GUTIÉRREZ, T. J.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L.
732 Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch
733 edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 150–159, 20 out. 2016. . Acesso
734 em: 1 jun. 2023.

735 KONG, L.; ZIEGLER, G. R. Role of molecular entanglements in starch fiber
736 formation by electrospinning. **Biomacromolecules**, v. 13, n. 8, p. 2247–2253, 13
737 ago. 2012. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/bm300396j>>.
738 Acesso em: 1 maio. 2023.

739 KONTAGEORGIS, G. M.; KILL, S. **Introduction to Applied Colloid and Surface**
740 **Chemistry**. Disponível em: <[https://books.google.com.br/books?hl=pt-
741 BR&lr=&id=MJPgCAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP11&dq=Kontageorgis,+G.M.%3B+
742 Kill,+S.+Introduction+to+Applied+Colloid+and+Surface+Chemistry,+John+Wiley
743 +%26+Sons,+Ltd.,+West+Sussex,+2016.&ots=rRhRIalEU&sig=GZRtAslpSKR
744 9nob9-eGnRVFKyR4#v=onepage&q=oh%20&f=false](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=MJPgCAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP11&dq=Kontageorgis,+G.M.%3B+Kill,+S.+Introduction+to+Applied+Colloid+and+Surface+Chemistry,+John+Wiley+%26+Sons,+Ltd.,+West+Sussex,+2016.&ots=rRhRIalEU&sig=GZRtAslpSKR9nob9-eGnRVFKyR4#v=onepage&q=oh%20&f=false)>. Acesso em: 5 jun. 2023.

745 KUNGEL, P. T. A. N.; CORREA, V. G.; CORRÊA, R. C. G.; PERALTA, R. A.;
746 SOKOVIĆ, M.; CALHELHA, R. C.; BRACHT, A.; FERREIRA, I. C. F. R.;
747 PERALTA, R. M. Antioxidant and antimicrobial activities of a purified
748 polysaccharide from yerba mate (*Ilex paraguariensis*). **International Journal of**
749 **Biological Macromolecules**, v. 114, p. 1161–1167, 15 jul. 2018. . Acesso em:
750 20 mar. 2023.

751 LIM, L. T. Electrospinning and electrospraying technologies for food and
752 packaging applications. **Electrospun Polymers and Composites: Ultrafine**
753 **Materials, High Performance Fibers and Wearables**, p. 217–259, 1 jan. 2021.
754 . Acesso em: 23 abr. 2023.

755 LIM, L. T.; MENDES, A. C.; CHRONAKIS, I. S. Electrospinning and
756 electrospraying technologies for food applications. **Advances in Food and**
757 **Nutrition Research**, v. 88, p. 167–234, 1 jan. 2019. . Acesso em: 23 abr. 2023.

758 LORINI, A.; DAMIN, F. M.; DE OLIVEIRA, D. N.; CRIZEL, R. L.; GODOY, H. T.;
759 GALLI, V.; MEINHART, A. D. Characterization and quantification of bioactive
760 compounds from *Ilex paraguariensis* residue by HPLC-ESI-QTOF-MS from
761 plants cultivated under different cultivation systems. **Journal of Food Science**,
762 v. 86, n. 5, p. 1599–1619, 2021.

763 LUTZ, I. A. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Edição IV.**
764 [s.l: s.n.]

765 MERCANTE, L. A.; ANDRE, R. S.; MACEDO, J. B.; PAVINATTO, A.; CORREA,
 766 D. S. Nanofibras eletrofiadas e suas aplicações: avanços na última década.
 767 **Química Nova**, v. 44, n. 6, p. 717–736, 11 ago. 2021. Disponível em:
 768 <<http://www.scielo.br/j/qn/a/pyPdBqm8bxhT5dzqhCv6HVM/>>. Acesso em: 20
 769 abr. 2023.

770 MESQUITA, M.; SANTOS, E.; KASSUYA, C. A.; SALVADOR, M. J. Chimarrão,
 771 terere and mate-tea in legitimate technology modes of preparation and consume:
 772 A comparative study of chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and
 773 anti-anxiety properties of the mostly consumed beverages of *Ilex paraguariensis*
 774 St. Hil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 279, p. 114401, 28 out. 2021. .
 775 Acesso em: 18 mar. 2023.

776 OLIVEIRA, J. P. de; BRUNI, G. P.; FONSECA, L. M.; DA SILVA, F. T.; DA
 777 ROCHA, J. C.; DA ROSA ZAVAREZE, E. Characterization of aerogels as
 778 bioactive delivery vehicles produced through the valorization of yerba-mate (*Ilex*
 779 *paraguariensis*). **Food Hydrocolloids**, v. 107, p. 105931, 1 out. 2020. . Acesso
 780 em: 1 jun. 2023.

781 PAGLIOSA, C. M.; VIEIRA, M. A.; PODESTÁ, R.; MARASCHIN, M.; ZENI, A. L.
 782 B.; AMANTE, E. R.; AMBONI, R. D. de M. C. Methylxanthines, phenolic
 783 composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree
 784 harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 173–
 785 178, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.040>>.

786 PANDEY, V. K.; UPADHYAY, S. N.; NIRANJAN, K.; MISHRA, P. K. Antimicrobial
 787 biodegradable chitosan-based composite Nano-layers for food packaging.
 788 **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 157, p. 212–219, 15
 789 ago. 2020. . Acesso em: 1 maio. 2023.

790 PARTHASARATHY, P.; NARAYANAN, K. S.; AROCKIAM, L. Study on kinetic
 791 parameters of different biomass samples using thermo-gravimetric analysis.
 792 **Biomass & Bioenergy**, v. 58, p. 58–66, 2013. . Acesso em: 26 maio. 2023.

793 PIRES, J. B.; FONSECA, L. M.; SIEBENEICHLER, T. J.; CRIZEL, R. L.;
 794 SANTOS, F. N. dos; HACKBART, H. C. dos S.; KRINGEL, D. H.; MEINHART, A.
 795 D.; ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G. Curcumin encapsulation in capsules
 796 and fibers of potato starch by electrospraying and electrospinning: Thermal
 797 resistance and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 162, p.
 798 112111, 1 dez. 2022. . Acesso em: 23 abr. 2023.

799 SANTIANO, F. E.; FERNÁNDEZ, M. de los Á.; ESPINO, M.; ZYLA, L. E.; REY,
 800 L.; GÓMEZ, S. E.; BRUNA, F. A.; PISTONE-CREYDT, V.; PIETROBON, E.;
 801 PÉREZ ELIZALDE, R.; SILVA, M. F.; CARÓN, R. W.; LÓPEZ FONTANA, C. M.
 802 Protective effects of Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) on prostate cancer
 803 development. **Nutrition**, v. 108, p. 111957, 1 abr. 2023. . Acesso em: 21 mar.
 804 2023.

805 SILVEIRA, M. M. da; DITTGEN, C. L.; BATISTA, C. de S.; BIDUSKI, B.;
 806 GUTKOSKI, L. C.; VANIER, N. L. Discrimination of the quality of Brazilian wheat
 807 genotypes and their use as whole-grains in human nutrition. **Food Chemistry**, v.
 808 312, p. 126074, 15 maio 2020. . Acesso em: 30 abr. 2023.

SINDERSKI, L. G. Z. Ângulo de Contato e Rugosidade de Madeiras, uma breve revisão. **Revista Ciência da Madeira - RCM**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 23 mar. 2020.

TANG, Y.; ZHOU, Y.; LAN, X.; HUANG, D.; LUO, T.; JI, J.; MAFANG, Z.; MIAO, X.; WANG, H.; WANG, W. Electrospun Gelatin Nanofibers Encapsulated with Peppermint and Chamomile Essential Oils as Potential Edible Packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 8, p. 2227–2234, 27 fev. 2019. . Acesso em: 1 maio. 2023.

UECKER, J. N.; SCHNEIDER, J. P.; CERQUEIRA, J. H.; RINCÓN, J. A. A.; CAMPOS, F. T.; SCHNEIDER, A.; BARROS, C. C.; ANDREAZZA, R.; JASKULSKI, I. B.; PIENIZ, S. *Ilex paraguariensis* extract prevents body weight gain in rats fed a high-fat diet. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 3, p. 620–626, 27 jun. 2019. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/cta/a/tfNW44tCLDxxV8NKXYgYqbr/abstract/?lang=en>>. Acesso em: 20 mar. 2023.

VASILYEV, G.; VILENSKY, R.; ZUSSMAN, E. The ternary system amylose-amylopectin-formic acid as precursor for electrospun fibers with tunable mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 214, p. 186–194, 15 jun. 2019. . Acesso em: 2 maio. 2023.

VIEIRA, M. A.; MARASCHIN, M.; DIAS DE MELLO, R.; AMBONI, C.; PRUDÊNCIO, E. S.; PAGLIOSA, C. M.; BARBOSA, M.; MANTELLI, H.; AMANTE, E. R.; SOUZA DA SILVA, L.; WALTER, M. Thermal condition of mate (*Ilex paraguariensis*) processing. **Ciência Rural**, v. 53, n. 10, p. e20220178, 14 abr. 2023. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/cr/a/YtBTPmJFzyppRTFjL33WBNv/?lang=en>>. Acesso em: 27 abr. 2023.

WANG, C.; CHIEN, H. S.; YAN, K. W.; HUNG, C. L.; HUNG, K. L.; TSAI, S. J.; JHANG, H. J. Correlation between processing parameters and microstructure of electrospun poly(D,L-lactic acid) nanofibers. **Polymer**, v. 50, n. 25, p. 6100–6110, 27 nov. 2009. . Acesso em: 21 maio. 2023.

WANG, H.; YANG, Q.; FERDINAND, U.; GONG, X.; QU, Y.; GAO, W.; IVANISTAU, A.; FENG, B.; LIU, M. Isolation and characterization of starch from light yellow, orange, and purple sweet potatoes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 660–668, 1 out. 2020. . Acesso em: 30 abr. 2023.

ZHANG, B.; GUO, K.; LIN, L.; WEI, C. Comparison of Structural and Functional Properties of Starches from the Rhizome and Bulbil of Chinese Yam (*Dioscorea opposita* Thunb.). **Molecules** **2018**, Vol. **23**, Page **427**, v. 23, n. 2, p. 427, 15 fev. 2018. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/23/2/427/htm>>. Acesso em: 1 maio. 2023.

Tabela 1. Condutividade elétrica e medidas reológicas de soluções poliméricas de amido de trigo com diferentes concentrações de extrato de coproduto de *I. paraguariensis*

Fibras	EC (mS/cm)	T0 [Pa]	k [Pa.sn]	(n) [-]	R ²
0%	2,69 ± 0,03 ^d	1,3390 ± 0,67 ^a	1,182 ± 0,04 ^a	0,7227 ± 0,01 ^b	0,9736
5%	2,89 ± 0,09 ^c	0,1666 ± 0,01 ^a	1,491 ± 0,14 ^a	0,6526 ± 0,00 ^d	0,9731
10%	3,14 ± 0,03 ^b	0,1008 ± 0,00 ^a	1,179 ± 0,16 ^a	0,7130 ± 0,01 ^c	0,9683
15%	3,45 ± 0,03 ^a	0,1131 ± 0,02 ^a	1,259 ± 0,12 ^a	0,7246 ± 0,00 ^a	0,9758

EC: Condutividade; T0: Tensão de escoamento; k: Índice de consistência; n: Índice de comportamento de fluxo; R²: coeficiente de determinação.

a, b Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os dados pelo teste Tukey (p < 0,05).

Tabela 2. Temperaturas e perdas de massa, pela análise de TGA, do extrato puro de coproduto de *Ilex paraguariensis* liofilizado e das fibras ultrafinas de amido de trigo com diferentes concentrações de extrato (0%, 5%, 10% e 15%).

	Tp ₀ °C	Tp °C	Δt ₁	Δm	Tp ₀ °C	Tp ₃ °C	ΔT °C	Δm	Δm _R
Puro	214,79	226,99	45,38	7,94	281,74	296,76	36,81	13,05	7,01
0%	219,59	230,12	23,97	17,10	289,01	306,75	38,92	72,22	8,10
5%	213,33	223,64	24,66	9,54	292,53	313,47	18,07	54,17	22,82
10%	217,78	228,81	24,68	8,40	284,10	301,62	38,47	51,27	9,33
15%	217,26	227,42	23,79	7,53	284,30	300,80	37,01	44,65	11,47

Puro: Extrato liofilizado; Tp₀ temperatura inicial, Tp temperatura máxima do evento, Δt variação de temperatura, Δm perda de massa, Δm_R massa do resíduo.

Tabela 3. Atividades antioxidantes frente aos radicais ABTS, DPPH do extrato de coproduto de *I. paraguariensis* não encapsulado e incorporado em fibras ultrafinas de amido de trigo.

Amostras	ABTS (%)	DPPH (%)
Extrato não encapsulado	28,98 ± 1,70 ^d	67,65 ± 0,30 ^a
Fibras 0%	ND	6,57 ± 0,43 ^e
Fibras 5%	47,01 ± 6,61 ^c	22,70 ± 0,30 ^d
Fibras 10%	60,48 ± 8,04 ^b	33,13 ± 0,36 ^b
Fibras 15%	97,83 ± 0,53 ^a	24,91 ± 1,16 ^c

ND – não detectado

^{a, b} Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os dados pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

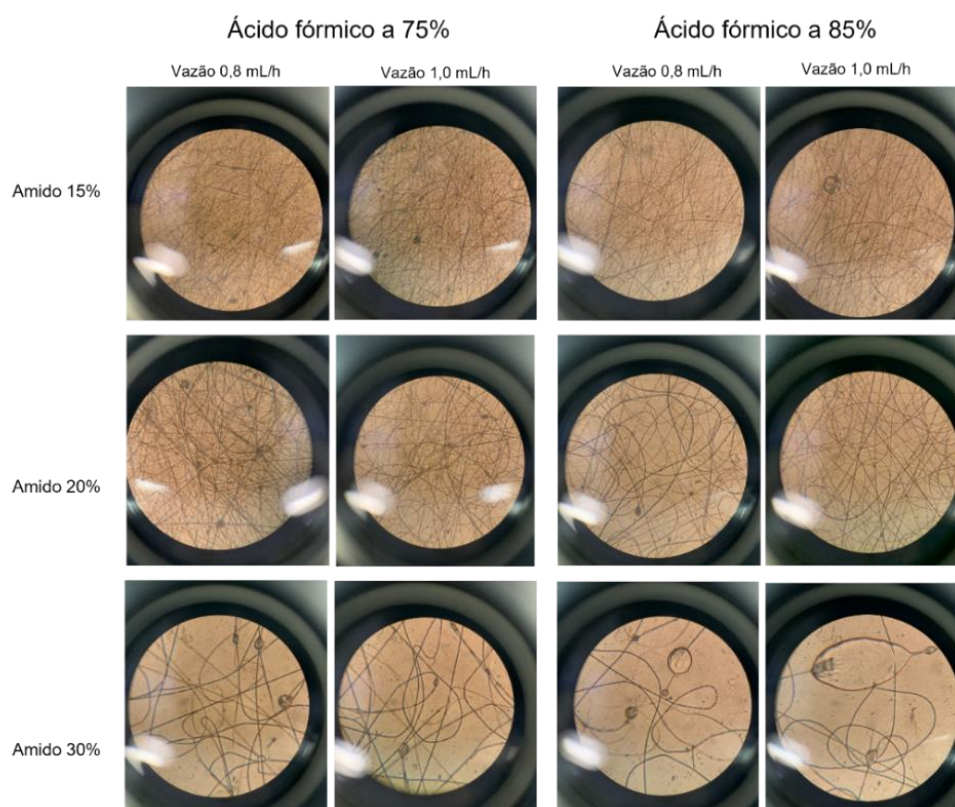


Figura 1. Soluções poliméricas teste utilizando diferentes concentrações de amido de trigo e de ácido fórmico.

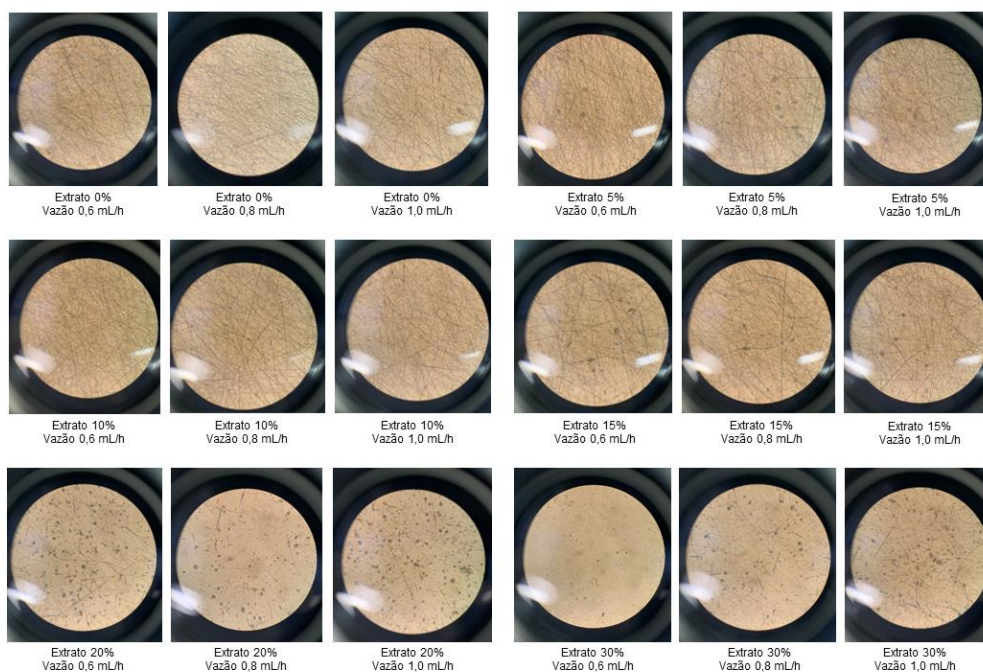


Figura 2. Soluções poliméricas de amido de trigo a 15% e incorporação do extrato liofilizado do coproduto de *I. paraguariensis* em diferentes concentrações.

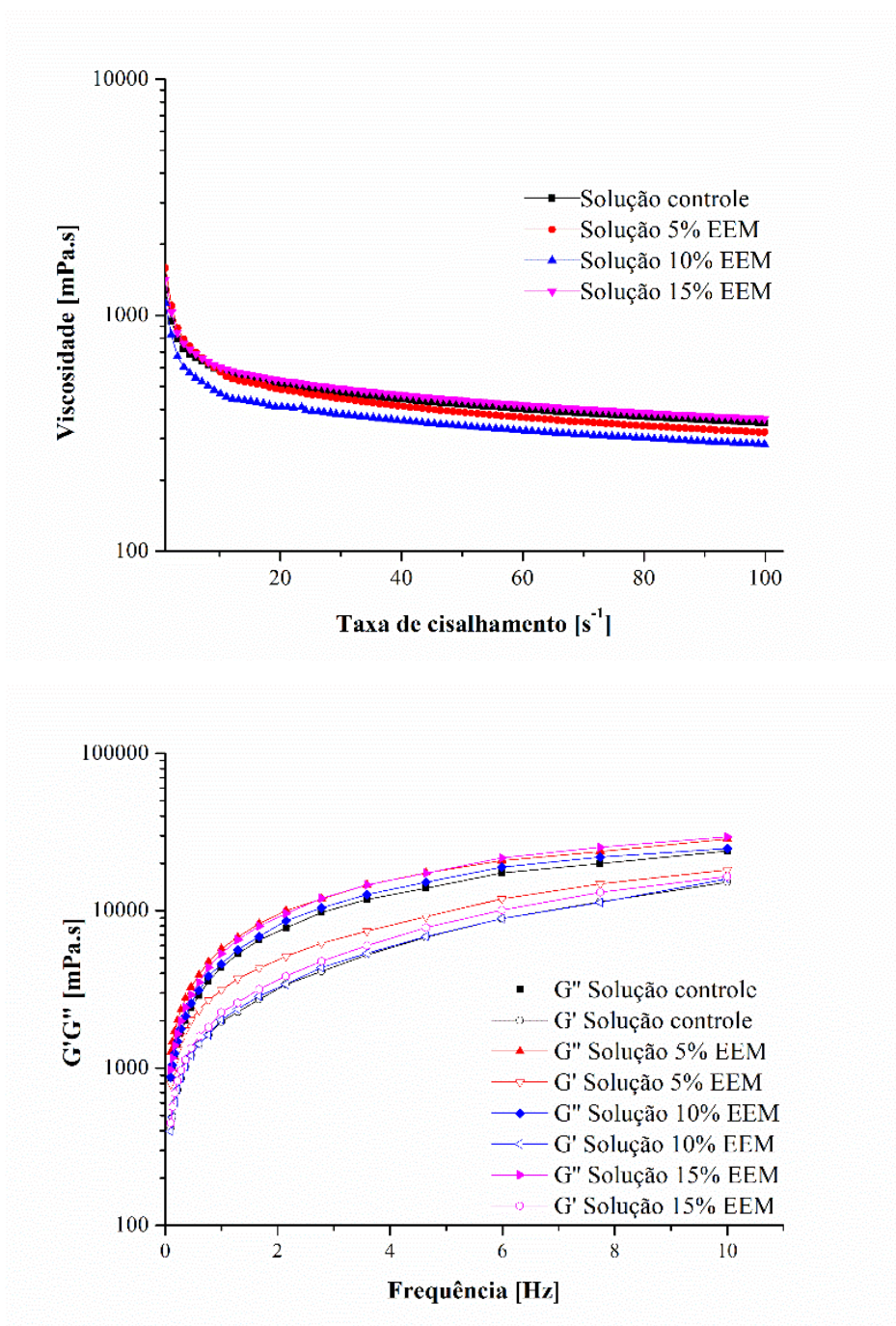


Figura 3. Viscosidade aparente das soluções e módulos de armazenamento (G') e perda (G'') em função da frequência.

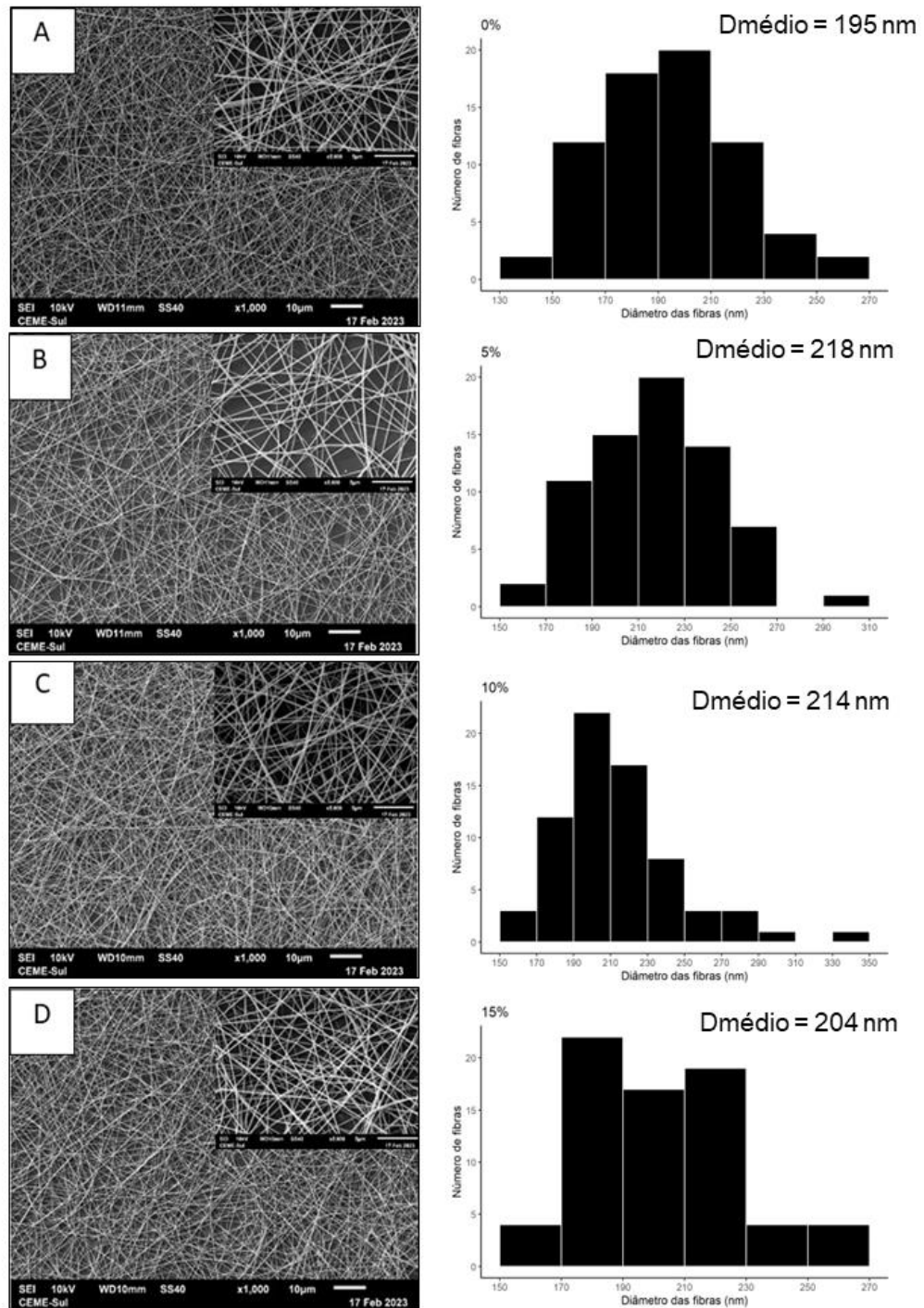


Figura 4. Morfologia e distribuição de tamanho das fibras ultrafinas de amido de trigo incorporadas de extrato de coproduto de *I. paraguariensis*

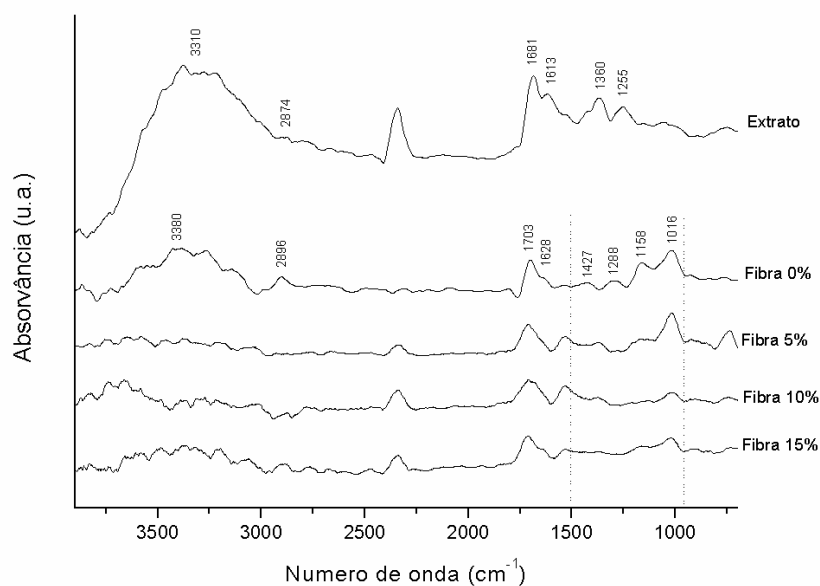


Figura 5. Espectros de infravermelho por Transformada de Fourier de fibras ultrafinas de amido de trigo diferentes concentrações de *Ilex paraguariensis*.

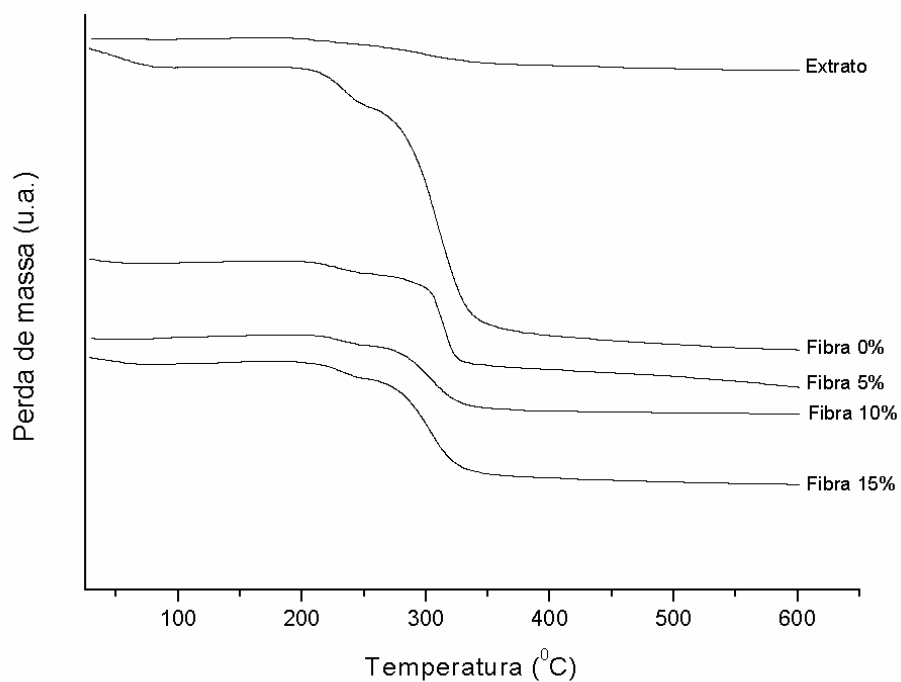


Figura 6. Termogramas das amostras do extrato de *I. paraguariensis* não encapsulado e fibras de amido com o extrato de coproduto nas concentrações de 0%, 5%, 10%, 15%.

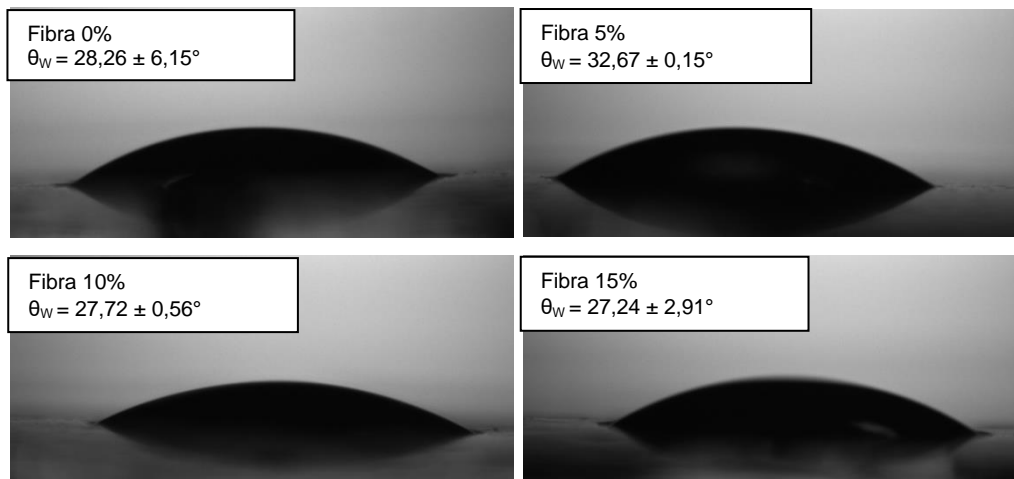


Figura 7. Ângulo da interface sólido-líquido das amostras avaliadas.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de um método verde para a extração dos compostos fenólicos presentes no coproduto de *Ilex paraguariensis*, através de um planejamento multivariado, foi muito vantajoso para obter um extrato aquoso comestível com alta capacidade antioxidante e baixa toxicidade, com mais vantagens, ainda, por poder diminuir os custos de obtenção ao utilizar menores tempos e baixa temperaturas, além de poder ser introduzido na indústria alimentícia em aplicações alimentares. Este estudo foi relevante para desenvolver técnicas mais acessíveis, além de seguras para o consumo humano.

O método de extração se mostrou simples, rápido e econômico. Na condição ótima 250 mg do coproduto foram simplesmente adicionados de 30 mL de água, agitados em banho-maria à 30 °C, durante 5 minutos, resultando na extração de 7,36 g de ácidos clorogênicos a partir de 100 g de coproduto. A simplicidade do método permite expansão em escala industrial, o que pode resultar na valorização industrial de uma matriz ainda inexplorada comercialmente, oriunda do cultivo de uma planta com elevada importância econômica para a região Sul do Brasil.

A técnica de *electrospinning* utilizando o amido de trigo como material polimérico apresentou vantagens e potencial uso para a produção de fibras e encapsulamento de compostos. O coproduto de *I. paraguariensis* teve sua maior eficiência de encapsulamento quando incorporado na concentração de 5%, sugerindo a saturação dos sítios ativos quando empregadas concentrações maiores. Investigações futuras são consideráveis para melhor entendimento do melhor destino das fibras, seja para o uso em embalagens ou à incorporação em alimentos, necessitando de análise específicas para tais usos, bem como ensaios quanto a bioacessibilidade, biodigestibilidade e estabilidade dos compostos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEGRA, E.; TITBALL, R. W.; CARTER, J.; CHAMPION, O. L. *Galleria mellonella* larvae allow the discrimination of toxic and non-toxic chemicals. **Chemosphere**, v. 198, p. 469–472, 1 maio 2018.
- ARÇARI, D. P. *et al.* Antiobesity Effects of yerba maté Extract (*Ilex paraguariensis*) in High-fat Diet-induced Obese Mice. **Obesity**, v. 17, n. 12, p. 2127–2133, 1 dez. 2009.
- ASHRAF, R.; SOFI, H. S.; MALIK, A.; BEIGH, M. A.; HAMID, R.; SHEIKH, F. A. Recent Trends in the Fabrication of Starch Nanofibers: Electrospinning and Non-electrospinning Routes and Their Applications in Biotechnology. **Applied Biochemistry and Biotechnology** 2018 **187:1**, v. 187, n. 1, p. 47–74, 8 jun. 2018.
- BAKOWSKA, A.; KUCHARSKA, A. Z.; OSZMIAŃSKI, J. The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin-polyphenol copigment complex. **Food Chemistry**, v. 81, n. 3, p. 349–355, 2003.
- BASTOS, D. H. M.; FORNARI, A. C.; QUEIROZ, Y. S.; TORRES, E. A. F. S. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerba maté (*Ilex paraguariensis*) leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 3, p. 399–404, 2006.
- BRACESCO, N.; SANCHEZ, A. G.; CONTRERAS, V.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 3, p. 378–384, 2011.
- BRAVO, L.; GOYA, L.; LECUMBERRI, E. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. **Food Research International**, v. 40, n. 3, p. 393–405, abr. 2007.
- BRAVO, L.; MATEOS, R.; SARRIÁ, B.; BAEZA, G.; LECUMBERRI, E.; RAMOS, S.; GOYA, L. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in high-cholesterol fed rats. **Fitoterapia**, v. 92, p. 219–229, 1 jan. 2014.
- BREMER BOAVENTURA, B. C.; SILVA, E. L. DA; LIU, R. H.; PRUDÊNCIO, E. S.; PIETRO, P. F. DI; BECKER, A. M.; AMBONI, R. D. DE M. C. 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, n. 2, p. 948–954, 1 jul. 2015.
- BROWNE, N.; HEELAN, M.; KAVANAGH, K. An analysis of the structural and functional similarities of insect hemocytes and mammalian phagocytes. 2013.
- BRUNI, G. P.; OLIVEIRA, J. P. DE; FONSECA, L. M.; SILVA, F. T. DA; DIAS, A. R. G.; ROSA ZAVAREZE, E. DA. Biocomposite Films Based on Phosphorylated Wheat Starch and

Cellulose Nanocrystals from Rice, Oat, and Eucalyptus Husks. **Starch - Stärke**, v. 72, n. 3–4, p. 1900051, 1 mar. 2020.

BURRIS, K. P.; HARTE, F. M.; DAVIDSON, P. M.; STEWART, C. N.; ZIVANOVIC, S. COMPOSITION AND BIOACTIVE PROPERTIES OF YERBA MATE (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): A REVIEW. **CHILEAN JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH**, v. 72, n. 2, 2012.

CANDIOTI, L. V.; ZAN, M. M. DE; CÁMARA, M. S.; GOICOECHEA, H. C. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. **Talanta**, v. 124, p. 123–138, 15 jun. 2014.

CAO, P.; WU, G.; YAO, Z.; WANG, Z.; LI, E.; YU, S.; LIU, Q.; GILBERT, R. G.; LI, S. Effects of amylose and amylopectin molecular structures on starch electrospinning. **Carbohydrate Polymers**, v. 296, p. 119959, 15 nov. 2022.

CAVANHOLI, M. G.; WANDERLEY, B. R. DA S. M.; SANTETTI, G. S.; AMBONI, R. D. DE M. C.; FRITZEN-FREIRE, C. B. Influência da adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) em pó nas características físico-químicas e no potencial bioativo de hidroméis. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e25010917821, 25 jul. 2021.

CONAB. **A cultura do trigo**. [s.l: s.n.].

CORREA, V. G.; GONÇALVES, G. A.; SÁ-NAKANISHI, A. B. DE; FERREIRA, I. C. F. R.; BARROS, L.; DIAS, M. I.; KOEHNLEIN, E. A.; SOUZA, C. G. M. DE; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. Effects of in vitro digestion and in vitro colonic fermentation on stability and functional properties of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) beverages. **Food Chemistry**, v. 237, p. 453–460, 15 dez. 2017.

COSTA, N. M. B.; ROSA, C. DE O. B. **Editoras**. [s.l: s.n.].

CRUZ, E. P. DA; FONSECA, L. M.; RADÜNZ, M.; SILVA, F. T. DA; GANDRA, E. A.; ZAVAREZE, E. DA R.; BORGES, C. D. Pinhão coat extract encapsulated in starch ultrafine fibers: Thermal, antioxidant, and antimicrobial properties and in vitro biological digestion. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 7, p. 2886–2897, 1 jul. 2021.

CUI, C.; JI, N.; WANG, Y.; XIONG, L.; SUN, Q. Bioactive and intelligent starch-based films: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 116, p. 854–869, 1 out. 2021.

CUTULI, M. A.; PETRONIO, G. P.; VERGALITO, F.; MAGNIFICO, I.; PIETRANGELO, L.; VENDITTI, N.; MARCO, R. DI. Galleria mellonella as a consolidated in vivo model hosts: New developments in antibacterial strategies and novel drug testing. 2019.

DOLAN, N.; GAVIN, D. P.; ESHWIK, A.; KAVANAGH, K.; MCGINLEY, J.; STEPHENS, J. C. Synthesis, antibacterial and anti-MRSA activity, in vivo toxicity and a structure–activity

relationship study of a quinoline thiourea. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 2, p. 630–635, 15 jan. 2016.

FONSECA, L. M.; CRUXEN, C. E. DOS S.; BRUNI, G. P.; FIORENTINI, Â. M.; ZAVAREZE, E. DA R.; LIM, L. T.; DIAS, A. R. G. Development of antimicrobial and antioxidant electrospun soluble potato starch nanofibers loaded with carvacrol. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 139, p. 1182–1190, 15 out. 2019a.

FONSECA, L. M.; OLIVEIRA, J. P. DE; CRIZEL, R. L.; SILVA, F. T. DA; ROSA ZAVAREZE, E. DA; BORGES, C. D. Electrospun Starch Fibers Loaded with Pinhão (*Araucaria angustifolia*) Coat Extract Rich in Phenolic Compounds. **Food Biophysics**, v. 15, n. 3, p. 355–367, 1 set. 2020.

FONSECA, L. M.; OLIVEIRA, J. P. DE; OLIVEIRA, P. D. DE; ROSA ZAVAREZE, E. DA; DIAS, A. R. G.; LIM, L. T. Electrospinning of native and anionic corn starch fibers with different amylose contents. **Food Research International**, v. 116, p. 1318–1326, 1 fev. 2019.

FONSECA, L. M.; RADÜNZ, M.; SANTOS HACKBART, H. C. DOS; SILVA, F. T. DA; CAMARGO, T. M.; BRUNI, G. P.; MONKS, J. L. F.; ROSA ZAVAREZE, E. DA; DIAS, A. R. G. Electrospun potato starch nanofibers for thyme essential oil encapsulation: antioxidant activity and thermal resistance. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 11, p. 4263–4271, 30 ago. 2020.

FONSECA, L. M.; SOUZA, E. J. D.; RADÜNZ, M.; GANDRA, E. A.; ZAVAREZE, E. DA R.; DIAS, A. R. G. Suitability of starch/carvacrol nanofibers as biopreservatives for minimizing the fungal spoilage of bread. **Carbohydrate Polymers**, v. 252, p. 117166, 15 jan. 2021.

FUENTES, C.; CASTAÑEDA, R.; RENGEL, F.; PEÑARRIETA, J. M.; NILSSON, L. Characterization of molecular properties of wheat starch from three different types of breads using asymmetric flow field-flow fractionation (AF4). **Food Chemistry**, v. 298, p. 125090, 15 nov. 2019.

GEBARA, K. S.; GASPAROTTO-JUNIOR, A.; SANTIAGO, P. G.; CARDOSO, C. A. L.; SOUZA, L. M. DE; MORAND, C.; COSTA, T. A.; CARDOZO-JUNIOR, E. L. Daily Intake of Chlorogenic Acids from Consumption of Maté (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) Traditional Beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 46, p. 10093–10100, 22 nov. 2017.

GIL-MARTÍN, E.; FORBES-HERNÁNDEZ, T.; ROMERO, A.; CIANCIOSI, D.; GIAMPIERI, F.; BATTINO, M. Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products. **Food Chemistry**, v. 378, p. 131918, 1 jun. 2022.

GÖNEN, S. Ö.; EROL TAYGUN, M.; AKTÜRK, A.; KÜÇÜKBAYRAK, S. Fabrication of nanocomposite mat through incorporating bioactive glass particles into gelatin/poly(ε-

caprolactone) nanofibers by using Box–Behnken design. **Materials Science and Engineering: C**, v. 67, p. 684–693, 1 out. 2016.

GOULART, I. C. G. D. R.; SANTIN, D.; BRASILEIRO, B. P. Fatores que afetam a produtividade na cultura da erva-mate. **Ciência Florestal**, v. 32, n. 3, p. 1345–1367, 28 nov. 2022.

HALAL, S. L. M. EL; KRINGEL, D. H.; ZAVAREZE, E. DA R.; DIAS, A. R. G. **Methods for Extracting Cereal Starches from Different Sources: A Review** *Starch/Staerke* Wiley-VCH Verlag, , 1 nov. 2019.

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

HUPFFER, H. M.; LAZZARETTI, L. L. NANOTECNOLOGIA E SUA REGULAMENTAÇÃO NO BRASIL. **Revista Gestão e Desenvolvimento**, v. 16, n. 3, p. 153, 9 set. 2019.

IMRE, B.; PUKÁNSZKY, B. Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer blends. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 6, p. 1215–1233, 1 jun. 2013.

ISOLABELLA, S.; COGOI, L.; LÓPEZ, P.; ANESINI, C.; FERRARO, G.; FILIP, R. Study of the bioactive compounds variation during yerba mate (*Ilex paraguariensis*) processing. **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 695–699, 1 out. 2010.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; NAIR, S. V.; TAMURA, H. Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 1, p. 142–150, 1 jan. 2010.

KIM, H. S.; HUBER, K. C. Channels within soft wheat starch A- and B-type granules. **Journal of Cereal Science**, v. 48, n. 1, p. 159–172, 1 jul. 2008.

KIM, J. I.; HWANG, T. I.; AGUILAR, L. E.; PARK, C. H.; KIM, C. S. A Controlled Design of Aligned and Random Nanofibers for 3D Bi-functionalized Nerve Conduits Fabricated via a Novel Electrospinning Set-up. **Scientific Reports** **2016 6:1**, v. 6, n. 1, p. 1–12, 29 mar. 2016.

KOMES, D.; HORŽIĆ, D.; BELŠČAK, A.; GANIĆ, K. K.; VULIĆ, I. Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 43, n. 1, p. 167–176, 1 jan. 2010.

KUJAWSKA, M. Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) Beverage: Nutraceutical Ingredient or Conveyor for the Intake of Medicinal Plants? Evidence from Paraguayan Folk Medicine. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, 2018.

KUZ, P.; ATEŞ, M. Starch-Based Bioplastic Materials for Packaging Industry. **Journal of Sustainable Construction Materials and Technologies**, v. 5, n. 1, p. 399–406, 22 abr. 2020.

KWADHA, C. A.; ONG'AMO, G. O.; NDEGWA, P. N.; RAINA, S. K.; FOMBONG, A. T.; STOUT, M. J.; DAVIS, J.; DIAZ, R.; BEUZELIN, J. M. The Biology and Control of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella*. **Insects** **2017**, Vol. 8, Page 61, v. 8, n. 2, p. 61, 9 jun. 2017.

LANDAU, E. C.; SILVA, G. A. DA; TORRES, T. **Capítulo 22 Evolução da Produção de Erva-mate (*Ilex paraguariensis*, Aquifoliaceae)**. [s.l: s.n.].

LIM, L. T. Electrospinning and electrospraying technologies for food and packaging applications. **Electrospun Polymers and Composites: Ultrafine Materials, High Performance Fibers and Wearables**, p. 217–259, 1 jan. 2021.

LIM, L. T.; MENDES, A. C.; CHRONAKIS, I. S. Electrospinning and electrospraying technologies for food applications. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 88, p. 167–234, 1 jan. 2019.

LIMA, J. D. P.; FARAH, A.; KING, B.; PAULIS, T. DE; MARTIN, P. R. Distribution of Major Chlorogenic Acids and Related Compounds in Brazilian Green and Toasted *Ilex paraguariensis* (Maté) Leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 11, p. 2361–2370, 23 mar. 2016.

LIU, G.; GU, Z.; HONG, Y.; CHENG, L.; LI, C. Electrospun starch nanofibers: Recent advances, challenges, and strategies for potential pharmaceutical applications. **Journal of Controlled Release**, v. 252, p. 95–107, 28 abr. 2017.

LIU, Y.; QI, Y.; CHEN, X.; HE, H.; LIU, Z.; ZHANG, Z.; REN, Y.; REN, X. Phenolic compounds and antioxidant activity in red- and in green-fleshed kiwifruits. **Food Research International**, 2018.

LORINI, A.; DAMIN, F. M.; OLIVEIRA, D. N. DE; CRIZEL, R. L.; GODOY, H. T.; GALLI, V.; MEINHART, A. D. Characterization and quantification of bioactive compounds from *Ilex paraguariensis* residue by HPLC-ESI-QTOF-MS from plants cultivated under different cultivation systems. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 5, p. 1599–1619, 2021.

LORINI, A.; DAMIN, F. M.; OLIVEIRA, D. N. DE; RAMIRES, T.; ROMBALDI, C. V.; ZAVAREZE, E. DA R.; DIAS, Á. R. G.; GODOY, H. T.; SILVA, W. P. DA; GALLI, V.; MEINHART, A. D. Multivariate optimization results in an edible extract from *Ilex paraguariensis* unexplored residues with a high amount of phenolic compounds. **Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes**, v. 57, n. 1, p. 23–38, 2022.

MAGUIRE, R.; DUGGAN, O.; KAVANAGH, K. Evaluation of *Galleria mellonella* larvae as an in vivo model for assessing the relative toxicity of food preservative agents. **Cell Biology and Toxicology**, v. 32, n. 3, p. 209–216, 1 jun. 2016.

MANACH, C.; MAZUR, A.; SCALBERT, A. **Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases****Current Opinion in Lipidology**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://journals.lww.com/co-lipidology>>.

MAR, J. M.; SILVA, L. S. DA; MOREIRA, W. P.; BIONDO, M. M.; PONTES, F. L. D.; CAMPOS, F. R.; KINUPP, V. F.; CAMPELO, P. H.; SANCHES, E. A.; BEZERRA, J. DE A. Edible flowers from *Theobroma speciosum*: Aqueous extract rich in antioxidant compounds. **Food Chemistry**, v. 356, p. 129723, 15 set. 2021.

MARTIN, J. G. P.; PORTO, E.; ALENCAR, S. M. DE; GLÓRIA, E. M. DA; CORRÊA, C. B.; CABRAL, I. S. R. **Antimicrobial activity of yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) against food pathogens****Rev Argent Microbiol**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.elsevier.es/ram>.

MEGAW, J.; THOMPSON, T. P.; LAFFERTY, R. A.; GILMORE, B. F. *Galleria mellonella* as a novel in vivo model for assessment of the toxicity of 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquids. **Chemosphere**, v. 139, p. 197–201, 1 nov. 2015.

MEI, L.; ZHANG, Z.; ZHAO, L.; HUANG, L.; YANG, X. L.; TANG, J.; FENG, S. S. Pharmaceutical nanotechnology for oral delivery of anticancer drugs. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 6, p. 880–890, 15 jun. 2013.

MEJÍA, E. G. DE; SONG, Y. S.; HECK, C. I.; RAMÍREZ-MARES, M. V. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): Phenolics, antioxidant capacity and in vitro inhibition of colon cancer cell proliferation. **Journal of Functional Foods**, v. 2, n. 1, p. 23–34, jan. 2010.

MENDES, A. C.; STEPHANSEN, K.; CHRONAKIS, I. S. Electrospinning of food proteins and polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 53–68, 1 jul. 2017.

MERCANTE, L. A.; ANDRE, R. S.; MACEDO, J. B.; PAVINATTO, A.; CORREA, D. S. Nanofibras eletrofiadas e suas aplicações: avanços na última década. **Química Nova**, v. 44, n. 6, p. 717–736, 11 ago. 2021.

MOYA-ANDÉRICO, L.; VUKOMANOVIC, M.; CENDRA, M. DEL M.; SEGURA-FELIU, M.; GIL, V.; RÍO, J. A. DEL; TORRENTS, E. Utility of *Galleria mellonella* larvae for evaluating nanoparticle toxicology. **Chemosphere**, v. 266, 1 mar. 2021.

MURAKAMI, A. N. N.; AMBONI, R. D. DE M. C.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMANTE, E. R.; ZANOTTA, L. DE M.; MARASCHIN, M.; PETRUS, J. C. C.; TEÓFILO, R. F. Concentration of phenolic compounds in aqueous mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil) extract through nanofiltration. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 10, p. 2211–2216, 1 dez. 2011.

MYLONAKI, S.; KIASOS, E.; MAKRIS, D. P.; KEFALAS, P. Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 392, n. 5, p. 977–985, nov. 2008.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1–2, p. 95–111, 29 out. 2004.

NETO, B. DE B.; SCARMINIO, I. SPACINO.; BRUNS, R. EDWARD. **Como fazer experimentos : pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria (4a. ed.)**. [s.l.] Grupo A - Bookman, 2010.

PAGLIOSA, C. M.; VIEIRA, M. A.; PODESTÁ, R.; MARASCHIN, M.; ZENI, A. L. B.; AMANTE, E. R.; AMBONI, R. D. DE M. C. Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 173–178, 2010.

PANDEY, V. K.; UPADHYAY, S. N.; NIRANJAN, K.; MISHRA, P. K. Antimicrobial biodegradable chitosan-based composite Nano-layers for food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 157, p. 212–219, 15 ago. 2020.

PANJA, P. Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. **Current Opinion in Food Science**, v. 23, p. 173–182, 1 out. 2018.

PANTHI, G.; PARK, S. J.; CHAE, S. H.; KIM, T. W.; CHUNG, H. J.; HONG, S. T.; PARK, M.; KIM, H. Y. Immobilization of Ag₃PO₄ nanoparticles on electrospun PAN nanofibers via surface oximation: Bifunctional composite membrane with enhanced photocatalytic and antimicrobial activities. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 45, p. 277–286, 25 jan. 2017.

PERALTA-ZAMORA, P.; MORAIS, J. L. DE; NAGATA, N. Por que otimização multivariada? **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 106–110, jun. 2005.

PERSANO, L.; CAMPOSEO, A.; TEKMEK, C.; PISIGNANO, D. Industrial Upscaling of Electrospinning and Applications of Polymer Nanofibers: A Review. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 298, n. 5, p. 504–520, 1 maio 2013.

PIRES, J. B.; FONSECA, L. M.; SIEBENEICHLER, T. J.; CRIZEL, R. L.; SANTOS, F. N. DOS; HACKBART, H. C. DOS S.; KRINGEL, D. H.; MEINHART, A. D.; ZAVAREZE, E. DA R.; DIAS, A. R. G. Curcumin encapsulation in capsules and fibers of potato starch by electrospraying and electrospinning: Thermal resistance and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 162, p. 112111, 1 dez. 2022.

ROLLAND-SABATÉ, A.; SÁNCHEZ, T.; BULÉON, A.; COLONNA, P.; JAILLAIS, B.; CEBALLOS, H.; DUFOUR, D. Structural characterization of novel cassava starches with low

and high-amylose contents in comparison with other commercial sources. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 161–174, 1 maio 2012.

RUESGAS-RAMÓN, M.; FIGUEROA-ESPINOZA, M. C.; DURAND, E. Application of Deep Eutectic Solvents (DES) for Phenolic Compounds Extraction: Overview, Challenges, and Opportunities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 18, p. 3591–3601, 10 maio 2017.

SANTOS, F. N. DOS; SOUZA, E. J. D. DE; JÉSSICA SIEBENEICHLER, T.; BUCHVEITZ PIRES, J.; HÜTTNER KRINGEL, D.; DILLENBURG MEINHART, A.; RENATO GUERRA DIAS, A.; ROSA ZAVAREZE, E. DA. Multivariate Analysis as Tool for Optimization of Anthocyanins Extraction from Jambolan (*Syzygium cumini* L.). **Food Analytical Methods**, v. 15, n. 9, p. 2524–2536, 1 set. 2022.

SANTOS, L. P. DOS; CAON, T.; BATTISTI, M. A.; SILVA, C. H. B. DA; SIMÕES, C. M. O.; REGINATTO, F. H.; CAMPOS, A. M. DE. Antioxidant polymeric nanoparticles containing standardized extract of *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. for topical use. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 738–747, 1 dez. 2017.

SCHMATZ, D. A.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. DE. A novel nanocomposite for food packaging developed by electrospinning and electrospraying. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 20, p. 100314, 1 jun. 2019.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. **Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review** *Journal of Functional Foods* Elsevier Ltd, , 1 out. 2015.

SILVA, G. T. DA; SILVA, R. P. DE P. E; BORGES, B.; BRITO, C. DOS A.; SCHMIELE, M.; COSTA, J. M. G. DA. Processo de extração do amido de aveia: estudo de revisão. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 5, p. e9812540361, 7 maio 2023.

SILVA, S. J. M.; SOUZA, A. R. DE; RODRIGUES, R. C.; RIBEIRO, M. V. F.; NEVES, N. DE A.; PINTO, N. A. V. D.; SCHMIELE, M. Otimização e caracterização físico-química de bolo tipo muffin adicionado de derivados de café (*Coffea arabica* L.). **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e32011931793, 10 jul. 2022.

SILVEIRA, M. M. DA; DITTGEN, C. L.; BATISTA, C. DE S.; BIDUSKI, B.; GUTKOSKI, L. C.; VANIER, N. L. Discrimination of the quality of Brazilian wheat genotypes and their use as whole-grains in human nutrition. **Food Chemistry**, v. 312, p. 126074, 15 maio 2020.

SILVEIRA, T. F. F. DA; MEINHART, A. D.; SOUZA, T. C. L. DE; TEIXEIRA FILHO, J.; GODOY, H. T. Phenolic compounds from yerba mate based beverages - A multivariate optimisation. **Food Chemistry**, v. 190, p. 1159–1167, 7 jul. 2016.

SOUZA, E. J. D. DE; SANTOS, F. N. DOS; PIRES, J. B.; KRINGEL, D. H.; SILVA, W. M. F. DA; MEINHART, A. D.; DIAS, A. R. G.; ZAVAREZE, E. DA R. Production and Optimization

of Ultrafine Fiber from Yam Starch by Electrospinning Method Using Multivariate Analysis. **Starch - Stärke**, v. 73, n. 3–4, p. 2000174, 1 mar. 2021.

SOUZA, M. F. F. Chá mate (*Ilex paraguariensis*): compostos bioativos e relação com atividade biológica. p. 147, 2009.

TAJIK, N.; TAJIK, M.; MACK, I.; ENCK, P. The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. **Eur J Nutr**, v. 56, p. 2215–2244, 2017.

TANG, Y.; ZHOU, Y.; LAN, X.; HUANG, D.; LUO, T.; JI, J.; MAFANG, Z.; MIAO, X.; WANG, H.; WANG, W. Electrospun Gelatin Nanofibers Encapsulated with Peppermint and Chamomile Essential Oils as Potential Edible Packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 8, p. 2227–2234, 27 fev. 2019.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338–350, 2006.

VANIER, N. L.; HALAL, S. L. M. EL; DIAS, A. R. G.; ROSA ZAVAREZE, E. DA. Molecular structure, functionality and applications of oxidized starches: A review. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1546–1559, 15 abr. 2017.

VANIER, N. L.; OLIVEIRA, J. P. DE; BRUNI, G. P.; HALAL, S. L. M. EL; VILLANOVA, F. A.; ZAVAREZE, E. DA R.; DIAS, A. R. G.; BASSINELLO, P. Z. Characteristics of starch from different bean genotypes and its effect on biodegradable films. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 3, p. 1207–1214, 1 fev. 2019.

VELLÉ, A.; MAGUIRE, R.; KAVANAGH, K.; SANZ MIGUEL, P. J.; MONTAGNER, D. Steroid–Aul–NHC Complexes: Synthesis and Antibacterial Activity. **ChemMedChem**, v. 12, n. 11, p. 841–844, 7 jun. 2017.

VIÉGAS, L. P. PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS A PARTIR DE AMIDO COM QUITOSANA PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS. 2016.

VIEIRA, M. A.; MARASCHIN, M.; DIAS DE MELLO, R.; AMBONI, C.; PRUDÊNCIO, E. S.; PAGLIOSA, C. M.; BARBOSA, M.; MANTELLI, H.; AMANTE, E. R.; SOUZA DA SILVA, L.; WALTER, M. Thermal condition of mate (*Ilex paraguariensis*) processing. **Ciência Rural**, v. 53, n. 10, p. e20220178, 14 abr. 2023.

WAN, C. W.; WONG, C. N. Y.; PIN, W. K.; WONG, M. H. Y.; KWOK, C. Y.; CHAN, R. Y. K.; YU, P. H. F.; CHAN, S. W. Chlorogenic acid exhibits cholesterol lowering and fatty liver attenuating properties by up-regulating the gene expression of PPAR- α in hypercholesterolemic rats induced with a high-cholesterol diet. **Phytotherapy Research**, v. 27, n. 4, p. 545–551, abr. 2013.

WANG, H.; YANG, Q.; FERDINAND, U.; GONG, X.; QU, Y.; GAO, W.; IVANISTAU, A.; FENG, B.; LIU, M. Isolation and characterization of starch from light yellow, orange, and purple sweet potatoes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 660–668, 1 out. 2020.

WESTPHALEN, D. J.; ANGELO, A. C.; BOARETTO ROSSA, Ü.; VIEIRA HELM, C.; RADETSKI, M.; GOMES, E. N. Rev Bras Plantas Med / Braz. **J Med Plants**, v. 22, p. 99–107, 2020.

WIGATI, L. P.; WARDANA, A. A.; TANAKA, FUMINA; TANAKA, FUMIHIKO. Edible film of native jicama starch, agarwood Aetoxylon Bouya essential oil and calcium propionate: Processing, mechanical, thermal properties and structure. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 209, p. 597–607, 1 jun. 2022.

ZHANG, B.; GUO, K.; LIN, L.; WEI, C. Comparison of Structural and Functional Properties of Starches from the Rhizome and Bulbil of Chinese Yam (*Dioscorea opposita* Thunb.). **Molecules** **2018**, Vol. **23**, Page **427**, v. 23, n. 2, p. 427, 15 fev. 2018.

ZHANG, C.; LI, Y.; WANG, P.; ZHANG, H. Electrospinning of nanofibers: Potentials and perspectives for active food packaging. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 2, p. 479–502, 1 mar. 2020.