

**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 fibras de 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 Völk 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 ( $DL_{50}$ ) 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 hidrofílicidade conforme o aumento da concentração do extrato e maior estabilidade do mesmo quando encapsulado, através da análise termogravimétrica. As fibras ultrafinas exibiram atividade antioxidant frete 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-dicaffeoylquine) 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 ELECTROSPINNING .....	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 predizer 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**

Producir 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 feixes 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; DICKELE 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.

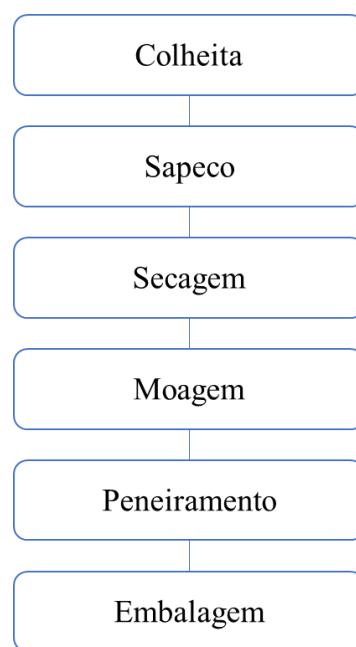


Figura 1. Etapas do processamento de *I. paraguariensis* na indústria ervateira

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 hidroxibenzoílico, 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).

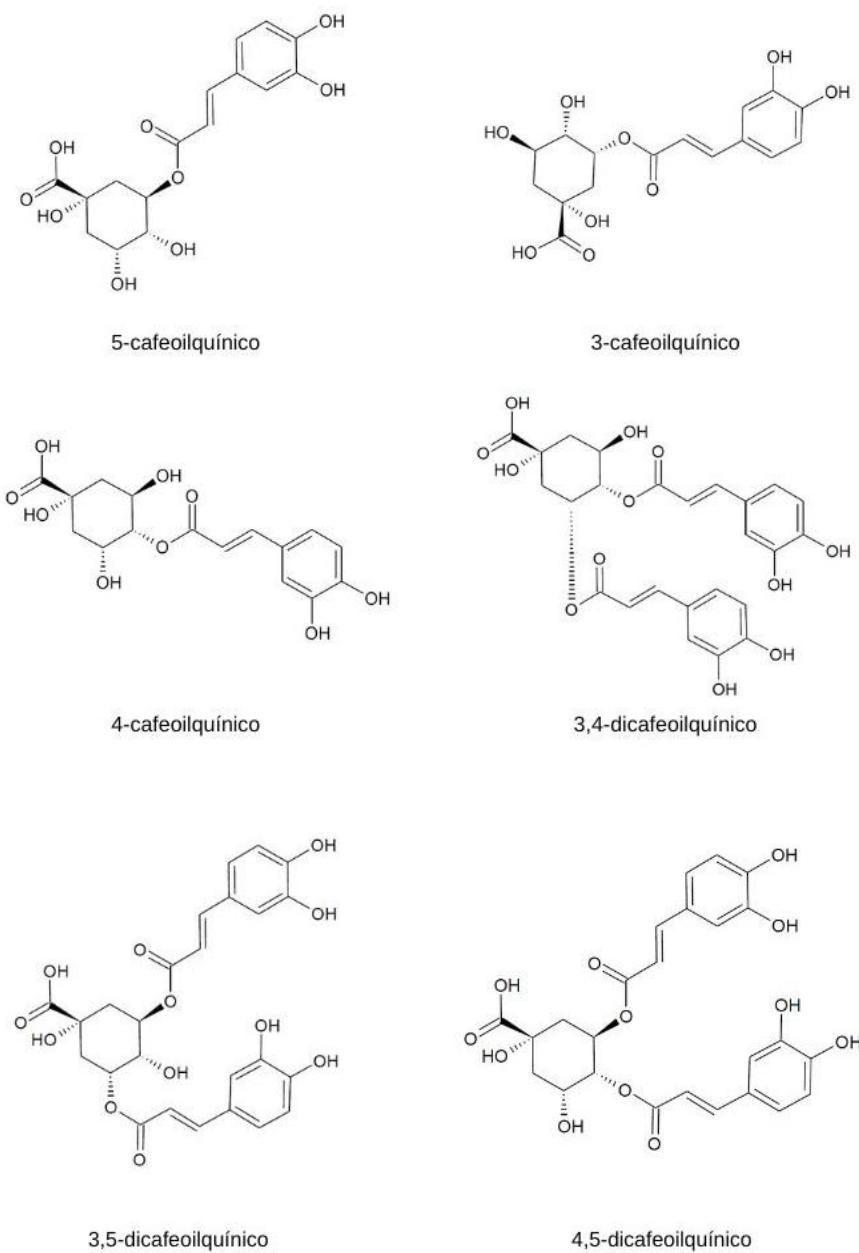


Figura 2. Estrutura química dos ácidos clorogênicos presentes na planta de *Ilex paraguariensis*.

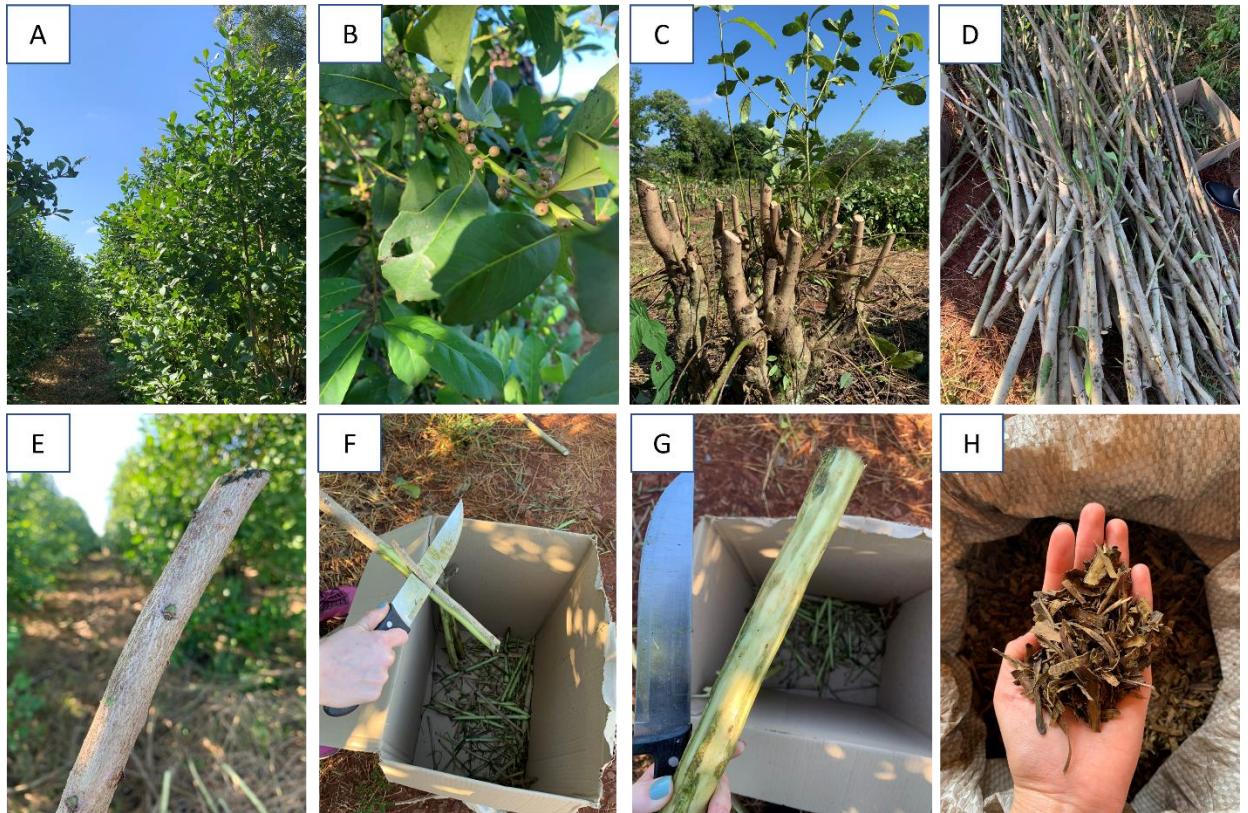
Fonte: Lazzarotto, 2021, com adaptações.

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; 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 hidroalcóolicas, 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 hidroalcóolicas 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<sup>-1</sup> 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 Pyralidae 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 DL<sub>50</sub> 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).

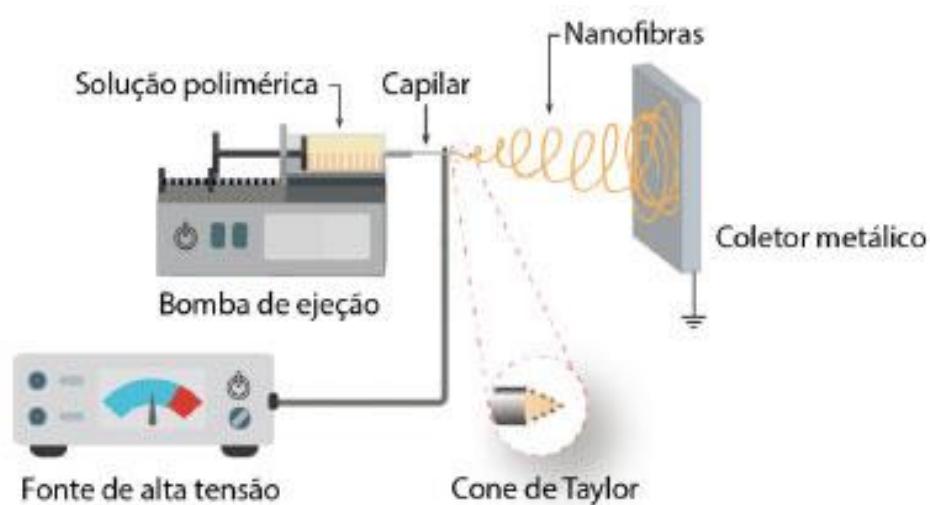


Figura 5. Esquema de funcionamento da estação de *electrospinning*

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

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

Souza e colaboradores (2021) realizaram um planejamento multivariado  $2^3$  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  $\alpha$ -1,4 ou  $\alpha$ -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  $\alpha$ -1,4, ao passo que a amilopectina é um polímero ramificado de glicose com ligações  $\alpha$ -1,4 e ramificações do tipo  $\alpha$ -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 proteica. 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).

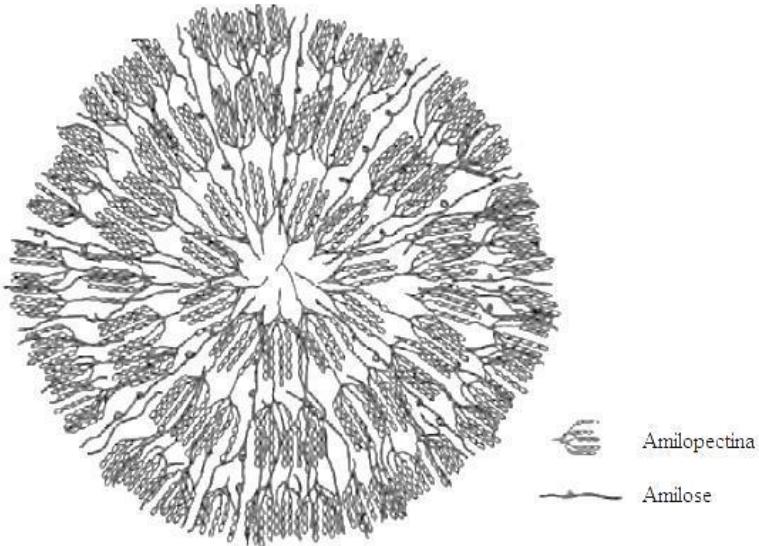


Figura 6. Organização e estrutura do grânulo de amido.

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).

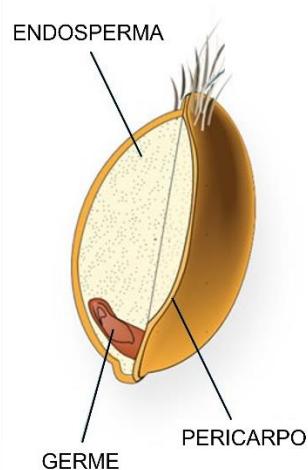


Figura 7. Estrutura do grão de trigo

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**

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

3  
4      Yasmin Völz Bezerra Massaut<sup>a\*</sup>, Bruna Trindade Paim<sup>a</sup>, Laura de Vasconcelos  
5      Costa<sup>a</sup>, Thaís Regina Rodrigues Vieira<sup>a</sup>, Thamyres Cesar de Albuquerque  
6      Sousa<sup>a</sup>, Lucas Adriano Nascimento Gehres<sup>a</sup>, Helen Cristina dos Santos  
7      Hackbart<sup>a</sup>, Adriana Dillenburg Meinhart<sup>a</sup>

8  
9      <sup>a</sup>*Department of Food Science and Agrotechnology, Federal University of Pelotas*  
10     (*UFPEL*), 96105-900, Pelotas, RS, Brazil. E-mail: [yasmin\\_vbm@hotmail.com](mailto:yasmin_vbm@hotmail.com);  
11     [yasminmassaut@gmail.com](mailto:yasminmassaut@gmail.com); [adrianadille@gmail.com](mailto:adrianadille@gmail.com)

12     \* Corresponding author

13

14     **Abstract**

15

16     The external part of the residue generated during pruning of *Ilex paraguariensis*  
17     (referred to as co-product) is rich in phenolic compounds, predominantly  
18     chlorogenic acids. Despite this, this matrix has not been commercially exploited.  
19     There are currently no standardized methods for the green extraction of  
20     chlorogenic acids from this matrix, which would enable the application of these  
21     compounds in food. In this study, a multivariate design and a univariate study  
22     were employed to propose a green method for the extraction of a high quantity of  
23     the six isomers of chlorogenic acids from the co-product of *I. paraguariensis*. The  
24     extract obtained under optimal conditions, determined using desirability function,  
25     was evaluated for its chlorogenic acid content, *in vivo* toxicity, reducing potential,  
26     and antioxidant activity. After optimization, the study revealed a cost-effective  
27     method: 0.25 g of the co-product is simply mixed with 30 mL of water, agitated in  
28     a water bath at 30°C for 5 minutes, resulting in the extraction of 7.36 g of  
29     chlorogenic acids from 100 g of the co-product. The extract showed an LD<sub>50</sub> at a  
30     concentration of 5.8 g per kg of body weight and safe for ingestion up to 5.2 g/kg  
31     in the *Galleria mellonella* model, corresponding to 0.36 kg for a 70 kg human. The  
32     reducing capacity and antioxidant activity against DPPH and ABTS radicals were  
33     equivalent to those obtained by other methods employing different solvents. The  
34     optimized method is simple, fast, easy to apply, and high yield, allowing for its  
35     large-scale application in the food industry.

36

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

38 **INTRODUCTION**

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

44       Currently, approximately 5 tons of residue per hectare are generated,  
45 corresponding to thick stems (with diameters larger than 10 mm), which are not  
46 yet used in commercial products and are discarded due to their advanced  
47 lignification state <sup>3</sup>. Considering that in Brazil, in 2021, the harvested area was  
48 68,616 hectares <sup>4</sup>, approximately 344 tons of residue were generated. According  
49 to Pagliosa et al. (2010) , this agricultural residue has high potential due to the  
50 presence of secondary metabolites in its chemical composition.

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

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

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

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

94 Regarding the extraction technique, the most commonly employed  
95 methods for phenolic acids are solid-liquid partitioning with the aid of agitation  
96 using a water bath, ultrasound-assisted extraction, microwave-assisted  
97 extraction, and subcritical and supercritical extractions<sup>27,28</sup>. Considering the high  
98 susceptibility of chlorogenic acids to isomerization and degradation, ultrasound-  
99 assisted extraction and microwave-assisted extraction may not be the most  
100 suitable techniques. Subcritical and supercritical extractions can be costly to  
101 implement, although they yield excellent results. Considering the purpose of

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

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

110

## 111 MATERIAL E METHODS

### 112 Reagents

113 Ethanol (Neon, Suzano, Brazil), hexane and trichloroacetic acid  
114 (Dinâmica, Indaiatuba, Brazil) of analytical grade PA; formic acid (Sigma-Aldrich,  
115 Darmstadt, Germany) and methanol (Honeywell, Wabash, USA) of  
116 chromatographic grade were used. The standards of chlorogenic acids 3-  
117 caffeoylquinic acid (3-CQA), 4-caffeoylquinic acid (4-CQA), 5-caffeoylquinic acid  
118 (5-CQA), 3,4-dicaffeoylquinic acid (3,4-DQA), 3,5-dicaffeoylquinic acid (3,5-  
119 DQA), and 4,5-dicaffeoylquinic acid (4,5-CQA) were obtained from Biopurify  
120 (Chengu, China). Gallic acid P.A from Dinâmica (Indaiatuba, SP, Brazil). The  
121 MegaPurity® system from MecLab (Jacareí, Brazil) was used for water  
122 purification.

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

### 127 Obtaining the residue

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

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

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

144 A multivariate optimization was performed to obtain an aqueous extract  
145 rich in chlorogenic acids. A central composite design 2<sup>3</sup> was employed for the  
146 optimization, including central and axial points, according to De Barros Neto  
147 (2010). The variables investigated were infusion time (5 to 60 min), extraction  
148 water temperature (30 °C to 85 °C), and water volume (5 mL to 30 mL). For the  
149 multivariate optimization, 250 mg of the sample was weighed into amber bottles.  
150 Next, filtered water was added to the volume corresponding to the experimental  
151 design. The tubes were hermetically sealed and placed in a magnetic stirring bath  
152 at the temperatures and times specified by the experimental design. After the  
153 specified time elapsed, the extracts were filtered using a 0.22 µm nylon  
154 membrane and stored in Eppendorf tubes in a freezer until the time of analysis  
155 (maximum 2 days) of chlorogenic acid isomers by high-performance liquid  
156 chromatography (HPLC) coupled with electrospray ionization and quadrupole  
157 time-of-flight mass spectrometry (ESI-QTOF-MS). All experiments were  
158 conducted randomly and in triplicate.

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

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

171 **Methods of analysis**

172 ***Chlorogenic acids***

173 The analysis of chlorogenic acids, including 5-caffeoylquinic acid, 3-  
174 caffeoylquinic acid, 4-caffeoylquinic acid, 3,4-dicaffeoylquinic acid, 3,5-  
175 dicaffeoylquinic acid, and 4,5-dicaffeoylquinic acid, was performed using high-  
176 performance liquid chromatography with a diode array detector (UFLC,  
177 Shimadzu, Japan) operating at 325 nm. The system was equipped with an  
178 automatic injector, a quaternary pump, and a Cogent 2.0 Bidentate C18 column  
179 (MicroSolv Technology Corp., Leland, NC, USA) with dimensions of 2.1 mm i.d.,  
180 100 mm length, and 2.2 µm particle size. The column was maintained at a  
181 temperature of 40 °C. The analysis method was based on the one described by  
182 Lorini et al (2021).

183 The elution was performed using a gradient system starting with 99% of  
184 solvent A (water acidified with 0.1% formic acid) and 1% of solvent B (methanol).  
185 The gradient increased linearly until reaching 36% of solvent B at 35 minutes and  
186 was maintained for 2.5 minutes. From 37.5 to 40 minutes, the gradient reached  
187 100% of solvent B and was maintained for 1 minute for column cleaning  
188 purposes. Next, the column was reconditioned with the initial mobile phase  
189 composition for 5 minutes. The flow rate of the mobile phase was set at 0.2  
190 mL/min, and the injection volume was 10 µL. The identification of chlorogenic  
191 acids was performed by comparing the retention time, diode array detector (DAD)  
192 absorption spectrum, and co-chromatography with an analytical standard.

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

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

198 **Toxicity Assay**

199 The toxicity assay was conducted using the *Galleria mellonella* *in vivo*  
200 model, following the procedure described by Sardi et al. (2017). For the analysis,  
201 the aqueous extract was freeze-dried to prevent the degradation of chlorogenic  
202 compounds, resulting in a yield of 27.98% of chlorogenic acids in dry mass. To  
203 determine the lethal dose that kills 50% of the organisms (LD<sub>50</sub>), 11 dilutions of  
204 the freeze-dried aqueous extract from the pruning residue of *Ilex paraguariensis*  
205 were selected at concentrations of 10, 25, 40, 55, 70, 85, 100, 115, 130, 145, and  
206 160 mg/mL, along with a control group treated with distilled water. Five randomly  
207 selected larvae, weighing between 0.20 and 0.29 g, without signs of melanization,  
208 were used. The mentioned concentrations were injected into the abdominal  
209 hemocele (body cavity where the blood flows) of the larvae through the last left  
210 proleg using a 10 µL Hamilton syringe (Hamilton, Reno, NV). The larvae were  
211 incubated in petri dishes in a BOD incubator (ELETROLab, São Paulo/SP) at 30°C  
212 and monitored for survival after 24 hours, 48 hours, and 72 hours. The experiment  
213 was conducted in triplicate, and larvae that exhibited melanization and/or lack of  
214 movement upon touch were considered dead.

215 **Reducing capacity**

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

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

227 ***Antioxidant activity (DPPH and ABTS)***

228 The antioxidant activity was evaluated by DPPH radical <sup>32</sup> and ABTS  
229 radical <sup>33</sup> inhibition method. For the DPPH method, firstly, the solution was  
230 prepared using 6 mg of DPPH in 25 mL of methanol and 10 mL of the solution  
231 was diluted in 45 mL of methanol, and absorbance adjusted to 1.10 ± 0.02 at 515  
232 nm. Afterward, 3.9 mL of the DPPH solution was added to 10 mg of the extract  
233 and vortexed for 60 seconds. The mixture was then kept in the dark at room  
234 temperature (25 ± 2 °C) for 2 hours and 30 minutes. The absorbance was  
235 measured at 515 nm using a spectrophotometer (Jenway Model 6705 Scanning  
236 UV/Visible Spectrophotometers) with a quartz cuvette, and the result was  
237 expressed as percentage inhibition according to Equation 1.

238 Eq1 
$$Inhibition (\%) = \frac{Abs_{white} - Abs_{Sample}}{Abs_{white}} \times 100$$

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

249 ***Statistical analysis of data***

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

253

254        **RESULTS AND DISCUSSION**

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

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

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

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

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

289 These parameters differ from the study by Silveira et al. (2017), which  
290 investigated the optimal parameters for achieving maximum extraction of these  
291 phenolic acids during the preparation of mate tea leaf infusions. The authors  
292 observed that the best conditions were obtained when higher temperatures (95  
293 °C) and the maximum extraction time studied (16 min) were employed. Although,  
294 the matrix studied by Silveira et al. (2017) had a lower structural rigidity than the  
295 coproduct, and the authors did not use agitation or maintain it in a water bath, as  
296 they simulated the preparation of mate tea as done by consumers. Thus, it is  
297 possible that the presence of constant agitation and controlled temperature  
298 allowed for the use of milder conditions.

299 The optimized extraction condition allowed the extraction of  $7.36 \pm 0.07$   
300 g of the six major isomers present in 100 g of the coproduct. The isomer that was  
301 extracted in the highest quantity was 4,5-DQA, followed by 3,5-DQA, and the  
302 monocaffeoylquinic acids 3-CQA, 4-CQA, and 5-CQA. These compounds have  
303 proven biological action as hypolipidemic and hypocholesterolemic action<sup>35-37</sup>,  
304 hypoglycemic action and improvement of insulin resistance in metabolic  
305 syndrome<sup>38</sup>, hepatoprotection<sup>11,39</sup>, antiobesogenic action, with reduction of body  
306 fat<sup>40,41</sup>, anticancer action with reduction of colon cell proliferation<sup>13,14</sup>,  
307 neuroprotection and attenuation of lung cancer-related<sup>42</sup> damage prostatic  
308 carcinogenesis delay reducing the viability and proliferation of tumor cells<sup>43</sup> and  
309 protection against small intestine lesions<sup>44</sup>.

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

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

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

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

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

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

345

#### 346 **Toxicity Assay**

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

According to the Gosselin, Smith, and Hodge Scale<sup>50</sup>, which classifies LD<sub>50</sub> values for oral ingestion in humans, the LD<sub>50</sub> of the extract is considered slightly toxic (LD<sub>50</sub>: 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<sup>51</sup>. However, propolis extract exhibits moderate toxicity (LD<sub>50</sub>: 0.5-5 g/kg) at a concentration of 1.1 g/kg<sup>52</sup>. 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<sup>54,55</sup>, its use has been a great alternative for toxicological testing in an *in vivo* model.

368

### 369 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<sup>56</sup>. 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)<sup>57</sup>. 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.

383 Similar values are also found in the acetonic extract of coffee pulp and  
384 coffee industrial waste (72.88 and 77.25 mg EAG g-1, respectively)<sup>58</sup>, in the  
385 ethanolic extract of Cordia verbenácia leaves (79.48 mg EAG g-1)<sup>59</sup>, and lower  
386 than the methanol: water extract of jambolan fruits (148.3 mg EAG g-1)<sup>60</sup>.

387

### 388 **Antioxidant activity - DPPH and ABTS**

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

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

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

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

415 food and packaging materials from deteriorating, thus extending the shelf life of  
416 food products<sup>66</sup>.

417

## 418 CONCLUSION

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

433

## 434 Conflicts of interest

435 There are no conflicts to declare.

## 436 Acknowledgments

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

## 440 Funding

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

445 REFERENCES

- 446 1 M. A. Vieira, M. Maraschin, R. Dias De Mello, C. Amboni, E. S. Prudêncio,  
447 C. M. Pagliosa, M. Barbosa, H. Mantelli, E. R. Amante, L. Souza Da Silva  
448 and M. Walter, *Ciência Rural*, 2023, **53**, e20220178.
- 449 2 A. Lorini, F. M. Damin, D. N. de Oliveira, R. L. Crizel, H. T. Godoy, V. Galli  
450 and A. D. Meinhart, *J Food Sci*, 2021, **86**, 1599–1619.
- 451 3 C. M. Pagliosa, M. A. Vieira, R. Podestá, M. Maraschin, A. L. B. Zeni, E. R.  
452 Amante and R. D. de M. C. Amboni, *Food Chem*, 2010, **122**, 173–178.
- 453 4 I. B. de G. e E. IBGE, Produção da Extração Vegetal e Silvicultura.
- 454 5 C. Anesini, S. Turner, L. Cogoi and R. Filip, *LWT*, 2012, **45**, 299–304.
- 455 6 P. T. A. N. Kungel, V. G. Correa, R. C. G. Corrêa, R. A. Peralta, M. Soković,  
456 R. C. Calhelha, A. Bracht, I. C. F. R. Ferreira and R. M. Peralta, *Int J Biol  
457 Macromol*, 2018, **114**, 1161–1167.
- 458 7 M. Mesquita, E. Santos, C. A. Kassuya and M. J. Salvador, *J  
459 Ethnopharmacol*, 2021, **279**, 114401.
- 460 8 L. Bravo, R. Mateos, B. Sarriá, G. Baeza, E. Lecumberri, S. Ramos and L.  
461 Goya, *Fitoterapia*, 2014, **92**, 219–229.
- 462 9 R. D. A. Silva, A. L. S. Bueno, C. W. Gallon, L. F. Gomes, S. Kaiser, C.  
463 Pavei, G. G. Ortega, L. C. Kucharski and M. P. Jahn, *Fitoterapia*, 2011, **82**,  
464 818–826.
- 465 10 K. W. Ong, A. Hsu, L. Song, D. Huang and B. K. H. Tan, *J Ethnopharmacol*,  
466 2011, **133**, 598–607.
- 467 11 N. Ali, S. Rashid, S. Nafees, S. K. Hasan, A. Shahid, F. Majed and S.  
468 Sultana, *Chem Biol Interact*, 2017, **272**, 80–91.
- 469 12 E. P. S. Conceição, A. R. Kaezer, N. Peixoto-Silva, I. Felzenszwalb, E. De  
470 Oliveira, E. G. Moura and P. C. Lisboa, *J Dev Orig Health Dis*, 2017, **8**,  
471 123–132.
- 472 13 R. S. Garcia-Lazaro, H. Lamdan, L. G. Caligiuri, N. Lorenzo, A. L.  
473 Berengeno, H. H. Ortega, D. F. Alonso and H. G. Farina, *J Food Sci*, 2020,  
474 **85**, 2186–2197.
- 475 14 S. S. Ekbatan, X. Q. Li, M. Ghorbani, B. Azadi and S. Kubow, *International  
476 Journal of Molecular Sciences* 2018, Vol. 19, Page 723, 2018, **19**, 723.
- 477 15 J. B. Bavaresco, M. Bandeira, C. Raota, J. da S. Crespo and M. Giovanelia,  
478 *Scientia cum Industria*, 2020, **8**, 39–45.
- 479 16 N. Grujic, Z. Lepojevic, B. Srdjenovic, J. Vladic and J. Sudji, *Molecules*,  
480 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 Sanitária 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. Hernandes, 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 Anwers 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 <sup>a</sup>			Decoded Variables and Levels			Concentration (g 100 g <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>						
	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

<sup>a</sup> A: time (min), B: temperature (°C) and C: volume (mL); <sup>b</sup> 5-CQA: 5-caffeoylequinic acids; 3-CQA: 3-caffeoylequinic acids; 4-CQA: 4-caffeoylequinic acids; 3,4-DQA: 3,4-dicaffeoylquinic acids; 3,5-DQA: 3,5-dicaffeoylquinic acids; 4,5-DQA: 4,5-dicaffeoylquinic acids.

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

Compounds <sup>a</sup>	Model	Significant model coefficients (standard error) <sup>b</sup>									Lack of fit (F)	Regressão significance (F)	
		Intercept	A	B	C	A <sup>2</sup>	B <sup>2</sup>	C <sup>2</sup>	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

<sup>a</sup> 5-CQA: 5- *caffeoylequinic acids*; 3-CQA: 3- *caffeoylequinic acids*; 4-CQA: 4- *caffeoylequinic acids*; 3,4-DQA: 3,4- *dicaffeoylquinic acids*; 3,5-DQA: 3,5- *dicaffeoylquinic acids*; 4,5-DQA: 4,5- *dicaffeoylquinic acids*; <sup>b</sup> 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

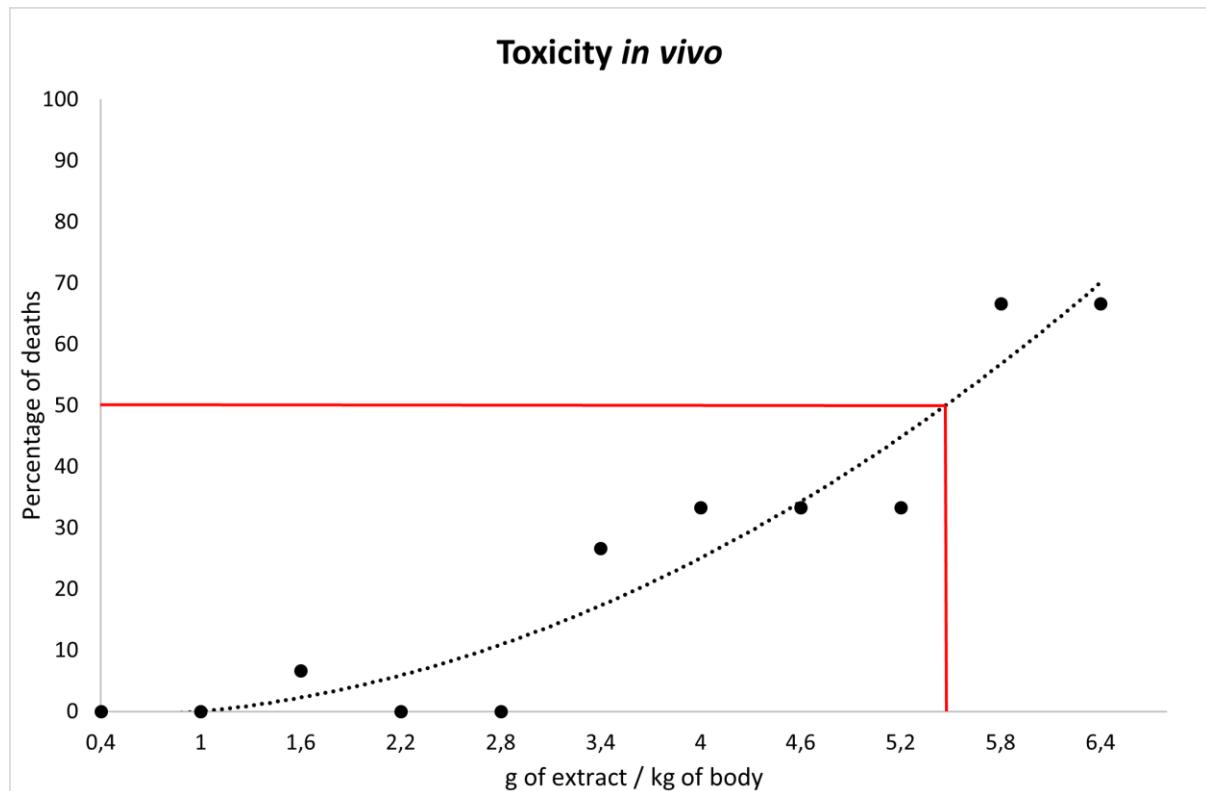
Variables and responses <sup>a</sup>	Desejability criterios for variables and concentration			Importance	Optimal condition predicted (Coded and Decoded)	Predicted concentration (g 100 g <sup>-1</sup> )	Observed concentrations (g 100 g <sup>-1</sup> )
	Goal	Lower limit	Upper limit				
Time (min)	Minimize	-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

<sup>a</sup> 5-CQA: 5- *caffeoylequinic acids*; 3-CQA: 3- *caffeoylequinic acids*; 4-CQA: 4- *caffeoylequinic acids*; 3,4-DQA: 3,4- *dicaffeoylquinic acids*; 3,5-DQA: 3,5- *dicaffeoylquinic acids*; 4,5-DQA: 4,5- *dicaffeoylquinic acids*.

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

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

<sup>a</sup> 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***

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

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.

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

35        **1 INTRODUÇÃO**

36            Com a alta procura pelos consumidores por produtos mais saudáveis, a  
37          indústria de alimentos busca desenvolver novas tecnologias para atender a  
38          demanda e garantir alimentos mais nutritivos e seguros para o consumo humano  
39          (OLIVEIRA et al., 2020). As fibras poliméricas são estruturas utilizadas para a  
40          produção de materiais em escala nano ou micrométrica e, na área alimentícia,  
41          são utilizadas para melhorar propriedades desejáveis nos alimentos, mantendo  
42          a estabilidade físico-química de moléculas, além da possibilidade da liberação  
43          controlada de compostos bioativos (MIN et al., 2022; KIM et al., 2016; MEI et al.,  
44          2013; PANTHI et al., 2017).

45            A técnica de *electrospinning* é utilizada para a produção de fibras  
46          poliméricas e envolve a aplicação de um campo elétrico sob uma solução  
47          polimérica. É uma técnica de alta eficiência, simples e bom custo-benefício,  
48          muito utilizada para a encapsulação de compostos bioativos, com a capacidade  
49          de proteger compostos sensíveis a fatores ambientais e a mascarar  
50          características sensoriais indesejáveis (LIM, 2021; LIM; MENDES; CHRONAKIS,  
51          2019; PERSANO et al., 2013). Os parâmetros utilizados na técnica podem ser  
52          controlados, formando fibras de diferentes morfologias, conforme o desejado  
53          (ASHRAF et al., 2018).

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

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

67 2019). Fibras de amido de milho de alto teor de amilose foram produzidas e  
68 apresentaram regularidade, com estrutura lisa e contínua (KONG & ZIEGLER,  
69 2012), assim como fibras de amido solúvel de batata para encapsular óleo  
70 essencial de tomilho, apresentaram morfologia homogênea, alta eficiência de  
71 encapsulação – 99,1% a 99,8% – e alta proteção dos compostos (FONSECA et  
72 al., 2020b). O amido de trigo possui alto teor de amilose, demonstrando alto  
73 potencial para a produção de fibras, entretanto, ainda não foi estudado para a  
74 encapsulação de compostos bioativos por *electrospinning*.

75 A *Ilex paraguariensis* é uma planta nativa da América do Sul, utilizada  
76 principalmente em bebidas produzidas a partir de suas folhas e ramos finos (DE  
77 GODOY et al., 2013; MESQUITA et al., 2021; VIEIRA et al., 2023). A planta  
78 possui elevada concentração de compostos fenólicos, principalmente os ácidos  
79 fenólicos, e são reportados os seus efeitos benéficos quanto a atividades  
80 antioxidante, anti-inflamatória, hipolipidêmica, hipocolesterolêmico,  
81 antimicrobiana, hipoglicemiente, anticancerígena e antibesogênica (ALI et al.,  
82 2017; GARCIA-LAZARO et al., 2020; KUNGEL et al., 2018; MESQUITA et al.,  
83 2021; SANTIANO et al., 2023; UECKER et al., 2019).

84 Durante a colheita da *I. paraguariensis* é realizada a poda da planta,  
85 objetivando reduzir sua altura para viabilizar a próxima colheita (LORINI et al.,  
86 2021). Nesta poda são gerados resíduos, que correspondem a talos maiores que  
87 10 mm de diâmetro, não utilizados ainda em produtos comerciais. Estudos da  
88 casca do resíduo (coproduto) demonstram o grande potencial pela presença de  
89 metabólitos secundários (ácidos clorogênicos), em quantidade semelhante ao  
90 encontrado nas folhas e talos finos (PAGLIOSA et al., 2010). Os ácidos  
91 clorogênicos são sensíveis à luz, a presença de oxigênio e a temperaturas  
92 elevadas, necessitando de alternativas que promovam maior estabilidade dos  
93 compostos e mantenham sua função biológica ao longo de todo o  
94 processamento (BAKOWSKA; KUCHARSKA; OSZMIAŃSKI, 2003;  
95 BAVARESCO, 2020).

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

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

105

## 106 **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### 107 **2.1 Obtenção do resíduo**

108 As cascas dos talos grossos para a obtenção do resíduo de *I.*  
109 *paraguariensis* foram adquiridas na Associação de Produtores de Erva Mate de  
110 Machadinho/RS/Brasil, da cultivar Cambona 4, em erval cultivado em pleno sol.  
111 As amostras foram coletadas em novembro de 2022 (27°32'35.5"S e  
112 51°39'46.9" W). As cascas passaram pelos processos de secagem em estufa a  
113 135° C e foram trituradas até a obtenção de granulometria média de 0,5 mm de  
114 diâmetro. O resíduo foi acondicionado em embalagens plásticas fechadas e  
115 armazenadas em -18 °C até o momento de utilização.

### 116 **2.2 Preparo do extrato aquoso**

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

### 124 **2.3 Extração do amido de trigo, rendimento, umidade e amilose**

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

128 de farinha e 500 mL de solução de cloreto de sódio 2%) e deixada em repouso  
129 em um recipiente coberto com água destilada por aproximadamente 30 min.  
130 Transcorrido o tempo, a massa foi lavada com água destilada até a completa  
131 remoção do amido. A suspensão de amido foi filtrada em uma tela de malha de  
132 200 µm. O filtrado foi centrifugado a 6500×g por 10 min e removida à camada  
133 superior. O material decantado foi novamente suspenso em água destilada. Este  
134 procedimento foi realizado três vezes. O amido foi seco em estufa com circulação  
135 de ar a 40 °C e, ao final, o amido foi moído em moinho de facas, peneirado em  
136 tela de malha de 200 µm e armazenado em recipiente plástico vedado até o  
137 momento do uso. O rendimento de extração foi determinado pela razão entre a  
138 quantidade total de farinha e a quantidade final de amido extraído, expressos em  
139 porcentagem.

140 A umidade do amido foi determinada através do método de ADOLFO  
141 LUTZ (1985) em triplicata. O teor de amilose foi determinado seguindo o método  
142 de Chen et al., (2021) com adaptações. Inicialmente foi pesado 30 mg de amido  
143 de trigo e disperso totalmente em tubo de ensaio com 400 µL de solução de  
144 etanol 95% e 3,6 mL de solução de hidróxido de sódio 1 M. Foi homogeneizado  
145 durante 10 segundos em vórtex e, em seguida, a mistura foi aquecida em banho  
146 maria fervente durante 10 minutos para a gelatinização total do amido. Após,  
147 resfriou-se à temperatura ambiente e adicionou-se 25 mL de água deionizada.  
148 Após, foi adicionado 3,8 mL de solução de Lugol (2,00 g de iodeto de potássio e  
149 0,200 g de iodo por 100 mL de solução) em 200µL de solução de teste, foi  
150 agitado e ficou em repouso por 10 min. A absorbância da solução foi medida a  
151 620 nm ajustando o espectrofotômetro (Molecular Devices, SpectraMax 190,  
152 Estados Unidos da América) para zero com hidróxido de sódio 0,09 M. A curva  
153 padrão foi feita a partir de padrão de amido de batata, de teor de amilose  
154 conhecido. O teor de amilose na amostra foi calculado de acordo com o valor de  
155 absorbância e a curva padrão.

156 **2.4 Produção de fibras de amido de trigo pela técnica de *electrospinning***  
157 **2.4.1 Preparo das soluções poliméricas**

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

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

165 Após definidos os parâmetros, foram preparadas as soluções de amido  
166 conforme citado e, depois de transcorrido o tempo, adicionadas concentrações  
167 de extrato liofilizado de coproduto de *I. paraguariensis* e homogeneizadas  
168 durante 30 min até a completa dissolução. As concentrações utilizadas foram  
169 0%, 5%, 10%, 15%, 20% e 30% - onde 0% foi a solução controle, sem adição do  
170 extrato de *I. paraguariensis*. Foi realizado o processo de eletrofiação e as fibras  
171 resultantes analisadas em microscópico e definidas a concentrações a serem  
172 utilizadas.

173 **2.4.2 Caracterização das soluções poliméricas – viscosidade e**  
174 **condutividade**

175 As soluções poliméricas do controle e com as concentrações de extrato  
176 de *I. paraguariensis* foram caracterizadas pela condutividade elétrica, utilizando  
177 5 mL de cada solução polimérica, com medidas realizadas em triplicata a  
178 temperatura ambiente ( $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) em condutímetro (Tecnopon, mCA 150P,  
179 Brasil).

180 A viscosidade aparente das soluções poliméricas foi realizada com  
181 auxílio de um viscosímetro digital (Brookfield, DV-II, EUA). Para essa análise,  
182 utilizou-se o *spindle* nº 18 acoplado ao equipamento e, aproximadamente, 10 mL  
183 de cada solução polimérica, com medidas realizadas em triplicata a temperatura  
184 ambiente ( $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

185 **2.4.3 Eletrofiação das fibras pela técnica de *electrospinning***

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

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

198 **2.4.4 Morfologia e distribuição de tamanho das fibras**

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

209 **2.4.5 Eficiência de encapsulamento**

210 A eficiência de encapsulamento (EE) das fibras de amido de trigo  
211 encapsulados com extrato de *I. paraguariensis* foi avaliada conforme o método  
212 descrito por Cruz et al., (2023), com adaptações. As amostras de fibras foram  
213 pesadas 10 mg e adicionado de 800 µL de solução de ácido fórmico (75%, em  
214 água ultra pura, v/v). A mistura foi homogeneizada em vórtex durante 2 min e,  
215 posteriormente, foi adicionado 2,2 mL de solução de acetonitrila:água ultra pura  
216 (1:1 v/v), homogeneizado em vórtex durante 30 s e centrifugado durante 10 min,  
217 a 4 °C e 6000 rpm. As amostras foram analisadas em espectrofotômetro (Jenway  
218 Model 6705 Scanning UV/Visible Spectrophotometers) a 325 nm. A identificação  
219 dos compostos presentes nas fibras foi confirmada pela comparação com o

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

222 Eq1 
$$EE (\%) = \frac{Quantidade\ de\ composto - quantidade\ nas\ fibras}{Quantidade\ real\ de\ composto} \times 100$$

223 **2.4.6 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)**

224 A análise de espectroscopia no infravermelho com transformada de  
225 Fourier (FTIR – Fourier Transform Infrared Spectroscopy) das fibras e do  
226 composto puro (coproduto de *I. paraguriensis*) foi realizada na Central Analítica  
227 da Universidade Federal de Pelotas. O equipamento foi previamente calibrado  
228 de acordo com as especificações do fabricante. As análises foram realizadas em  
229 equipamento FTIR IRAffinity-1 (ATR, Shimadzu), em resolução de 400 –  
230 4000 cm<sup>-1</sup>. Uma quantidade de amostra suficiente para cobrir o cristal do  
231 equipamento foi adicionada e realizadas 60 varreduras com apodização na  
232 função Happ-Genzel. Para aquisição dos dados, expressos em número de onda,  
233 foi utilizado o programa IRsolution versão 1.60 (Shimadzu Corporation).

234 **2.4.7 Análise termogravimétrica (TGA)**

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

247 **2.4.8 Ângulo de contato das fibras**

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

259 **2.4.9 Atividade antioxidante**

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

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

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

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

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

283 **2.4.10 Análise estatística**

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

287

288 **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

289 **3.1 Rendimento, umidade e teor de amilose do amido de trigo**

290 Foram realizadas as análises referentes ao amido de trigo. A extração  
291 do amido obteve 41,68% de rendimento a partir da farinha de trigo. O amido é o  
292 componente principal do endosperma, representando, em um grão inteiro, cerca  
293 de 70 a 75%, sendo o restante formado por proteínas (DELCOUR e HOSENEY,  
294 2010; FILIP et al., 2023).

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

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

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

### 319 **3.2 Soluções poliméricas**

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

327 A avaliação foi realizada visualmente através de microscópio,  
328 observando as condições em que produziram fibras mais finas, em maior  
329 volume, mais homogêneas e sem a presença de aglomerados. A solução  
330 escolhida, para seguir o processo, foi onde se utilizou a concentração de 15%  
331 de amido de trigo e 75% de ácido fórmico. A seguir, foram produzidas fibras em  
332 diferentes concentrações do extrato liofilizado de coproduto de *I. paraguariensis*  
333 (5%, 10%, 15%, 20% e 30%), para definir as concentrações a serem utilizadas  
334 neste estudo (Figura 2).

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

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

342 **3.3 Caracterização das soluções poliméricas**

343 **3.3.1 Viscosidade e condutividade**

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

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

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

366 Em relação às propriedades reológicas, ou seja, a relação entre a tensão  
367 aplicada e a taxa de deformação das soluções, pode-se perceber que em relação  
368 a tensão de escoamento ( $T_0$ ), não houve diferença significativa ( $p<0,05$ ), no  
369 entanto, os valores diminuem à medida que a concentração de extrato de  
370 coproduto de *I. paraguariensis* aumenta, o que significa que é necessária uma  
371 menor força para iniciar o escoamento conforme se adiciona mais extrato. Em  
372 relação ao índice de consistência ( $k$ ), o qual também não apresentou diferença  
373 significativa ( $p<0,05$ ) os valores tiveram um aumento à medida que a  
374 concentração de extrato de coproduto aumenta isso indica que a viscosidade da  
375 solução aumenta com a adição de mais extrato. Por fim, no índice de  
376 comportamento de fluxo ( $n$ ) percebe-se que os valores se mantêm próximos de  
377 1 para todas as concentrações testadas, sendo o maior valor, na concentração  
378 de 15%, isso sugere que o comportamento reológico das soluções é próximo ao  
379 newtoniano, independentemente da concentração de extrato de coproduto.

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

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

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

403 **3.3.2 Morfologia e distribuição de tamanho das fibras**

404 A morfologia e a distribuição de tamanho das fibras de amido de trigo  
405 com e sem adição de extrato de coproducto de *I. paraguariensis* (0%, 5%, 10% e  
406 15%) estão retratadas, através das micrografias (A, B, C e D), na Figura 4. As  
407 condições empregadas no processo proporcionaram a formação de fibras  
408 ultrafinas homogêneas, cilíndricas, contínuas, lisas e sem a presença de  
409 aglomerados (“beads”). A encapsulação do extrato nas diferentes concentrações  
410 não demonstrou alteração nas características morfológicas, demonstrando que  
411 a incorporação do extrato não afetou negativamente a formação de fibras.

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

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

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

429     **3.3.3 Eficiência de encapsulação**

430         A eficiência de encapsulação das fibras de amido de trigo com extrato  
431         do coproduto de *I. paraguariensis* apresentaram valores de 90,8% ± 6,24, 68,2%  
432         ± 11,8 e 63,7% ± 9,96 para as fibras com 5%, 10% e 15% de extrato,  
433         respectivamente. Esses resultados foram obtidos em duas produções diferentes  
434         de fibras, analisadas em triplicata, com um intervalo de dois meses entre as  
435         produções, mostrando resultados próximos.

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

442     **3.3.4 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)**

443         O extrato liofilizado do coproduto de erva mate apresentou bandas  
444         características de polifenóis (figura 5), sendo uma banda em 3310 cm<sup>-1</sup> (vO-H  
445         sobreposto a vN-H), referente a hidroxila presente em compostos como ácido  
446         clorogênico, saponinas, xantinas e outros (GULLÓN et al., 2018). Apresentou  
447         banda em 2874cm<sup>-1</sup> (v<sub>s</sub>C-H; v<sub>a</sub>C-H) de grupos alifáticos, 1661 cm<sup>-1</sup> (vC=O)  
448         referente ao grupo carbonila presente em ésteres, amidas e xantinas, 1613cm<sup>-1</sup>  
449         (vC=O) de carboxila presentes em ácidos e saponinas. Por fim, foram  
450         observadas bandas em 1360 cm<sup>-1</sup> (δ<sub>s</sub>CH<sub>3</sub>CO), 1255 cm<sup>-1</sup> (ν<sub>as</sub>=C-O-C; δC-O-H no  
451         plano) de éter cílico e outros grupamentos presentes nos compostos da *I.*  
452         *paraguariensis* (GULLÓN et al., 2018).

453         A fibra 0% apresentou bandas em 3380 cm<sup>-1</sup> (vO-H) que podem ser  
454         atribuídas às hidroxilas inter e intramoleculares entre as cadeias da amilose,  
455         2896 cm<sup>-1</sup>(v<sub>s</sub>C-H; v<sub>a</sub>C-H) da cadeia cíclica. Bandas em 1703 cm<sup>-1</sup> e 1628 cm<sup>-1</sup>(δOH)  
456         referente à ligação de hidrogênio na região amorfa dos grânulos. Bandas  
457         em 1427 cm<sup>-1</sup>(δ<sub>s</sub>CH<sub>2</sub>) da amilopectina, 1288 cm<sup>-1</sup> (δC-O-H) fora do plano, 1158  
458         cm<sup>-1</sup> (ν<sub>as</sub>C-O-C) da ligação glicosídica alfa 1,4. Ainda foram observadas bandas

459 de cadeia em 1016 cm<sup>-1</sup>(vC-O), de cadeia. PIRES et al., (2022) observaram  
460 bandas semelhantes em amido de batata nativo.

461 As fibras 5%, 10% e 15% apresentaram bandas características da fibra  
462 0%, onde se observa que a região *fingerprint* (1000 < cm<sup>-1</sup>< 1500) das diferentes  
463 fibras são muito semelhantes a esta região no espectro da fibra 0%, sugerindo  
464 uma boa encapsulação do extrato para todas as concentrações estudadas.

465

### 466 3.3.5 Análise termogravimétrica

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

473 O extrato do coproduto apresentou duas taxas de degradação, iniciando  
474 a primeira a uma temperatura de 214,79 °C e decompondo 7,94% da massa,  
475 associada à degradação de compostos de baixo peso molecular (JARAMILLO et  
476 al., 2016) e a segunda, ocorrendo a temperatura máxima de evento em 296,76  
477 °C, decompondo 13,05% de sua massa. O extrato aquoso de erva mate  
478 comercial estudado por Bruni e outros (2020) apresentou três taxas de  
479 decomposição, sendo a primeira em 80 °C, a segunda em 220 °C e a terceira  
480 em 310 °C, aproximadamente, indicando a evaporação da umidade, a  
481 decomposição de alguns componentes com baixo peso molecular e a  
482 decomposição de estruturas mais complexas, respectivamente.

483 A fibra 0% apresentou dois efeitos. O primeiro, entre 219,59 e 230,12 °C,  
484 com menor perda de massa, referente à perda da água ligada que ocorre a partir  
485 da quebra das ligações de hidrogênio, da água do ambiente, formadas pelas  
486 hidroxilas das unidades de glicose ao longo da cadeia a fibra e, o segundo, entre  
487 289,01 e 306,75 °C, com maior perda de massa, referente à eliminação de  
488 grupos polihidroxílicos, decomposição e despolimerização das cadeias da fibra  
489 (FONSECA et al., 2019).

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

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

503 Por fim, a análise de resíduo demonstra que houve a eficiência da  
504 incorporação dos extratos, para todas as concentrações avaliadas, visto que, o  
505 extrato apresentou 7,01% de resíduo, a fibra 0% apresentou 8,10% de resíduo,  
506 enquanto que as fibras incorporadas com o extrato apresentaram valores  
507 superiores de resíduo, sendo aproximadamente 22%, 9% e 11% para as fibras  
508 5%, 10% e 15% respectivamente, isto sugere que houve uma estabilidade  
509 térmica das fibras incorporadas com o extrato.

510

### 511 **3.3.6 Ângulo de contato das fibras**

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

518 O ângulo de contato estático ( $\theta$ ) da interface sólido-líquido foi medido  
519 entre a membrana das fibras e a água ultra pura ( $\theta_w$ ). Todas as fibras  
520 apresentaram ângulos de contato menores que 90°, sendo elas  $\theta_w = 28,26 \pm$   
521  $6,15^\circ$ ,  $\theta_w = 32,67 \pm 0,15^\circ$ ,  $\theta_w = 27,72 \pm 0,56^\circ$  e  $\theta_w = 27,24 \pm 2,91^\circ$ , das fibras 0%,  
522 5%, 10% e 15%, respectivamente, indicando superfícies hidrofílicas segundo  
523 classificação de AHMAD et al., (2015).

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

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

#### 540 3.3.7 Atividade antioxidante

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

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

550 O coproduto não encapsulado apresenta uma atividade antioxidante  
551 significativa contra os dois tipos de radicais testados (ABTS e DPPH) com  
552 28,98% e 67,65% de inibição.

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

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

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

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

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

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

584 Entretanto, no extrato livre liofilizado, houve menor capacidade de  
585 inibição frente ao radical ABTS, podendo ter ocorrido a complexação dos  
586 compostos e aumentando sua capacidade quando adicionadas às fibras. Em  
587 amostras de folhas secas de erva mate comercial, a inibição pode apresentar  
588 94% (AKBARMEHR 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 coproducto de *I. paraguariensis* é importante para manter sua estabilidade,  
598 minimizando os efeitos de degradação por fatores ambientais como luz, calor e  
599 temperatura.

600

## 601 CONCLUSÃO

602 As fibras ultrafinas de amido de trigo incorporadas com extrato de  
603 coproducto 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

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

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

634

635 **REFERÊNCIAS**

- 636 AHMAD, N. A.; LEO, C. P.; AHMAD, A. L.; RAMLI, W. K. W. **Membranes with**  
637 **great hydrophobicity: A review on preparation and**  
638 **characterization****Separation and Purification Reviews**Bellwether Publishing,  
639 Ltd., 15 abr. 2015.
- 640 AKBARMEHR, A.; PEIGHAMBARDUST, S. H.; SOLTANZADEH, M.; JAFARI,  
641 S. M.; SARABANDI, K. Microencapsulation of Yerba mate extract: The efficacy  
642 of polysaccharide/protein hydrocolloids on physical, microstructural, functional,  
643 and antioxidant properties. **International Journal of Biological**  
644 **Macromolecules**, v. 234, p. 123678, 15 abr. 2023. . Acesso em: 10 maio. 2023.
- 645 ALI, N.; RASHID, S.; NAFEES, S.; HASAN, S. K.; SHAHID, A.; MAJED, F.;  
646 SULTANA, S. Protective effect of Chlorogenic acid against methotrexate induced  
647 oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat liver: An experimental  
648 approach. **Chemico-Biological Interactions**, v. 272, p. 80–91, 25 jun. 2017. .  
649 Acesso em: 20 mar. 2023.
- 650 ANTUNES, M. D.; DANNENBERG, G. da S.; FIORENTINI, Â. M.; PINTO, V. Z.;  
651 LIM, L. T.; ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G. Antimicrobial electrospun  
652 ultrafine fibers from zein containing eucalyptus essential oil/cyclodextrin inclusion  
653 complex. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 874–  
654 882, 1 nov. 2017. . Acesso em: 31 maio. 2023.
- 655 ASHRAF, R.; SOFI, H. S.; MALIK, A.; BEIGH, M. A.; HAMID, R.; SHEIKH, F. A.  
656 Recent Trends in the Fabrication of Starch Nanofibers: Electrospinning and Non-  
657 electrospinning Routes and Their Applications in Biotechnology. **Applied**  
658 **Biochemistry and Biotechnology** 2018 187:1, v. 187, n. 1, p. 47–74, 8 jun.  
659 2018. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-018-2797-0>>. Acesso em: 23 abr. 2023.
- 661 BARANZELLI, J.; KRINGEL, D. H.; COLUSSI, R.; PAIVA, F. F.; ARANHA, B. C.;  
662 MIRANDA, M. Z. de; ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G. Changes in enzymatic  
663 activity, technological quality and gamma-aminobutyric acid (GABA) content of  
664 wheat flour as affected by germination. **LWT**, v. 90, p. 483–490, 1 abr. 2018. .  
665 Acesso em: 29 abr. 2023.
- 666 BRUNI, G. P.; ACUNHA, T. dos S.; DE OLIVEIRA, J. P.; FONSECA, L. M.; DA  
667 SILVA, F. T.; GUIMARÃES, V. M.; ZAVAREZE, E. da R. Electrospun protein  
668 fibers loaded with yerba mate extract for bioactive release in food packaging.  
669 **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 8, p. 3341–3350, 1  
670 jun. 2020.
- 671 CAO, P.; WU, G.; YAO, Z.; WANG, Z.; LI, E.; YU, S.; LIU, Q.; GILBERT, R. G.;  
672 LI, S. Effects of amylose and amylopectin molecular structures on starch  
673 electrospinning. **Carbohydrate Polymers**, v. 296, p. 119959, 15 nov. 2022. .  
674 Acesso em: 2 maio. 2023.
- 675 CHEN, L.; DAI, Y.; HOU, H.; WANG, W.; DING, X.; ZHANG, H.; LI, X.; DONG,  
676 H. Effect of high pressure microfluidization on the morphology, structure and  
677 rheology of sweet potato starch. **Food Hydrocolloids**, v. 115, 1 jun. 2021.

- 678 COSTA, R. G. F.; DE OLIVEIRA, J. E.; DE PAULA, G. F.; DE PICCIANI, P. H.  
679 S.; DE MEDEIROS, E. S.; RIBEIRO, C.; MATTOSO, L. H. C. **Eletrofiação de**  
680 **polímeros em solução. Parte I: Fundamentação teórica**Polimeros2012.
- 681 CRUZ, E. P. da; JANSEN, E. T.; FONSECA, L. M.; HACKBART, H. C. dos S.;  
682 SIEBENEICHLER, T. J.; PIRES, J. B.; GANDRA, E. A.; ROMBALDI, C. V.;  
683 ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G. Red onion skin extract rich in flavonoids  
684 encapsulated in ultrafine fibers of sweet potato starch by electrospinning. **Food**  
685 **Chemistry**, v. 406, p. 134954, 16 abr. 2023. . Acesso em: 5 jun. 2023.
- 686 DE GODOY, R. C. B.; DELIZA, R.; GHENO, L. B.; LICODIEDOFF, S.; FRIZON,  
687 C. N. T.; RIBANI, R. H.; DOS SANTOS, G. G. Consumer perceptions, attitudes  
688 and acceptance of new and traditional mate tea products. **Food Research**  
689 **International**, v. 53, n. 2, p. 801–807, 1 out. 2013. . Acesso em: 19 mar. 2023.
- 690 EL HALAL, S. L. M.; KRINGEL, D. H.; ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G.  
691 **Methods for Extracting Cereal Starches from Different Sources: A**  
692 **Review**Starch/StärkeWiley-VCH Verlag, 1 nov. 2019.
- 693 FILIP, E.; WORONKO, K.; ST, EPIÉ N, E.; CZARNIECKA, N. An Overview of  
694 Factors Affecting the Functional Quality of Common Wheat (*Triticum aestivum*  
695 L.). **International Journal of Molecular Sciences** 2023, Vol. 24, Page 7524, v.  
696 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.
- 697 FONSECA, L. M.; CRUXEN, C. E. dos S.; BRUNI, G. P.; FIORENTINI, Â. M.;  
698 ZAVAREZE, E. da R.; LIM, L. T.; DIAS, A. R. G. Development of antimicrobial  
699 and antioxidant electrospun soluble potato starch nanofibers loaded with  
700 carvacrol. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 139, p.  
701 1182–1190, 15 out. 2019. . Acesso em: 5 jun. 2023.
- 702 FONSECA, L. M.; OLIVEIRA, J. P. de; CRIZEL, R. L.; SILVA, F. T. da;  
703 ZAVAREZE, E. da R.; BORGES, C. D. Electrosprun Starch Fibers Loaded with  
704 Pinhão (*Araucaria angustifolia*) Coat Extract Rich in Phenolic Compounds.  
705 2020a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11483-020-09629-9>>.
- 706 FONSECA, L. M.; RADÜNZ, M.; DOS SANTOS HACKBART, H. C.; DA SILVA,  
707 F. T.; CAMARGO, T. M.; BRUNI, G. P.; MONKS, J. L. F.; DA ROSA ZAVAREZE,  
708 E.; DIAS, A. R. G. Electrosprun potato starch nanofibers for thyme essential oil  
709 encapsulation: antioxidant activity and thermal resistance. **Journal of the**  
710 **Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 11, p. 4263–4271, 30 ago. 2020b.  
711 Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jsfa.10468>>.  
712 Acesso em: 11 jun. 2023.
- 713 FONSECA, L. M.; SOUZA, E. J. D.; RADÜNZ, M.; GANDRA, E. A.; ZAVAREZE,  
714 E. da R.; DIAS, A. R. G. Suitability of starch/carvacrol nanofibers as  
715 biopreservatives for minimizing the fungal spoilage of bread. **Carbohydrate**  
716 **Polymers**, v. 252, p. 117166, 15 jan. 2021. . Acesso em: 23 abr. 2023.
- 717 GARCIA-LAZARO, R. S.; LAMDAN, H.; CALIGIURI, L. G.; LORENZO, N.;  
718 BERENGENO, A. L.; ORTEGA, H. H.; ALONSO, D. F.; FARINA, H. G. In vitro  
719 and in vivo antitumor activity of Yerba Mate extract in colon cancer models.  
720 **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 KONTOGEORGIS, G. M.; KIIL, S. **Introduction to Applied Colloid and Surface**  
740 **Chemistry**. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=MJPgCAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP11&dq=Kontogeorgis,+G.M.%3B+Kill,+S.+Introduction+to+Applied+Colloid+and+Surface+Chemistry,+John+Wiley+%26+Sons,+Ltd.,+West+Sussex,+2016.&ots=rRhRlalkEU&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; DITTCGEN, 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.

- 809 SINDERSKI, L. G. Z. Ângulo de Contato e Rugosidade de Madeiras, uma breve  
810 revisão. **Revista Ciência da Madeira - RCM**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 23 mar. 2020.
- 811 TANG, Y.; ZHOU, Y.; LAN, X.; HUANG, D.; LUO, T.; JI, J.; MAFANG, Z.; MIAO,  
812 X.; WANG, H.; WANG, W. Electrospun Gelatin Nanofibers Encapsulated with  
813 Peppermint and Chamomile Essential Oils as Potential Edible Packaging.  
814 **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 8, p. 2227–2234, 27 fev.  
815 2019. . Acesso em: 1 maio. 2023.
- 816 UECKER, J. N.; SCHNEIDER, J. P.; CERQUEIRA, J. H.; RINCÓN, J. A. A.;  
817 CAMPOS, F. T.; SCHNEIDER, A.; BARROS, C. C.; ANDREAZZA, R.;  
818 JASKULSKI, I. B.; PIENIZ, S. *Ilex paraguariensis* extract prevents body weight  
819 gain in rats fed a high-fat diet. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 3, p.  
820 620–626, 27 jun. 2019. Disponível em:  
821 <<http://www.scielo.br/j/cta/a/tfNW44tCLDxxV8NKXYgYqbr/abstract/?lang=en>>. Acesso em: 20 mar. 2023.
- 823 VASILYEV, G.; VILENSKY, R.; ZUSSMAN, E. The ternary system amylose-  
824 amylopectin-formic acid as precursor for electrospun fibers with tunable  
825 mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 214, p. 186–194, 15 jun.  
826 2019. . Acesso em: 2 maio. 2023.
- 827 VIEIRA, M. A.; MARASCHIN, M.; DIAS DE MELLO, R.; AMBONI, C.;  
828 PRUDÊNCIO, E. S.; PAGLIOSA, C. M.; BARBOSA, M.; MANTELLI, H.;  
829 AMANTE, E. R.; SOUZA DA SILVA, L.; WALTER, M. Thermal condition of mate  
830 (*Ilex paraguariensis*) processing. **Ciência Rural**, v. 53, n. 10, p. e20220178, 14  
831 abr. 2023. Disponível em:  
832 <<http://www.scielo.br/j/cr/a/YtBTPmJFzyppRTFjL33WBbv/?lang=en>>. Acesso  
833 em: 27 abr. 2023.
- 834 WANG, C.; CHIEN, H. S.; YAN, K. W.; HUNG, C. L.; HUNG, K. L.; TSAI, S. J.;  
835 JHANG, H. J. Correlation between processing parameters and microstructure of  
836 electrospun poly(D,L-lactic acid) nanofibers. **Polymer**, v. 50, n. 25, p. 6100–6110,  
837 27 nov. 2009. . Acesso em: 21 maio. 2023.
- 838 WANG, H.; YANG, Q.; FERDINAND, U.; GONG, X.; QU, Y.; GAO, W.;  
839 IVANISTAU, A.; FENG, B.; LIU, M. Isolation and characterization of starch from  
840 light yellow, orange, and purple sweet potatoes. **International Journal of  
841 Biological Macromolecules**, v. 160, p. 660–668, 1 out. 2020. . Acesso em: 30  
842 abr. 2023.
- 843 ZHANG, B.; GUO, K.; LIN, L.; WEI, C. Comparison of Structural and Functional  
844 Properties of Starches from the Rhizome and Bulbil of Chinese Yam (*Dioscorea*  
845 *opposita* Thunb.). **Molecules 2018, Vol. 23, Page 427**, v. 23, n. 2, p. 427, 15 fev.  
846 2018. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/23/2/427/htm>>. Acesso  
847 em: 1 maio. 2023.

848

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

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

EC: Condutividade; T0: Tensão de escoamento; k: Índice de consistência; n: Índice de comportamento de fluxo; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinação.

<sup>a, b</sup> 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%).

	T <sub>p0</sub> °C	T <sub>p</sub> °C	Δt <sub>1</sub>	Δm	T <sub>p0</sub> °C	T <sub>p3</sub> °C	ΔT °C	Δm	Δm <sub>R</sub>
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; T<sub>p0</sub> temperatura inicial, T<sub>p</sub> temperatura máxima do evento, Δt variação de temperatura, Δm perda de massa, Δm<sub>R</sub> massa do resíduo.

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

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

ND – não detectado

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

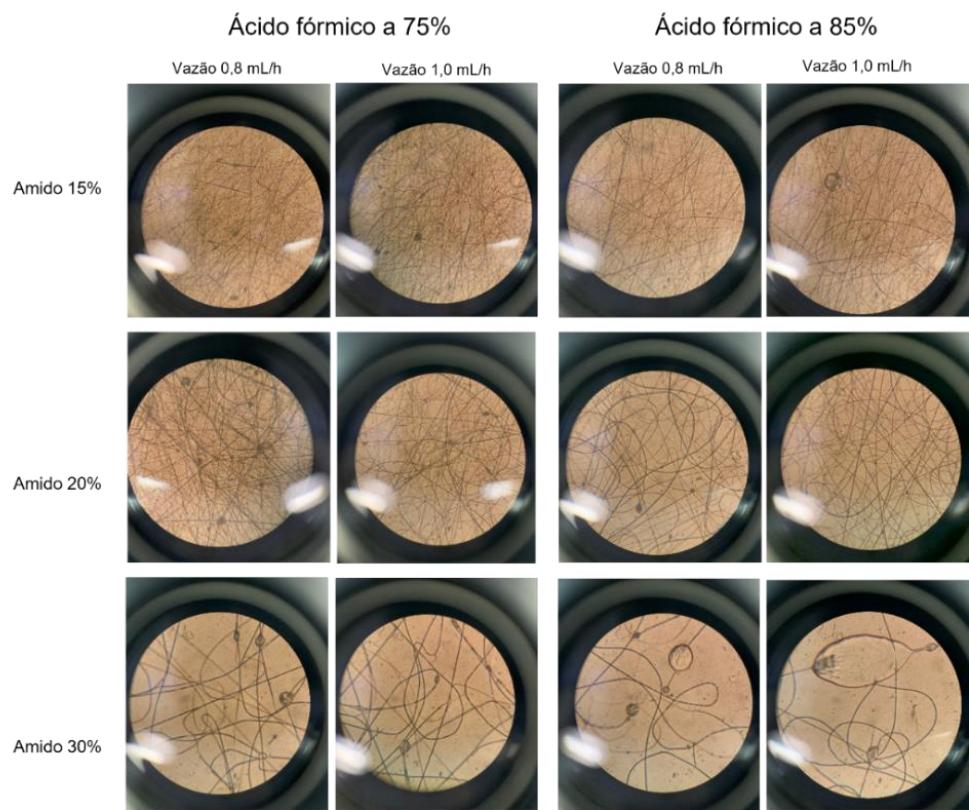


Figura 1. Soluções poliméricas teste utilizando diferentes concentrações de amido de trigo e de ácido fórmico.

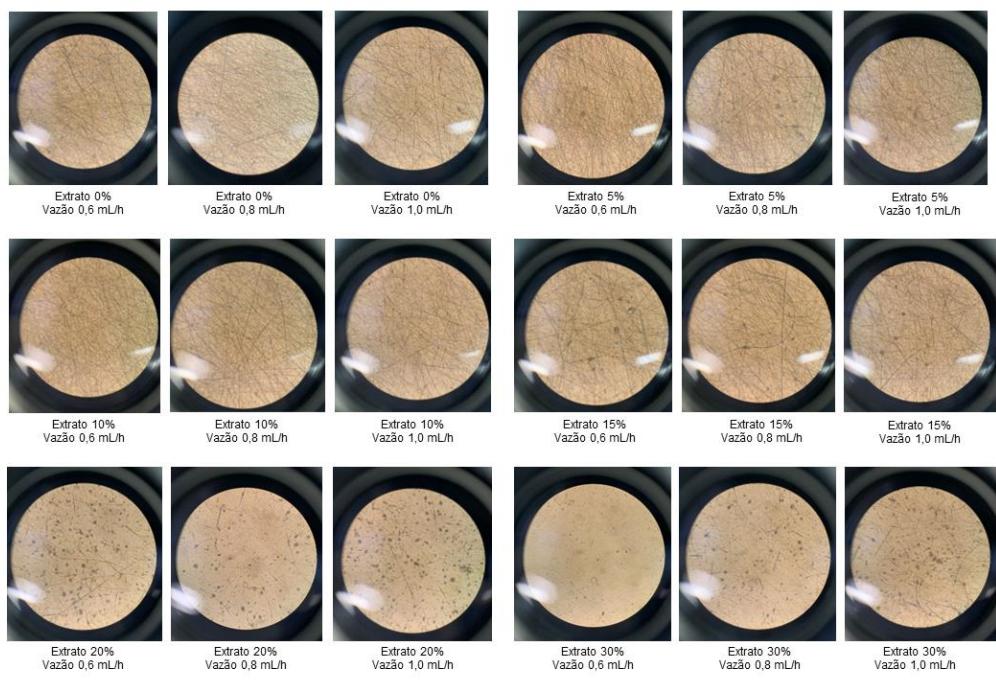


Figura 2. Soluções poliméricas de amido de trigo a 15% e incorporação do extrato liofilizado do coproduto de *I. paraguariensis* em diferentes concentrações.

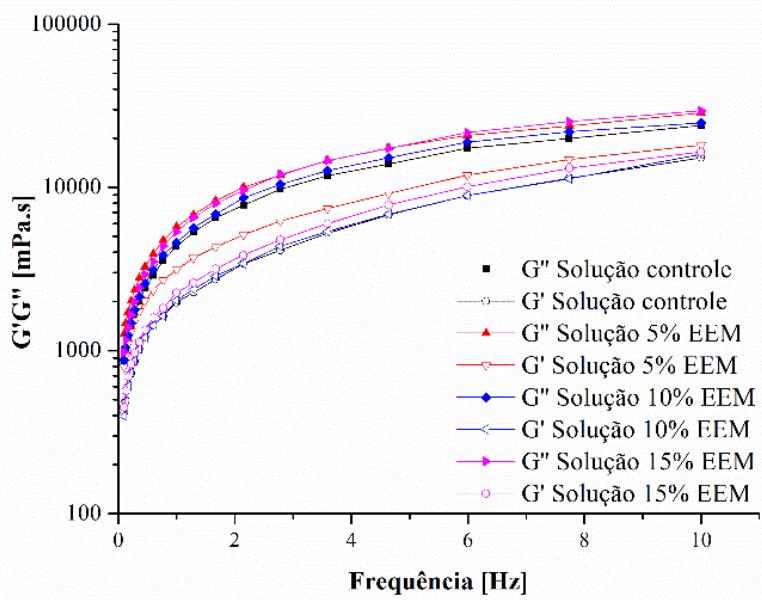
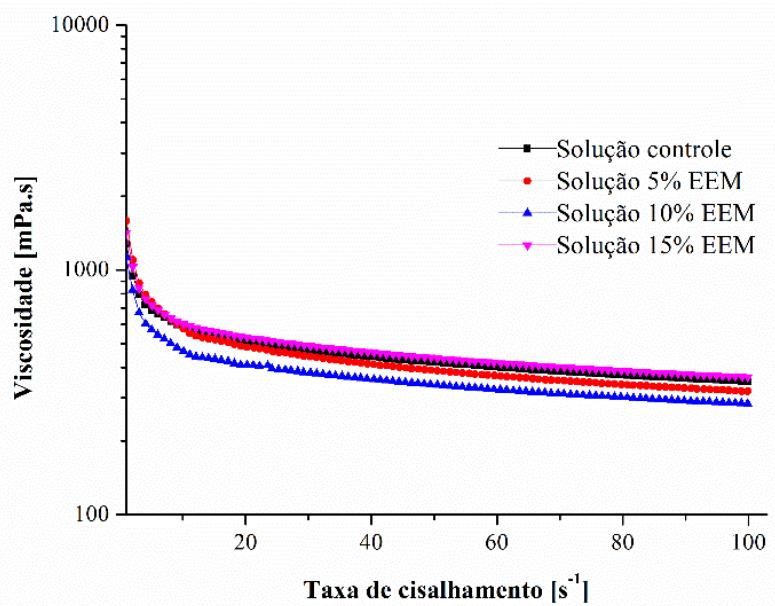


Figura 3. Viscosidade aparente das soluções e módulos de armazenamento ( $G'$ ) e perda ( $G''$ ) em função da frequência.

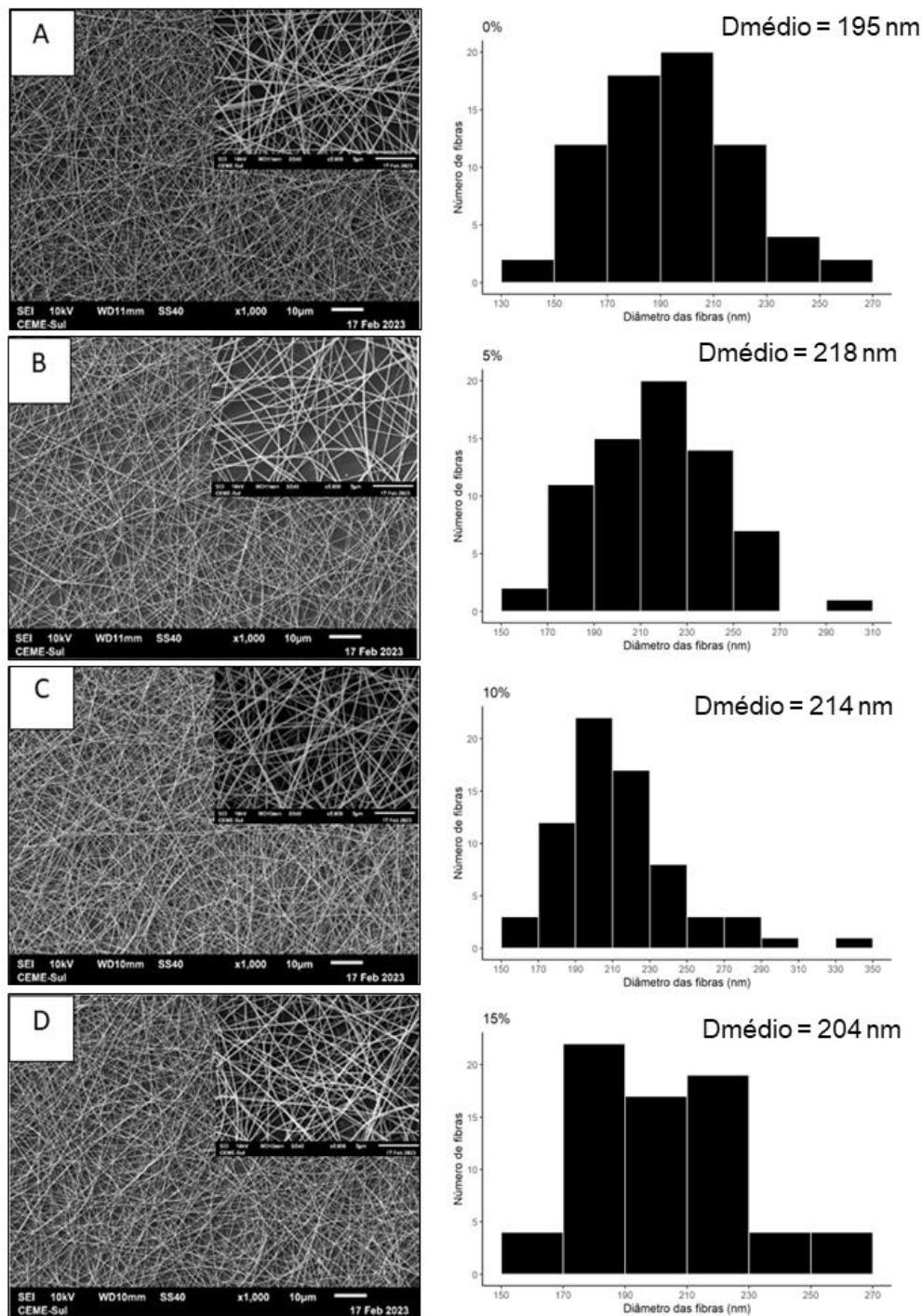


Figura 4. Morfologia e distribuição de tamanho das fibras ultrafinas de amido de trigo incorporadas de extrato de coproduto de *I. paraguariensis*

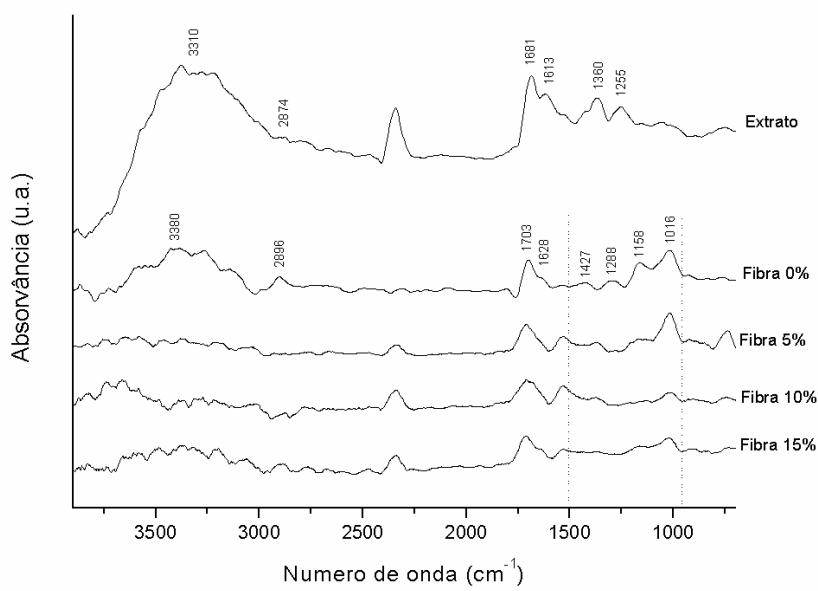


Figura 5. Espectros de infravermelho por Transformada de Fourier de fibras ultrafinas de amido de trigo diferentes concentrações de *Ilex paraguariensis*.

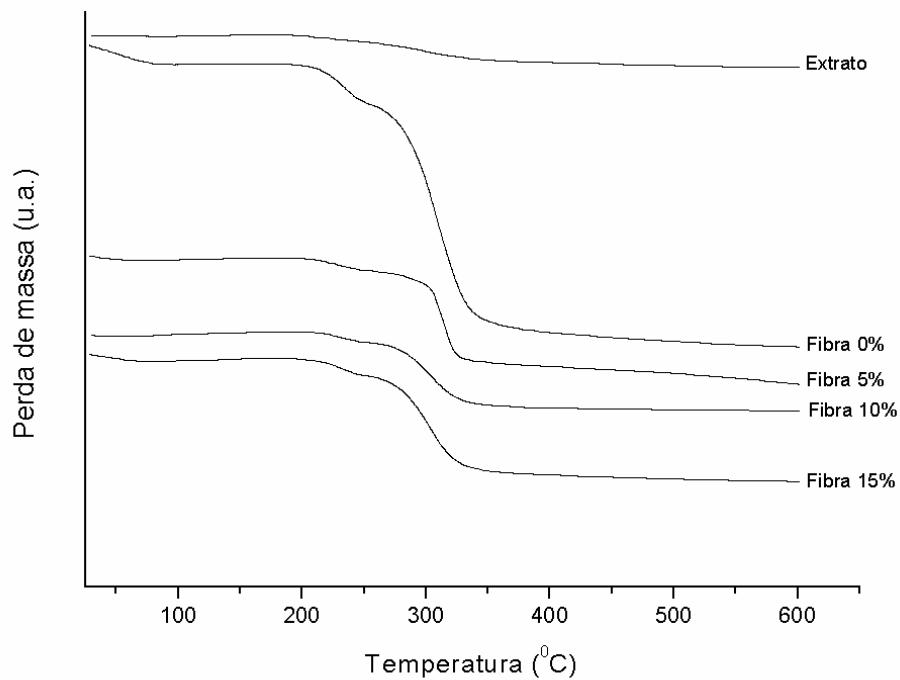


Figura 6. Termogramas das amostras do extrato de *I. paraguariensis* não encapsulado e fibras de amido com o extrato de coproduto nas concentrações de 0%, 5%, 10%, 15%.

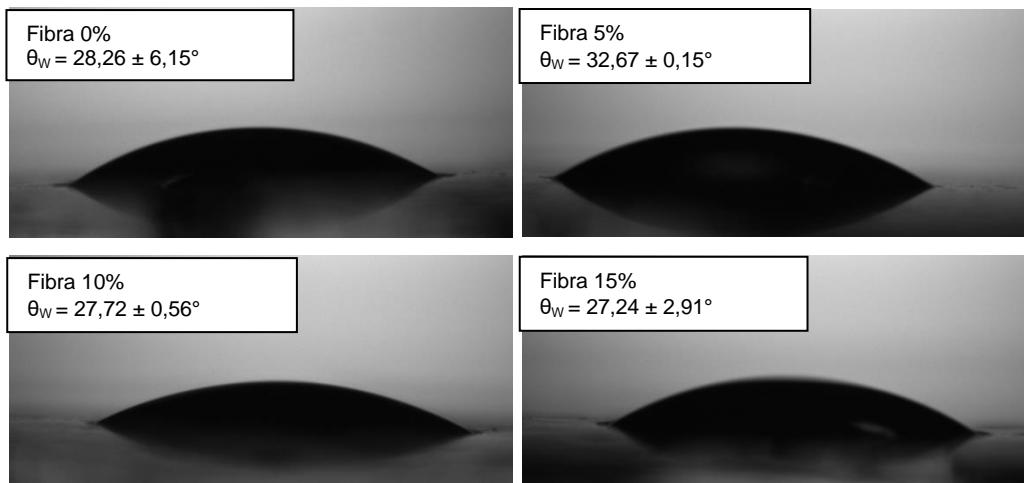


Figura 7. Ângulo da interface sólido-líquido das amostras avaliadas.

## **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.; ESHWIKA, 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( $\epsilon$ -

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/StaerkeWiley-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; RAMIREZ, 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. **Ant imicrobial act ivit y of yerba mat e (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) against food pat hogens** *Rev Argent Microbiol*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <[www.elsevier.es/ram](http://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.; KIASSOS, 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 Ag<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 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 Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 106–110, jun. 2005.

PERSANO, L.; CAMPOSEO, A.; TEKMEN, 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-amylase 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 muffim 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- $\alpha$  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.