

METODOLOGIA PARA EXTRAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS E ANTIOXIDANTES DA ERVA–MATE

Sandra Mara Wolff*
Ana Claudia da Silveira**
Marcelo Lazzarotto***

RESUMO: A erva–mate é uma fonte de diversos compostos bioativos e por isto alvo de diversos estudos. O preparo de extratos a partir de suas folhas visa a extração de compostos benéficos à saúde, como polifenóis e antioxidantes. São descritas algumas metodologias de preparo de extratos aquosos e hidroalcoólicos de suas folhas em que tempo, temperatura, tamanho das partículas, proporção soluto–solvente e intensidade de agitação influenciam na qualidade do extrato obtido. Assim, o objetivo deste trabalho foi de comparar e estabelecer condições de temperatura e tempo buscando os maiores teores de compostos fenólicos (TPC) totais e atividade antioxidante (%AA) nos extratos de erva–mate. Sete métodos descritos na literatura foram selecionados, sendo cinco para extratos aquosos e duas para extratos hidroalcoólicos. Os TPC foram determinados usando o método *Folin–Ciocalteu*, com modificações para protocolo de microplacas, e a %AA pelo método DPPH (1,1–difênil–2–picril–hidrazil). A análise quantitativa de TPC variou de 2.113 a 2.423 mg EAG L⁻¹ para os extratos aquosos e 2.707 e 2.997 mg EAG L⁻¹ para os extratos hidroalcoólicos. A atividade antioxidante variou de 39,8% a 55,27%. Os extratos que apresentaram maior TPC e %AA foram o extrato aquoso obtido a 85°C por 10 minutos de aquecimento e o hidroalcoólico obtido à temperatura ambiente (25–20°C) com 120 minutos de extração. Estes extratos podem ser adequados para adição em alimentos, adicionando capacidade antioxidante e propriedades funcionais.

PALAVRAS–CHAVE: Polifenóis; Atividade antioxidante; *Ilex paraguariensis*; Tempo de extração; Temperatura de extração.

METHOD FOR THE EXTRACTION OF TOTAL PHENOLICS AND ANTIOXIDANTS OF YERBA MATE

ABSTRACT: Since mate is a source of several bioactive compounds, it has been the object of many studies. Extract preparation from its leaves is the extraction of health–giving compounds, such as polyphenols and antioxidants. Several methodologies for the preparation of liquid and hydro–alcoholic extracts from leaves are described where time, temperature, particle size, solute–solvent ratio and shake intensity affect the quality of the extract obtained. Current research compares and establishes temperature and time conditions for the highest rates in total phenolic compounds and antioxidant activity (%AA) in mate extracts. Seven methods described in the literature were selected, with five for aqueous extracts and two for hydro–alcoholic extracts. TPCs were determined by *Folin–Ciocalteu*, with modifications, for microplate protocols, and %AA by the DPPH (1,1–difênil–2–picril–hidrazil) method. TPC's quantitative analysis ranged between 2,113 and 2,423 mg EAG L⁻¹ for aqueous extracts and between 2,707 and 2,997 mg EAG L⁻¹ for hydro–alcoholic extracts. Antioxidant activity ranged between 39.8% and 55.27%. Extracts with the highest TPC and %AA rates were aqueous extract obtained at 85°C for 10 min heating and hydro–alcoholic extract obtained at room temperature (25–20°C) with 120 min of extraction. Extracts may be added to food, with antioxidant capacity and functional properties.

KEYWORDS: Polyphenols; Antioxidant activity; *Ilex paraguariensis*; Extraction time; Extraction temperature.

* Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Brasil.

** Mestranda em Ciência Farmacêuticas – Universidade Federal do Paraná (UFPR), Brasil.

*** Doutor em Química, Pesquisador da Embrapa Florestas e Docente permanente dos Programas de Pós–graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa e das Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná, Brasil.
E–mail: marcelo.lazzarotto@embrapa.br

INTRODUÇÃO

Ilex paraguariensis St. Hil. (Aquifoliaceae) (erva-mate) é muito utilizada na América do Sul (principalmente nos Estados do Sul do Brasil,) pelas suas propriedades nutricionais, medicinais e seu uso tradicional. Suas folhas são empregadas para a preparação de chás, infusões quentes e frias, pelos seus benefícios para a saúde, atribuídos à presença de metabólitos secundários (alcaloide, metilxantinas, polifenóis e saponinas) (COLPO *et al.*, 2016; GERKE, 2016; PAGLIOSA *et al.*, 2010). Dentre os compostos que conferem propriedades benéficas aos extratos da erva-mate, estão os compostos fenólicos, que apresentam atividade antioxidante. Além disto, atribui-se aos compostos fenólicos ação anti-inflamatória, antimutagênica, efeitos no metabolismo de lipídeos, entre outros (COLPO *et al.*, 2016; CHANG-BRAVO; LÓPEZ-CORDOBA; MARTINO, 2014; BRAVO; GOYA; LECUMBERRI, 2007).

As variáveis dos métodos de extração (tempo, temperatura, intensidade de agitação, tamanho das partículas e proporção soluto-solvente) influenciam a qualidade dos extratos obtidos. Além disto, a complexidade da matriz vegetal pode influenciar na eficácia da extração. Quanto menor o tamanho das partículas e maior sua homogeneidade, maior a facilidade no processo de extração pelo aumento da área de contato. No entanto, partículas muito pequenas podem formar camada compacta de pó e dificultar o contato do líquido extrator com o material vegetal, principalmente em métodos como a percolação. Além disso, o tempo de contato entre sólido-solvente permite a saturação da solução, garantindo maior rendimento na extração dos compostos. A temperatura usada industrialmente para extração de matriz vegetal é de 100°C, no entanto estudos propõem diferentes temperaturas. A polaridade do solvente extrator também tem grande influência sobre a solubilidade de compostos fenólicos durante a extração, sendo que a utilização de água e solventes hidroalcoólicos são os mais adequados para matrizes alimentícias (GERKE, 2016; ZLOTEK *et al.*, 2016; PAGLIOSA *et al.*, 2010; ROCKENBACH *et al.*, 2008; MOU-

RA *et al.*, 2005). Muitas pesquisas foram desenvolvidas para verificar condições ideais de obtenção de extratos vegetais e infusões de erva-mate (GERKE, 2016; RODRIGUES *et al.*, 2015; BASSANI; NUNES; GRANATO, 2014; DAMIANI *et al.*, 2014; PRUDÊNCIO *et al.*, 2012; PAGLIOSA *et al.*, 2010; BRAVO; GOYA; LECUMBERRI, 2007; TURKMEN; SARI; VELIOGLU, 2006). Desse modo, existem divergências sobre as condições ideais de extração, não havendo um protocolo único aceitável (ZIELINSKI *et al.*, 2014; BASSANI; NUNES; GRANATO, 2014; PRUDÊNCIO *et al.*, 2012) and was subjected to nanofiltration. The total polyphenol content values in the permeate and in the concentrate collected at different volume reduction factors (VRF of 1.5–6). and was subjected to nanofiltration. The total polyphenol content values in the permeate and in the concentrate collected at different volume reduction factors (VRF of 1.5–6).

O método espectrofotométrico com reagente de *Folin-Ciocalteu* é o mais utilizado para determinação de compostos fenólicos totais. Este reagente consiste da mistura dos ácidos fosfomolibdico e fosfotungstúico, que na presença dos compostos fenólicos (agentes redutores), reagem formando molibdênio azul e tungstênio azul, identificados por espectrometria em comprimento de onda de 720 a 760 nm (DAMIANI *et al.*, 2014). A atividade antioxidante é a capacidade de um composto de inibir ou neutralizar agentes oxidantes. Um dos mais utilizados consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre estável DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) (SILVEIRA *et al.*, 2018). A reação é monitorada pelo decréscimo do valor da absorbância ($\approx 515\text{--}517$ nm). O resultado pode ser expresso em massa equivalente de Trolox, padrão utilizado para estabelecer a curva padrão (ZIELINSKI *et al.*, 2015; BRAND-WILLIAMS; CUVÉLIER; BERSET, 1995).

O objetivo deste trabalho foi de estabelecer as condições de temperatura e tempo visando a obtenção de extratos de erva-mate com maiores teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. Para isto foram selecionados sete métodos já descritos na literatura, sendo cinco metodologias para extratos aquosos e duas para extratos hidroalcoólicos.

2 METODOLOGIA

2.1 MATERIAL

As folhas de erva-mate foram coletadas na Embrapa Florestas, em Colombo, Paraná. O material genético usado foi a BRS 408 cultivada em câmara de vegetação em sistema semi-hidropônico. As folhas foram secas em micro-ondas doméstico e trituradas em um moinho analítico de batelada (KA modelo A11 basic).

2.2 PREPARO DOS EXTRATOS DE FOLHAS DE ERVA-MATE

Na sequência foram pesadas em béqueres identificados aproximadamente 3 gramas de folhas de erva-mate em balança analítica e adicionados 100 mL de água ultrapura ou álcool etílico (50%) e realizando-se os tratamentos (05 aquosos e 02 hidroalcoólicos (etanol/água) 50% – v/v).

Os tratamentos foram realizados em banho-maria com controle de temperatura (Nova Ética. Modelo 314/6), respeitando o tempo de permanência conforme descritos na Tabela 1 e com agitação manual. Na sequência os béqueres foram cobertos com vidro de relógio de maneira a evitar a evaporação. Os tratamentos a frio, tanto o aquoso e os hidroalcoólicos, foram realizados em agitadores magnéticos, como detalhados na Tabela 1. Após realizou-se a filtração a vácuo dos extratos e foram colocados em frascos de vidro âmbar e armazenados sob refrigeração até a análise.

Tabela 1. Condições de extração para folhas da erva-mate

Extrato	Temp. (°C)	Tempo (min)	Referências
A – (aquoso)	80	7,5	ZIELINSKI <i>et al.</i> , 2014
B – (aquoso)	85	1,5	PRUDÊNCIO <i>et al.</i> , 2012 and was subjected to nanofiltration. The total polyphenol content values in the permeate and in the concentrate collected at different volume reduction factors (VRF of 1.5–6
C – (aquoso)	85	10	PAGLIOSA <i>et al.</i> , 2010
D – (aquoso)	100	40	DELADINO <i>et al.</i> , 2015; DELADINO <i>et al.</i> , 2008
E – (aquoso)	20–25	120	DAMIANI <i>et al.</i> , 2014
F – (hidroalcoólico)	20–25	120	Adaptado de DAMIANI <i>et al.</i> , 2014
G – (hidroalcoólico)	20–25	60	BRAVO; GOYA; LECUMBERRI, 2007

2.3 ANÁLISE DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS (TCP)

O método *Folin-Ciocalteu*, com modificações para protocolo de microplacas, foi usado para determinar o TCP das amostras, de acordo com descrito por Singleton e Rossi (1965). Foram utilizados 25 µL de cada amostra e adicionados 25 µL do reagente de *Folin-Ciocalteu* (diluído 1:3) e 200 µL de água ultrapura. Após 5 min, 25 µL de carbonato de sódio (Na₂CO₃) 10% foram adicionados e a mistura permaneceu em repouso por 60 min em ambiente escuro. A reação foi realizada em triplicata. A curva de calibração foi obtida utilizando ácido gálico (20 – 200 mg L⁻¹). A leitura foi realizada usando =760 nm (Multi-Mode Reader H1 Hybrid, Synergy-BIOTEK, EUA) (GRANATO; NUNES, 2016).

2.4 ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (% AA)

A atividade antioxidante foi determinada pelo método do DPPH em triplicata, utilizando metodologia

adaptada Brand–Williams, Cuvelier e Berset (1995). As amostras (40 µL) foram adicionadas à microplaca e homogeneizadas com 260 µL de solução de DPPH (100 µmol L⁻¹). A mistura permaneceu em repouso por 30 min em ambiente escuro. A leitura foi realizada usando =517 nm (Multi–Mode Reader H1 Hybrid, Synergy–BIOTEK, EUA). A curva de calibração foi obtida utilizando Trolox (0–200 µmol L⁻¹). Os resultados foram expressos em µmol por litro de extrato em equivalente de Trolox (µmol TE L⁻¹) e a atividade antioxidante (%) foi calculada utilizando a Equação 1 (GRANATO; NUNES, 2016).

$$AA (\%) = 1 - \left(\frac{A}{B} \right) \times 100 \quad (1)$$

em que AA(%) é a atividade antioxidante medida, A e B são a absorbância da amostra e do branco, respectivamente.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey foram aplicados para comparar as médias dos resultados com intervalo de confiança de 95% (p < 0.05).

3 RESULTADO

O processo de preparação dos extratos das folhas de erva-mate forneceu soluções padrões de cores diferentes, Figura 1.

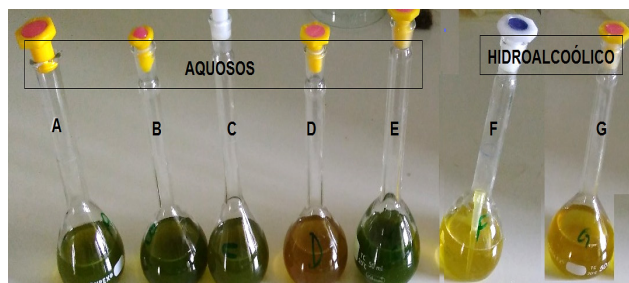


Figura 1. Extratos aquosos: A (80 °C/7,5 min); B (85 °C/1,5 min); C (85 °C/10 min) D(100 °C/40 min) E (20–25 °C/120 min). Extratos hidroalcoólicos: F (20–25 °C/120 min); G (20–25 °C/60 min)

O TCP foi determinado utilizando uma curva de calibração, utilizando ácido gálico, com R²= 0,9986. Os

resultados obtidos variaram de 2.113 a 2.423 mg EAG L⁻¹ (Ácido gálico equivalente por litro de extrato) para os extratos aquosos. Para os extratos hidroalcoólicos os valores foram de 2.707 e 2.997 mg EAG L⁻¹, Tabela 2. Os maiores teores foram obtidos nos extratos hidroalcoólicos, com diferença estatística em relação aos aquosos, sendo que a amostra F apresentou o resultado de maior TCP. Dentre os aquosos, os métodos C e D apresentaram os maiores resultados de TCP.

Tabela 2. Resultados de TCP e % AA dos extratos de folhas da erva-mate obtidos por diferentes condições de extração

Extratos	TCP (mg EAG L ⁻¹)	Atividade antioxidante	
		DPPH (% AA)	DPPH (µmol TE L ⁻¹)
Extratos aquosos			
A (80 °C/7,5min)	2.113,43 ± 64,46 ^d	43,88 ± 3,19 ^{bc}	10.606,13 ± 737,95 ^{cd}
B (85 °C/1,5min)	1.670,81 ± 101,48 ^e	39,80 ± 1,21 ^c	9.664,75 ± 279,94 ^d
C (85 °C/10min)	2.423,13 ± 77,01 ^c	55,27 ± 1,21 ^a	13.236,02 ± 339,42 ^a
D (100 °C/40min)	2.387,78 ± 31,05 ^c	52,04 ± 0,97 ^a	12.488,90 ± 224,17 ^a
E (25–30 °C/120min)	2.123,33 ± 75,01 ^d	45,44 ± 0,97 ^b	10.964,75 ± 358,62 ^{bc}
Extratos hidroalcoólicos 50% (etanol: água)			
F (25–30 °C/120min)	2.997,17 ± 39,65 ^a	51,25 ± 1,35 ^a	12.175,10 ± 313,79 ^{ab}
G (25–30 °C/60min)	2.707,88 ± 13,71 ^b	41,46 ± 2,54 ^{bc}	9.888,89 ± 593,01 ^{cd}

Nota: Diferentes letras nas colunas indicam significativa diferença estatística entre as amostras pelo teste de Tukey (p < 0.05). Resultados expressos como médias ± desvio padrão (n=3).

A % AA foi calculada utilizando uma curva de calibração, utilizando Trolox, com R²= 0,9838. As atividades antioxidantes medidas pela inibição do radical DPPH variaram de 39,8 ± 1,21% (extrato B) a 55,27 ± 1,21% (extrato C). Nos extratos hidroalcoólicos foi observada a maior % AA para amostra F (51,2 ± 1,35%). No entanto, os extratos aquosos C e D apresentaram as maiores % AA, sem diferença significativa entre estas amostras, Tabela 2.

4 DISCUSSÃO

Diversos fatores podem influenciar na capacidade antioxidante e no teor de fenólicos totais dos extratos vegetais. Tais fatores podem justificar as variações obtidas nos resultados do presente trabalho em comparação aos trabalhos utilizados como referência. Parâmetros como quantidade e tipo de solvente, razão soluto/solvente, agitação e outras modificações empregadas nas publicações de referência não foram repetidas nesse estudo.

No presente trabalho, a extração A apresentou resultado de TCP ($2.113,43 \pm 64,46$ mg EAG L⁻¹) superior ao obtido por Zielinski *et al.* (2014) ($672,87 \pm 126,25$ mg EAG L⁻¹), nas mesmas condições de tempo e temperatura. No entanto foi observada uma menor % AA ($43,88 \pm 3,19\%$ e $49,66 \pm 9,59\%$, respectivamente).

O extrato B foi obtido seguindo parâmetros de tempo e temperatura utilizados por Prudêncio *et al.* (2012). O extrato B apresentou os menores TCP e % AA no presente trabalho, sendo o que utilizou menor tempo de extração (85 °C/1,5min).

Pagliosa *et al.* (2010) obtiveram resultados de TCP e % AA de 1.402 mg EAG L⁻¹ e 50.200 µmol TE L⁻¹, respectivamente. Esta metodologia foi usada para obtenção do extrato C, onde foram observados os resultados de TCP superior ao estudo de referência e a % AA inferior ($2.423,13 \pm 77,01$ mg EAG L⁻¹ e $13.236,02 \pm 339,42$ µmol TE L⁻¹). Esta diferença entre os resultados pode ser pelo material vegetal utilizado e pelo fato de terem utilizado ultrassom para agitação, enquanto neste trabalho usou-se agitação manual.

As condições de tempo e temperatura utilizadas por Deladino *et al.* (2008, 2015) foram reproduzidas na extração D. Os autores observaram valor de $621,1$ mg EAG L⁻¹ para TCP e a % AA para extratos de 1%, 5% e 10% foi de 50%, 60% e 80%, respectivamente.

Nas metodologias de extração C e D foram observados os melhores resultados de TCP e % AA dentre os extratos aquosos. Entretanto o método C

(85 °C/10min) oferece vantagens por utilizar menor tempo e temperatura de extração comparando ao D (100 °C/40 min). Quanto ao parâmetro de temperatura, seu aumento melhora a solubilidade de compostos fenólicos no solvente e, por consequência, proporciona maior eficiência na extração. No entanto, deve-se estabelecer a melhor temperatura de extração, conhecendo as características da matriz utilizada, pois tempo e temperaturas elevadas podem favorecer a degradação e alteração da qualidade de alguns componentes de forma irreversível (SHARMA *et al.*, 2015).

Tabaraki, Heidarizadie Benvidi (2012) relataram que extrações de matrizes vegetais realizadas em temperaturas entre 52°C a 67°C podem aumentar a porosidade no tecido da parede celular. Assim a permeabilidade do solvente é facilitada, permitindo hidrólise dos compostos fenólicos ligados a proteínas ou polissacarídeos, liberando o conteúdo intracelular de forma eficiente e consequentemente melhorando o processo de extração destes compostos (CACACE; MAZZA, 2002). Nishiyama *et al.* (2010) concluíram que a temperatura é o fator de maior relevância na extração do chá verde, pois se for demasiadamente elevada, causa epimerização de catequinas, que são os polifenóis encontrados em maior quantidade nos chás.

Damiani *et al.* (2014) compararam a extração a quente e a temperatura ambiente de chá branco obtendo os melhores resultados nas extrações à temperatura ambiente. Estudo semelhante foi realizado por Rodrigues *et al.* (2015) que igualmente obtiveram valores maiores no TCP ($1.639,87 \pm 106,31$ mg L⁻¹) e % AA ($77,13 \pm 0,38\%$) para a *I. paraguariensis* na extração à temperatura ambiente. As condições utilizadas por esses autores foram usadas na extração aquosa E e hidroalcoólica F, obtendo resultados de TCP = $2.123,33 \pm 75,01$ mg EAG L⁻¹, % AA = $45,44 \pm 0,97\%$ e TCP = $2.997,17 \pm 39,65$ mg EAG L⁻¹, % AA = $51,25 \pm 1,35\%$, respectivamente. Também foram observados resultados de TCP superior e % AA inferior ao estudo de referência, assim como nos extratos A e C. Porém, no caso do trabalho de Rodrigues *et al.*

(2015), também foi utilizada agitação manual a cada 30 minutos, enquanto para A e C a agitação foi diferente da utilizada no estudo de referência. Comparando os resultados dos extratos E e F obtidos nas mesmas condições de tempo e temperatura (25–30 °C/120min) conclui-se que a extração hidroalcoólica foi mais eficiente. Isto pois o etanol apresenta característica anfifílica, com capacidade de extrair substâncias de caráter polar e apolar. Por outro lado, etanol absoluto pode provocar a desnaturação de proteínas, impedindo que os polifenóis sejam dissolvidos. Um estudo comparou extrações aquosas, hidroalcoólicas e alcoólicas, sendo que melhores resultados foram obtidos utilizando solventes hidroalcoólicos (TURKMEN; SARI; VELIOGLU, 2006). Esses são mais seletivos por grupos de característica mais polar, favorecendo a extração de compostos como quercetina e canferol, presentes na erva-mate (KARABEGOVI *et al.*, 2014; D’ALESSANDRO *et al.*, 2012).

Os resultados do presente trabalho evidenciam que o tempo de extração e temperatura são importantes no enriquecimento de TCP e % AA do extrato final. Dentre as extrações hidroalcoólicas (F e G), que somente diferem no tempo, foi observado que G (1h de extração) resultou em menores TCP e % AA em comparação a F (2h de extração). Isso pode ser pela necessidade do tempo de extração da metodologia F para a saturação da solução (GERKE, 2016; GHITESCU *et al.*, 2015).

Diante dos resultados obtidos nesse trabalho, observa-se que condições de tempo e temperatura mais elevados resultaram num maior rendimento de extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante. Também se observou que a utilização de solvente hidroalcoólico melhora a extração destes constituintes em relação à água.

O efeito do tempo sobre a extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante é pela necessidade de um tempo mínimo necessário para que se estabeleça o equilíbrio entre as concentrações dos compostos extraídos na matriz vegetal e no solvente extrator. Por outro lado, existe um tempo máximo de extração em que ocorre a saturação do extrato. Além

disso, um tempo muito longo pode reduzir o TCP e % AA por proporcionar a degradação de compostos por meio de sua oxidação (maior exposição à luz e ao oxigênio). Por outro lado, o aumento de temperatura aumenta o rendimento da extração de compostos fenólicos por aumentar a energia cinética das moléculas. Dessa forma melhora a solubilidade e o coeficiente de difusão desses compostos, inclusive permitindo uma extração mais rápida. No entanto, uma temperatura muito elevada pode causar degradação de metabólitos de maior termo sensibilidade (THOO *et al.*, 2010; SPIGNO; TRAMELLI; DE FAVERI, 2007; SILVA; ROGEZ; LARONDELLE, 2007).

A influência do solvente extrator se dá pela estrutura química dos polifenóis. Essas moléculas possuem propriedades hidrofílicas, pela possibilidade de as hidroxilas fazerem ligações de hidrogênio, e hidrofóbicas, pela sua cadeia carbônica. Assim, essas moléculas são solúveis em solventes orgânicos polares como metanol, etanol, acetona e água. Esse processo de solubilidade entre as fases é explicado pelo coeficiente de partição (log P) em que são consideradas as propriedades envolvidas nas interações intermoleculares entre os meios e o soluto estudado. Portanto, a polaridade do solvente é uma característica importante para determinar sua afinidade com esses compostos (MAGALHÃES *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2019; TSAO, 2010).

Os extratos das folhas de erva-mate apresentaram TCP superior aos obtidos para diferentes amostras comerciais de café (220 a 620 mg EAG L⁻¹) (OLIVEIRA-NETO *et al.*, 2016). Assim como os presentes extratos apresentaram maior % AA quando comparados a chá verde, branco e preto comerciais, com valores entre 1.227,11 a 8.866,00 µmol TE L⁻¹ (ZIELINSKI *et al.*, 2015).

5 CONCLUSÃO

As condições de extração utilizadas se mostraram eficientes na extração de polifenóis e antioxidantes. As extrações aquosas que

proporcionaram maior TCP e % AA foram C (85 °C/10min) e D (100 °C/40min). No entanto, o método C oferece vantagens por utilizar menor tempo e temperatura de extração, quando comparado a D. Entre os extratos hidroalcoólicos, a metodologia F (20–25°C/2h) proporcionou o maior rendimento de TCP e % AA nas análises realizadas. Também é observado que os extratos hidroalcoólicos apresentaram maior rendimento de extração de TCP e % AA quando comparados aos aquosos. Os resultados obtidos podem ser utilizados para adequação de condições de extração da erva–mate visando sua aplicação em alimentos e nutracêuticos, elevando o valor agregado desses produtos, pelas suas capacidades antioxidantes e propriedades funcionais.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a UEPG (Universidade Estadual de Ponta Grossa), a UFPR (Universidade Federal do Paraná), a Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), ao CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento, Número do Financiamento 306930/2016–1) e a Capes (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo suporte a este trabalho.

REFERÊNCIAS

- BASSANI, D. C.; NUNES, D. S.; GRANATO, D. Optimization of phenolics and flavonoids extraction conditions and antioxidant activity of roasted yerba–mate leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.–Hil., Aquifoliaceae) using response surface methodology. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 2, jun. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0001–3765201420130019>. Acesso em: 25 abr. 2019.
- BRAND–WILLIAMS, W.; CUVÉLIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0023–6438\(95\)80008–5](https://doi.org/10.1016/S0023–6438(95)80008–5). Acesso em: 25 abr. 2019.
- 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. 303–405, abr. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.10.016>. Acesso em: 13 abr. 2019.
- CACACE, J. E.; MAZZA, G. Extraction of anthocyanins and other phenolics from black currants with Sulfured Water. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 5939–5946, set. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf025614x>. Acesso em: 15 abr. 2019.
- CHANG–BRAVO, L.; LÓPEZ–CÓRDOBA, A.; MARTINO, M. Biopolymeric matrices made of carrageenan and corn starch for the antioxidant extracts delivery of Cuban red propolis and yerba mate. **Reactive and Functional Polymers**, v. 85, p. 11–19, dez. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2014.09.025>. Acesso em: 13 abr. 2019.
- COLPO, A. C. *et al.* Yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.)–based beverages: How successive extraction influences the extract composition and its capacity to chelate iron and scavenge free radicals. **Food Chemistry**, v. 209, p. 185–195, out. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.059>. Acesso em: 13 abr. 2019.
- D’ALESSANDRO, L. G.; KRIAA, K.; NIKOV, I.; DIMITROV, K. Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. **Separation and Purification Technology**, v. 93, p. 42–47, jun. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.03.024>. Acesso em: 23 abr. 2019.
- DAMIANI, E.; BACCHETTI, T.; PADELLA, L.; TIANO, L.; CARLONI, P. Antioxidant activity of different white teas: Comparison of hot and cold tea infusions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 33, p. 50–66,

fev. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.09.010>. Acesso em: 13 abr. 2019.

DELADINO, L.; ANBINDEN, P. S.; NAVARRO, A. S.; MARTINO, M. N. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 126–134, jan. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.05.030>. Acesso em: 13 abr. 2019.

DELADINO, L.; TEIXEIRA, A. S.; NAVARRO, A. S.; ALVAREZ, I.; MOLINA–GARCÍA, A. D.; MARTINO, M. Corn starch systems as carriers for yerba mate (*Ilex paraguariensis*) antioxidants. **Food and Bioprocess Processing**, v. 94, p. 463–472, abr. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2014.07.001>. Acesso em: 13 abr. 2019.

GERKE, I. B. B. **Extrato aquoso de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) clarificado**: extração em batelada e processamento por membranas. 2016. 40 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1884/42888>. Acesso em: 13 abr. 2019.

GHITESCU, R. E.; VOLF, I.; CARAUSU, C.; BÜHLMANN, A. M.; GILCA, I. A.; POPA, V. I. Optimization of ultrasound–assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 22, p. 535–541, jan. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.07.013>. Acesso em: 15 abr. 2019.

GRANATO, D.; NUNES, D. S. **Análises químicas, propriedades funcionais e controle de qualidade de alimentos e bebidas**: uma abordagem teórico–prática. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2016.

KARABEGOVI, I. T.; STOJIEVI, S. S.; VELIKOVI, D. T.; TODOROVI, Z. B.; NIKOLI, N. C.; LAZI, M. L. The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 54, p. 142–148, mar. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.047>. Acesso em: 23 abr. 2019.

MAGALHÃES, W. L. E.; ZANONI, P. R. S.; HELM, C. V.; LAZZAROTTO, M.; SATYANARAYANA, K. G. Nanotechnology applied to improve functionality in food. In: GRUMEZESCU, A. M. (ed.). **Nutrient delivery**. Amsterdam: Elsevier, 2017. cap. 5, p. 177–219. (Nanotechnology in the agri–food industry, v. 5).

MOURA, T. F. A. L.; VASCONCELOS, E. A. F.; BARBOSA, R. M.; MEDEIROS, M. G. F. Influência do processo extrativo, solvente e tamanho da partícula do material vegetal no teor de sólidos totais da solução extrativa da *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Fitos**, v. 1, n. 1, p. 74–79, jan. 2005. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/19124>. Acesso em: 13 abr. 2019.

NISHIYAMA, M. F. *et al.* Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. **Ciênc. Tecnol. Alimentos**, v. 30, p. 191–196, maio 2010. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395940103029>. Acesso em: 13 abr. 2019.

OLIVEIRA, E. R.; SILVA, R. F.; SANTOS, P. R.; QUEIROZ, F. Potential of alternative solvents to extract biologically active compounds from green coffee beans and its residue from the oil industry. **Food and Bioprocess Processing**, v. 115, p. 47–58, maio 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.02.005>. Acesso em: 23 maio 2019.

OLIVEIRA–NETO, J. R.; REZENDE, S. G.; REIS, C. F.; BENJAMIN, S. R.; ROCHA, M. L.; GIL, E. S. Electrochemical behavior and determination of major phenolic antioxidants in selected coffee samples. **Analytical Methods**, v. 190, p. 506–512, jan. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.104>. Acesso em: 23 mai. 2019.

PAGLIOSA, C. M. *et al.* Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Food Chemistry**, v. 122, p. 173–178, set. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.047>.

- org/10.1016/j.foodchem.2010.02.040. Acesso em: 15 abr. 2019.
- PRUDÊNCIO, A. P. A. et al. Phenolic composition and antioxidant activity of the aqueous extract of bark from residues from mate tree (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) bark harvesting concentrated by nanofiltration. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 399–405, jul. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.12.003>. Acesso em: 15 abr. 2019.
- ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Solvent Influence on total polyphenol content, anthocyanins, and antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) bagasse extracts from *Tannat* and *Ancelota* – different varieties of *Vitis vinifera* varieties. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 238–244, dez. 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000500036>. Acesso em: 23 abr. 2019.
- RODRIGUES, V. C.; SILVA, M. V.; SANTOS, A. R.; ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I. Evaluation of hot and cold extraction of bioactive compounds in teas. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, p. 2038–2045, jun. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ijfs.12858>. Acesso em: 13 abr. 2019.
- SHARMA, K. et al. Temperature–dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 23, n. 2, p. 243–252, jun. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.10.005>. Acesso em: 13 abr. 2019.
- SILVA, E. M.; ROGEZ, H.; LARONDELLE, Y. Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. **Separation and Purification Technology**, v. 55, p. 381–387, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.01.008>. Acesso em: 23 maio 2019.
- SILVEIRA, A. C.; KASSUIA, Y. S.; DOMAHOVSKI, R. C.; LAZZAROTTO, M. **Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva–mate de forma rápida e reprodutível**. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2018. (Comunicado Técnico, n. 421). Disponível em: <https://www.embrapa.br/florestas/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1101294/metodo-de-dpph-adaptado-uma-ferramenta-para-analisar-atividade-antioxidante-de-polpa-de-frutos-da-erva-mate-de-forma-rapida-e-reprodutivel>. Acesso em: 13 abr. 2019.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic–phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–149, jan. 1965. Disponível em: <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144.article-info>. Acesso em: 13 abr. 2019.
- SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; DE FAVERI, D. M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food and Engineering**, v. 81, p. 200–208, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021>. Acesso em: 23 maio 2019.
- TABARAKI, R.; HEIDARIZADI, E.; BENVIDI, A. Optimization of ultrasonic–assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. **Separation and Purification Technology**, v. 98, p. 16–23, set. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.06.038>. Acesso em: 13 abr. 2019.
- THOO, Y. Y.; HO, S. K.; LIANG, J. Y.; HO, C. W.; TAN, C. P. Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). **Food Chemistry**, v. 120, p. 290–295, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.064>. Acesso em: 23 maio 2019.
- TSAO, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. **Nutrients**, v. 2, n. 12, p. 1231–1246, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu2121231>. Acesso em: 23 maio 2019.

TURKMEN, N.; SARI, F.; VELIOGLU, Y. S. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and *Folin–Ciocalteu* methods. **Food Chemistry**, v. 99, n. 4, p. 835–841, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.034>. Acesso em: 23 abr. 2019.

ZIELINSKI, A. A. F.; GRANATO, D.; ALBERTI, A.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M.; HAMINIUK, C. W. I. Modelling the extraction of phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of mixtures of green, white and black teas (*Camellia sinensis* L. Kuntze). **J. Food Sci. Technol**, v. 52, n. 11, p. 6966–6977, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1797-0>. Acesso em: 23 maio 2019.

ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; ALBERTI, A.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M.; GRANATO, D. A comparative study of the phenolic compounds and the *in vitro* antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food Research International**, v. 60, p. 246–254, jun. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.09.010>. Acesso em: 23 abr. 2019.

ZLOTEK, U.; SZYMANOWSKA, U.; KARA, M.; WIECA, M. Antioxidative and anti-inflammatory potential of phenolics from purple basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves induced by jasmonic, arachidonic and –aminobutyric acid elicitation. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 51, p. 163–170, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ijfs.12970>. Acesso em: 13 abr. 2019.

Recebido em: 23/04/2019

Aceito em: 27/05/2019