

Natália Silva de Farias

**BIOFILMES ATIVOS DE ALGINATO DE SÓDIO COM
EXTRATO DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.):
Avaliação das propriedades físico-químicas e cinética de liberação
de compostos fenólicos**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Carmen Maria Olivera Müller

Florianópolis
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Farias, Natália Silva de

Biofilmes ativos de alginato de sódio com extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): Avaliação das propriedades físico-químicas e cinética de liberação de compostos fenólicos / Natália Silva de Farias ; orientadora, Dr^a. Carmen Maria Olivera Müller, 2018.

119 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Biopolímeros. 3. Filmes bioativos. 4. Filmes antioxidantes. 5. Cinética de liberação. I. Müller, Dr^a. Carmen Maria Olivera . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

**BIOFILMES ATIVOS DE ALGINATO DE SÓDIO COM EXTRATO
DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil): AVALIAÇÃO DAS
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E CINÉTICA DE
LIBERAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS**

Por

Natália Silva de Farias

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de
“Mestrado em Ciência dos Alimentos”, e aprovada em sua forma final pelo
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

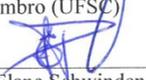
Florianópolis, 22 de fevereiro de 2018


Prof. (a). Dr. (a). Ana Carolina de Oliveira Costa
Coordenadora

Banca Examinadora:


Prof.(a). Dr.(a). Carmen Maria Olivera Müller
Orientadora (UFSC)


Prof. Dr. Alfredo Tibúrcio Nunes Pires
Membro (UFSC)


Prof.(a). Dr.(a). Elane Schwinden Prudêncio
Membro (UFSC)


Prof.(a). Dr.(a). Ana Carolina de Oliveira Costa
Membro (UFSC)

Este trabalho é dedicado aos meus amados pais e ao meu companheiro Matias, que muito me incentivaram a realizá-lo.

AGRADECIMENTOS

À elaboração deste trabalho só foi possível pela colaboração e esforço de várias pessoas que me apoiaram. Por estas tenho uma enorme gratidão.

Primeiramente ao Pai celestial, meu Deus pelos momentos de alegrias, e por ter me segurado e me dado forças para os momentos mais difíceis.

À Universidade Federal de Santa Catarina, principalmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos por toda base, infraestrutura e por todos os amigos que fiz nesta instituição.

À minha família, principalmente aos meus pais que são meu porto seguro, meu refúgio de amor, obrigada por todo apoio e compreensão pela ausência, vocês nunca me deixaram fraquejar nos momentos de dúvidas. Fiz isto por mim e pra eles.

Ao meu amado companheiro Matias Caivano Pedroso de Albuquerque, obrigada por todo amor e por me fazer acreditar que sempre posso ir mais além.

A toda família Albuquerque que me acolheu em Florianópolis, principalmente a minha querida sogra Cleidi.

Aos membros da banca por aceitarem o convite e por todas as contribuições.

À professora Edna Regina Amante e ao professor Alfredo Tibúrcio Nunes Pires por disponibilizarem os seus laboratórios para realização deste trabalho.

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) por todo auxílio nas análises realizadas no microscópio eletrônico de varredura (MEV).

A toda equipe do Laboratório de Frutas e Hortaliças, pelo auxílio, discussões e amizade. Vocês tornaram meu trabalho mais leve.

E por último, a minha orientadora Carmen Maria Olivera Müller, obrigada pela construção deste sonho! Tenho muito orgulho de ser orientada por você, é visível o prazer que você sente em dar aula e fazer parte da vida de tantos e tantos alunos. És uma referencia profissional e pessoal para o meu crescimento. Muito obrigada!

A todos que contribuíram e me ajudaram de todas as formas na elaboração deste trabalho. Muito obrigada!

RESUMO

Filmes biodegradáveis ativos são embalagens que além de proteger o material que o envolve, têm a capacidade de interagir com alimento de maneira que favoreça a sua preservação ou o aumento da vida de prateleira. Neste sentido, é de grande interesse tecnológico que a matriz polimérica biodegradável onde a substância ativa está inserida não se desintegre completamente, durante a liberação do composto ativo, para que a embalagem continue atuando como sistema de barreira e de proteção mecânica para o alimento. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo elaborar e caracterizar biofilmes de alginato de sódio incorporados do extrato aquoso da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e avaliar os processos de liberação *in vitro* dos compostos fenólicos totais do filme em quatro simulantes alimentícios. O extrato aquoso de erva-mate foi preparado com 3 % (m/v) de folhas desidratadas e foi caracterizado em termos de teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelos métodos do DPPH e FRAP. Os filmes foram preparados pelo método de *casting* utilizando 1,5 % de alginato de sódio, 0,3 g de glicerol/ g de alginato e extrato de erva-mate nas proporções de 0, 10, 15, 20 e 25 % (v/v), denominados de ALG, ALG10, ALG15, ALG20 e ALG25. Os filmes foram reticulados por imersão em 100 mL da solução de CaCl_2 (3 % m/v) e 30 % (v/v) de etanol. Os filmes foram caracterizados morfológicamente por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e suas propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água e foram analisadas. Foram realizados ensaios cinéticos de liberação dos compostos fenólicos totais contidos no filme ALG25, em 4 sistemas de simulantes de alimentos, água (simulante A), etanol a 10 % (v/v) (simulante B), ácido acético a 3 % (m/v) (simulante C), ambos a 40 °C e isooctano P.A a 20 °C. (simulante D). De acordo com os resultados obtidos nas microscopias, observou-se que o aumento da concentração de extrato nos filmes modificou a estrutura dos filmes, tornando a superfície mais rugosa e promoveu o aumento de poros, conforme observado nas criofraturas. As isotermas de adsorção de umidade apresentaram maiores valores de umidade de equilíbrio para os filmes ALG20 e ALG25. O modelo de GAB foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais para todos os filmes avaliados. A permeabilidade ao vapor de água dos filmes ALG20 e ALG25 foi significativamente ($p \leq 0,05$) maior que a dos demais filmes, corroborando os resultados das isotermas de adsorção. A adição de 20 % de extrato tornou os filmes de alginato mais resistentes, sem comprometer a alongação e a rigidez. Nas cinéticas de liberação dos

compostos fenólicos totais, a maior taxa liberação foi observada no simulante B após 48 h. Os modelos empíricos de Higuchi, Korsmeyer e Peppas e Sahlin foram ajustados aos dados experimentais da liberação com a finalidade de determinar as taxas de liberação e os mecanismos envolvidos na transferência de massa dos compostos fenólicos. O modelo de Peppas e Sahlin foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais em todos os simulantes analisados. De acordo com valores dos parâmetros de K1 relacionado com a difusão Fickiana e K2 relacionado com o processo de erosão/ relaxação da matriz polimérica, o processo de transferência de massa dos compostos fenólicos totais através da matriz, ocorre basicamente por difusão. Contudo, os filmes com 20 e 25 % do extrato de erva-mate foram o que apresentaram maiores diferenças estruturais, nas propriedades mecânicas e nas propriedades de barreira. O processo de transferência de massa dos compostos fenólicos totais do extrato na matriz polimérica é favorecido em meios higroscópicos, principalmente, em meio etanólico.

Palavras-chave: Filmes bioativos. Erva-mate. Cinética de liberação. Compostos fenólicos. Peppas e Shalin.

ABSTRACT

Active biodegradable films are packaging that, in addition to protecting the material that surrounds it, have the ability to interact with food in a way that favors its preservation or increase shelf life. In this sense, it is of great technological interest that the biodegradable polymer matrix where the active substance is inserted does not completely disintegrate during the release of the active compound so that the packaging continues to act as a barrier and mechanical protection system for the food. Therefore, the objective of this work was to elaborate and characterize the sodium alginate biofilms incorporated in the aqueous extract of the yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) and evaluate the in vitro release processes of the total phenolic compounds of the film in four food simulants. The aqueous extract of yerba mate was prepared with 3% (w / v) of dehydrated leaves and was characterized in terms of total phenolic compounds content and antioxidant activity by the DPPH and FRAPS methods. The films were prepared by the casting method using 1.5% sodium alginate, 0.3 g glycerol/ g alginate and yerba mate extract in the proportions of 0, 10, 15, 20 and 25% (v / v), termed ALG, ALG10, ALG15, ALG20, and ALG25. The films were cross-linked by immersion in 100 mL of CaCl₂ solution (3% m / v) and 30% (v / v) ethanol. The films were characterized morphologically by Scanning Electron Microscopy (SEM) and their mechanical and barrier properties to water vapor and were analyzed. Kinetic assays were carried out in 4 systems of food simulants, water (simulant A), 10 % ethanol (v / v) (simulant B), 3 % acetic acid (m / v) (simulant C), both at 40 °C and PA isooctane at 20 °C (simulant D). According to the results obtained in the microscopies, it was observed that the increase of the concentration of extract in the films modified the structure of the films, making the surface rougher and promoted the increase of pores, as observed in the cryofractures. Moisture adsorption isotherms presented higher equilibrium moisture values for ALG20 and ALG25 films. The GAB model was the best fit for the experimental data for all films evaluated. The water vapor permeability of ALG20 and ALG25 films was significantly ($p \leq 0.05$) higher than that of the other films, corroborating the results of the adsorption isotherms. The addition of 20% extract made the alginate films more resistant, without compromising elongation and rigidity. In the release kinetics of total phenolic compounds, the highest release rate was observed in simulant B after 48 h. The empirical models of Higuchi, Korsmeyer and Peppas and Sahlin were fitted to the experimental data of the release in order to determine

the release rates and the mechanisms involved in the mass transfer of the phenolic compounds. The Peppas and Sahlin model was the one that best fit the experimental data in all simulants analyzed. According to values of K1 parameters related to the Fickian and K2 diffusion related to the erosion/relaxation process of the polymer matrix, the mass transfer process of the total phenolic compounds through the matrix basically occurs by diffusion. However, the films with 20 and 25% of the yerba mate extract presented the greatest structural differences in the mechanical properties and barrier properties. The mass transfer process of phenolic compounds in the polymeric matrix extract is favored hygroscopic media, especially in the ethanolic medium.

Keywords: Bioactive films. Yerba mate. Release kinetics. Phenolic compounds. Peppas and Shalin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Classificação dos polímeros biodegradáveis.	29
Figura 2. Estrutura química do alginato: ácido α -L-gulurônico (G) e ácido β -D-manurônico (M).	33
Figura 3. (a) Ligação do Ca^{2+} (círculo maior) com o α -L-gulurônico-(1-4)- α -L-gulurônico; (b) Formação do gel de alginato – modelo “caixa de ovos”, as linhas curvadas representam as partes dos blocos G diaxialmente ligadas.	34
Figura 4. Estrutura química das metilxantinas, flavonoides e derivados dos ácido cafeico.	45
Figura 5. Imagem dos filmes de alginato de sódio reticulados com CaCl_2 com e sem adição de extrato da erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> Saint Hilaire).	63
Figura 6. Micrografias dos filmes de alginato de sódio com e sem adição do extrato de erva-mate.	64
Figura 7. Micrografia de fratura do filme com 25% de extrato de erva-mate (ALG25). Onde, (a) camada superficial escura (b) camada interna mais clara.	66
Figura 8. Isoterma de adsorção de umidade, (a) ajuste matemático do modelo de GAB; (b) ajuste matemático do modelo de BET. 68	
Figura 9. Cinética de liberação dos compostos fenólicos totais presentes no filme ALG25 em sistemas acelerados com os simulantes A, B, C e D.	77
Figura 10. Ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais da liberação em água (Simulante A).	81
Figura 11. Ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais da liberação em etanol (Simulante B).	82
Figura 12. Ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais da liberação em ácido acético (Simulante C).	83
Figura 13. Ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais da liberação em isooctano (Simulante D).	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atividade de água das soluções saturadas de sais a 25 °C. ...	54
Tabela 2. Composição e características de uso de cada simulante de alimentos.	56
Tabela 3. Modelos matemáticos aplicados a cinética de liberação dos compostos fenólicos totais.	57
Tabela 4. Teor de compostos fenólicos totais totais e atividade antioxidante do extrato de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> Saint Hilaire).	59
Tabela 5. Parâmetros de ajuste do modelo de GAB e BET para os filmes controle e com extrato de erva-mate.	70
Tabela 6. Permeabilidade ao vapor de água (K^w) dos filmes com diferentes concentrações do extrato de erva-mate, a 25 °C e 75 % de umidade relativa.	72
Tabela 7. Tensão na ruptura (T_{rup}), alongação na ruptura (ϵ_{rup}) e módulo de Young (Y), dos filmes sem e com adição do extrato de erva-mate.	73
Tabela 8. Ajuste dos modelos aplicados aos dados experimentais e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2), desvios quadráticos médios (DQM) e teste Qui-Quadrado (X^2).	80
Tabela 9. Formulações dos filmes elaborados nos ensaios preliminares de reticulação.	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico
ALG	Filme controle, sem extrato
ALG10	Filme com 10 % do extrato de erva-mate
ALG15	Filme com 15 % do extrato de erva-mate
ALG20	Filme com 20 % do extrato de erva-mate
ALG25	Filme com 25 % do extrato de erva-mate
ASTM	American Society for Testing and Materials
a_w	Atividade de água
a_{w1}	Atividade de água dentro da cápsula
a_{w2}	Atividade de água dentro do dessecador
b	Quantidade inicial da substância na solução
Ba^{2+}	Bário
C	Calor de sorção
Ca^{2+}	Cálcio
$CaCl_2$	Cloreto de cálcio
CO_2	Dióxido de oxigênio
COO	Carboxilato
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
Fe^{3+}	Ferro (III)
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
K	Calor de sorção nas multicamadas (modelo de GAB)
K	Constante de liberação (modelo de Higuchi e Korsmeyer)
K1	Constante que reflete o mecanismo de difusão Fickiana
K2	Constante relacionada com o mecanismo de relaxação/erosão
K^w	Permeabilidade ao vapor de água
m	Expoente de difusão Fickiana
M_∞	Quantidade total da substância ativa incorporada ao sistema polimérico
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
Mg^{2+}	Magnésio
M_t	Quantidade da substância ativa liberada com o tempo

n	Expoente difusional
Na ⁺	Sódio
NaCl	Cloreto de sódio
O ₂	Oxigênio
OH	Hidroxila
P _s	Pressão de saturação da água a 25°C
S	Área de permeação (m ²)
Simulante A	Água destilada
Simulante B	Etanol a 10 % (v/v)
Simulante C	Ácido acético a 3 % (m/v)
Simulante D	Isooctano PA
Sr ²⁺	Estrôncio
t	Tempo
TPTZ	2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina
UR	Umidade Relativa
W	g de água/h calculado por regressão linear
X _{eq}	Umidade de equilíbrio
X _m	Umidade da monocamada
δ	Espessura média dos filmes

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVO GERAL	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
3.1 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS	27
3.1.1 Alginato	32
3.1.2 Filmes biodegradáveis de alginato	34
3.2 BIOFILMES ATIVOS	36
3.2.1 Biofilme antimicrobiano	37
3.2.2 Biofilme antioxidante	39
3.3 ERVA-MATE (<i>Ilex paraguariensis</i> Saint Hilaire)	42
3.3.1 Compostos fenólicos na erva-mate	44
3.3.2 Filmes com adição de extratos da erva-mate	47
3.4 ENSAIOS DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> PARA POLÍMEROS HIDROFÍLICOS	48
4 MATERIAL E MÉTODOS	51
4.1 ELABORAÇÃO DO EXTRATO DA ERVA-MATE (<i>Ilex</i> <i>paraguariensis</i> Saint Hilaire).....	51
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO	51
4.2.1 Determinação dos sólidos totais e pH	51
4.2.2 Determinação dos compostos fenólicos totais do extrato	51
4.2.3 Determinação da atividade antioxidante	52
4.2.2.1 Método DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	52
4.2.2.2 Método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	52
4.3 ELABORAÇÃO DOS FILMES	53
4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	53
4.4.1 Análise da microestrutura dos filmes	53
4.4.2 Isotermas de sorção de umidade	54

4.4.3 Permeabilidade ao vapor de água (K^w).....	55
4.4.4 Ensaio mecânicos de tração	55
4.5 ENSAIO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i>	56
4.5.1 Cinética de migração por imersão	56
4.5.2 Análise de compostos fenólicos totais liberados nos simulantes alimentícios	57
4.5.3 Modelagem matemática.....	57
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1 TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE ERVA-MATE	59
5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	62
5.2.1 Análise da microestrutura dos filmes (MEV).....	63
5.2.2 Isotermas de adsorção de umidade a 25 °C	67
5.2.3 Permeabilidade ao vapor de água (K^w).....	71
5.2.4 Ensaio de tração	73
5.3 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS <i>IN VITRO</i>	75
5.3.1 Modelagem matemática	78
6 CONCLUSÕES	85
REFERÊNCIAS	87
ANEXO A – Formulações elaboradas nos testes preliminares	113
ANEXO B – Resíduos gerados pelo ajuste do modelo de GAB.....	114
ANEXO C – Resíduos gerados pelo ajuste do modelo de BET	115
ANEXO D - Resíduos gerados pelo de ajuste dos modelos cinéticos para o simulante A	116
ANEXO E–Resíduos gerados pelo de ajuste dos modelos cinéticos para o simulante B	117
ANEXO F – Resíduos gerados pelo de ajuste dos modelos cinéticos para o simulante C	118
ANEXO G – Resíduos gerados pelo de ajuste dos modelos cinéticos para o simulante D	119

1 INTRODUÇÃO

A crescente preocupação dos consumidores com a segurança e qualidade dos alimentos tem promovido o desenvolvimento de embalagens ativas. Estas são embalagens que, além de atuar como barreira atuam diretamente na liberação de compostos que interagem com a superfície dos alimentos, de maneira que favoreça o aumento da preservação (LEE, 2014). Neste sentido, aditivos têm sido incorporados aos materiais de embalagem de forma a fornecer funções específicas, como por exemplo, atividade antimicrobiana ou antioxidante.

Além disso, em virtude dos cuidados com a saúde e com o meio ambiente, muitos sistemas de embalagens ativas têm sido elaborados utilizando polímeros biodegradáveis e de fontes renováveis como materiais de embalagem, denominados biopolímeros. Dentre os biopolímeros destaca o alginato de sódio que é um copolímero aniônico formado por cadeias lineares de resíduos de ácido β -D-manurônico (M) unidos por ligações glicosídicas (1 \rightarrow 4) ao ácido α -L-gulurônico (G), em várias proporções. Estes resíduos estão arranjados na forma de blocos de ácidos manurônico (M) ou gulurônico (G) que podem ser compostos por blocos da mesma unidade de repetição (GG e MM) junto com blocos alternados (MG) cuja proporção varia em função das diferentes espécies de algas das quais é extraído (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Os alginatos têm usos industriais difundidos devido à capacidade de formar géis na presença de íons bivalentes como o Ca^{+2} , fazendo com que este polímero seja uma matriz interessante para a elaboração de filmes bioativos. O processo de reticulação provoca mudanças nos parâmetros físico-químicos do alginato e como consequência, nos filmes elaborados a partir dele. A reticulação torna os materiais mais resistentes mecanicamente e menos permeáveis ao vapor de água e diminui a temperatura de transição vítrea, quando comparados com filmes de alginato não reticulados. Estas modificações ampliam sua utilização como materiais de embalagem e modificam o transporte de massa através da matriz, quando os filmes são incorporados a substâncias que serão liberadas, como é o caso de embalagens ativas (CAZÓN et al., 2017; BEKIN et al., 2014).

A incorporação de compostos ou misturas de compostos que atuam como antioxidantes é uma proposta de interesse, uma vez que, processos oxidativos constituem uma das principais causas de deterioração e perda de qualidade de alimentos. Embora os antioxidantes mais utilizados na indústria sejam os sintéticos, devido a sua

estabilidade, baixo custo e eficiência, preocupações de ordem toxicológica tem levado o consumidor e o setor produtivo à procura por substitutos naturais e de baixa toxicidade. Neste sentido, o uso de extratos vegetais, ricos em compostos fenólicos que apresentam atividade antioxidante é uma alternativa promissora (SIRIPATRAWAN et al, 2010; ADILAH; JAMILAH; HANANI, 2018). Dentre os extratos vegetais, vários estudos apontam que extratos de *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire, mais conhecida como mate ou erva-mate apresentam elevado teor de compostos fenólicos com conseqüente atividade antioxidante. Vários compostos fenólicos já foram identificados destacando-se ácidos fenólicos e flavonoides e ainda metilxantinas. As metilxantinas presentes na erva-mate são a teofilina, teobromina e cafeína, no grupo dos flavonoides pode-se destacar a presença de rutina, quecetina e campferol, e por último os ácidos fenólicos, que representam o maior grupo, cujos componentes principais são o ácido cafeico e seus derivados: ácido clorogênico, 3-4 ácido dicafeiolquínico, 3-5 ácido dicafeiolquínico e 4,5 ácido dicafeiolquínico (GNOATTO et al., 2007; HECK; MEJIA, 2007; ISOLABELLA et al., 2010; CARDOZO JR et al., 2007; BUTIUK et al., 2016; BIZZOTTO et al., 2012; DUGO et al., 2009; MATEOS et al., 2018).

Quando filmes bioativos são colocados em contato com o alimento, processos complexos de transferência de massa ocorrem. Uma das formas de avaliar estes processos é através do ensaio das cinéticas de liberação *in vitro* do composto ativo (WESSENLINGH, 1993). Os sistemas de liberação de compostos a partir de matrizes poliméricas resultam de relações complexas entre dissolução, processos difusivos, interações entre o meio de liberação e o polímero e mecanismos de erosão (LOPES; LOBO; COSTA, 2005). Esta complexidade nos processos de transferência de massa é potencializada quando o processo de liberação envolve extratos vegetais devido a sua diversificada composição, tornando indispensável o estudo das cinéticas de liberação.

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo a elaboração de filmes de alginato adicionados de extrato de erva-mate visando à formulação de um biofilme ativo com propriedades antioxidantes. Para tal, foram produzidos filmes com diferentes concentrações de extrato de erva-mate que foram caracterizados em termos de propriedades físico-químicas: morfologia, propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água. Além disso, foram avaliados os processos de liberação dos compostos fenólicos em quatro sistemas simulates de alimentos: água (simulante de alimentos hidrofílicos com pH > 4,5), solução de ácido acético 3 % (simulante de alimentos

hidrofilicos com $\text{pH} < 4,5$), solução aquosa de etanol 10 % (simulante de alimentos hidrofilicos com menos de 20 % de álcool) e isoctano (simulante de alimentos hidrofóbicos).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi elaborar e caracterizar biofilmes de alginato de sódio incorporados com extrato aquoso da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e avaliar processos de liberação *in vitro* dos compostos fenólicos totais do filme.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir o extrato aquoso de erva-mate;
- Determinar o teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante do extrato pelos métodos do DPPH e FRAP;
- Elaborar biofilmes com alginato de sódio por *casting*, com adição de diferentes concentrações do extrato de erva-mate;
- Definir a melhor condição para reticulação dos filmes com cloreto de cálcio;
- Caracterizar os filmes em termos de: microestrutura, propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água;
- Determinar as isotermas de sorção de umidade dos filmes a 25 °C e ajustar os dados experimentais aos modelos matemáticos de BET e de GAB;
- Determinar as curvas cinéticas de liberação dos compostos fenólicos totais *in vitro* utilizando diferentes solventes: água, ácido acético, etanol a 40 °C e a 20 °C para o isoocetano;
- Ajustar as curvas cinéticas de liberação aos modelos empíricos de Higuchi, Korsmeyer e Peppas e Shalin;
- Determinar a qualidade dos ajustes e dos parâmetros dos modelos cinéticos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

As embalagens utilizadas na maioria dos alimentos são produzidas a partir de polímeros não biodegradáveis a base de petróleo, e vem causando sérios problemas ambientais devido ao seu acúmulo e descarte inadequado. Uma alternativa para redução do impacto gerado por estes materiais no meio ambiente é a utilização dos polímeros biodegradáveis de fontes renováveis (ANDRADE-MOLINA, et al., 2013; HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008; CAMPOS, 2013).

Para Krochta e Mulder-Johnston (1997), os materiais considerados biodegradáveis, devem ser completamente degradáveis por microorganismos no processo de compostagem, conduzindo à formação de compostos mais simples, tais como, o dióxido de carbono, água, metano e biomassa. O processo de biodegradação é desencadeado por alguns fatores que favorecem a oxidação do material, tais como o calor, a luz UV, tensão mecânica, umidade e ataque de microorganismos (MALATHI; SANTHOSH; NIDONI, 2014).

Existem padrões internacionais e nacionais estabelecidos através das normas EN 13432, ASTM D6400 (2012) e ABNT 15448-2 (BRASIL, 2008) que definem a biodegradação e quais os requisitos e métodos necessários para a determinar se um material está em conformidade com os parâmetros pré-estabelecidos pelas normas. A biodegradação é um processo relativamente rápido, quando o biopolímero está sob condições apropriadas de umidade, temperatura, pH e disponibilidade de oxigênio. O processo químico pode ocorrer em condições aeróbias e anaeróbias, e o tipo da condição define os produtos finais da reação de biodegradação, que em geral tem baixo impacto ambiental (FECHINE, 2013; TSCHAN et al., 2011).

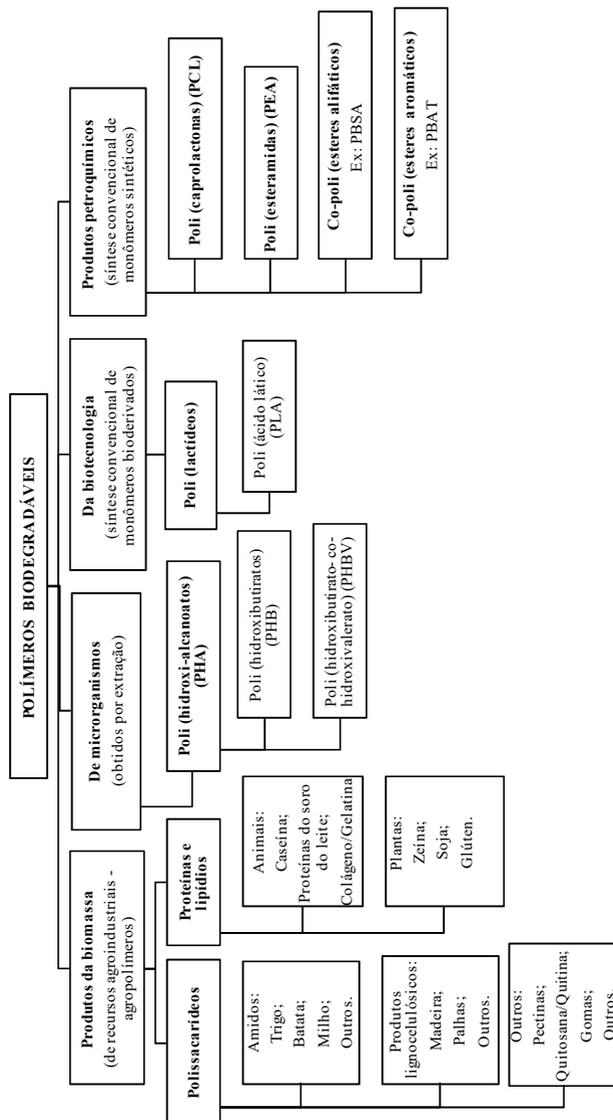
Outro aspecto importante dos polímeros se refere à origem, que os classifica em polímeros de fontes renováveis ou não renováveis. Polímeros oriundos de matérias-primas de fontes renováveis possuem um ciclo de vida mais curto, quando comparados com os obtidos a partir de fontes fósseis, como o petróleo, que leva milhares de anos para se formar. O interesse em ampliar a utilização dos biopolímeros está também relacionado a fatores ambientais e sócio-econômicos como: impactos ambientais causados pelo processo de extração e refino dos polímeros provenientes do petróleo e a escassez (BRITO et al., 2011).

Neste contexto, polímeros oriundos da biomassa têm sido propostos para formular materiais de embalagem, por aliam

biodegradabilidade e serem de fontes renováveis. Estes polímeros podem ser de natureza química diferentes podendo ser formados por um ou mais polissacarídeo, proteína e/ou lipídeos. Sendo assim, ao longo dos últimos anos, foram desenvolvidos diversos estudos utilizando polímeros de fontes renováveis, para formular embalagens, como por exemplo, formulação de filmes com amidos de diferentes fontes (VU; LUMDUBWONG, 2016), alginato (WANG; RHIM, 2015), goma guar (SAURABH et al., 2015), goma xantana (HAZIRAH; ISA; SARBON, 2016), quitosana (MELO, 2014; SHEN; KAMDEM, 2015), gelatina (HOSSEINI; JAVIDI; REZAEI, 2016), proteínas do soro do leite (QAZANFARZADEH; KADIVAR, 2016), entre outros, o que tem indicado o aspecto promissor destes materiais na formulação de filmes.

Existe uma vasta gama de polímeros disponíveis para diferentes aplicações, onde a escolha do mesmo é dependente das exigências particulares da sua aplicação. Averous e Boquillon (2004) classificaram os polímeros biodegradáveis em quatro famílias em função da forma de produção: produtos da biomassa, de micro-organismos, da biotecnologia e os produtos petroquímicos, conforme apresentado na Figura 1. Apenas os produtos petroquímicos são de fonte não renovável e completamente sintetizados por processos petroquímicos, e neste grupo estão presentes os poli(caprolactonas) (PCL), poli(esteramidas) (PEA), copoliésteresalifáticos e copoli(ésteres) aromáticos. As demais famílias são obtidas a partir de fontes renováveis (biomassa). A primeira delas é a dos produtos da biomassa ou agropolímeros, que são obtidos por fracionamento da biomassa gerando produtos como polissacarídeos (amidos, produtos lignocelulósicos, pectinas, etc.), proteínas (caseína, proteínas do soro, glúten, zeína) e lipídios. A segunda família são poli(ésteres) obtidos por fermentação a partir da biomassa ou a partir de plantas geneticamente modificadas, dentre eles, se destacam os poli(hidroxi-alcanoatos) (PHA). A terceira família pertence aos produtos da biotecnologia, que são obtidos por síntese a partir de monômeros da biomassa e posterior processo de polimerização convencional. Neste último grupo se destaca o poli(ácido láctico) (PLA), cujo monômero (lactato) é produzido por fermentação e posteriormente polimerizados por processos convencionais.

Figura 1: Classificação dos polímeros biodegradáveis.



Fonte: Avérous e Boquillon (2004).

Dentre os polímeros biodegradáveis, os da biomassa têm atraído muita atenção, devido ao menor impacto ambiental causado, balanço positivo de dióxido de carbono (CO₂), e a possibilidade de formação de um ciclo de vida fechado (BRITO et al., 2011). Estes polímeros apresentam dada sua biodegradabilidade, grande interação com a água, que atua como plastificante, o que torna as propriedades mecânicas e de barreira destes materiais altamente dependentes da umidade relativa do ambiente. Estas características fazem com que o estudo de polímeros biodegradáveis como materiais de embalagem constitua um desafio, embora apresentem grande potencial para substituição dos polímeros sintéticos em determinadas aplicações.

Em meio às aplicações deste tipo de polímeros na produção de materiais de embalagens se encontram a formação de filmes, e recobrimentos através de técnicas de extrusão, *casting* ou *coating*. Estes mecanismos de formação e as condições do processo utilizadas na produção dos filmes ou recobrimentos fornecem características e propriedades específicas que determinam sua aplicação (CAZÓN et al., 2017)

As técnicas de extrusão tem sido amplamente utilizadas na produção de filmes de polímeros de origem petroquímica e vem sendo adaptada à produção de filmes biodegradáveis. A extrusão consiste na mistura e transporte do material por meio de uma rosca sem-fim encamisada. Durante a extrusão, ocorre a fusão, homogeneização e plastificação do polímero devido ao cisalhamento e ao calor fornecido pela camisa, gerado pelo próprio cisalhamento. Uma vez fundido, o polímero, passa pela matriz, localizada na extremidade contrária à alimentação, onde o material adquire o formato de filme, pellets ou fita (SAUCEAU et al., 2011).

Outro método de formação de filmes a partir de polímeros biodegradáveis é o denominado *casting*. Este método consiste na solubilização do polímero em um solvente adequado, deposição sobre um suporte e a posterior remoção do solvente através do processo de secagem. A escolha do material do suporte é fundamental para a obtenção dos filmes e visa a sua fácil remoção, evitando que ocorra rasgamento e/ou deformações que comprometam o desempenho do mesmo (THARANATHAN, 2003). Outra propriedade que deve ser levada em consideração na produção de filmes por *casting* é a solubilidade do polímero e dos aditivos para permitir a seleção adequada do solvente na formação da solução filmogênica (HAN, 2005). Uma vez que, o polímero é solubilizado e espalhado no suporte, segue o processo de remoção do solvente através do processo de secagem formando uma

rede tridimensional, que da origem ao filme. As condições da secagem devem ser cuidadosamente controladas, pois influenciam na espessura final, no grau de plastificação e nas características estruturais (SKURTYYS et al., 2010).

Um revestimento ou película comestível pode ser definido como embalagem primária feita a partir de componentes comestíveis. O método de recobrimento ou *coating* baseia-se na formação de uma película fina e comestível, que é aplicada diretamente na superfície do alimento (GALUS; KADZINSKA, 2015). Existem três maneiras de aplicação do *coating*: o método por asperção (*spraying*) utilizado em soluções de revestimento de baixa viscosidade; o método por imersão que pode formar uma camada espessa do filme e é bastante utilizado em frutas, vegetais e produtos cárneos; e por espalhamento da solução de formação da película (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016).

Independente do método utilizado na formação de filmes e revestimentos o mesmo deve garantir a formação de películas uniformes e homogêneas de modo a otimizar suas funcionalidades como material de embalagem (SKURTYYS et al., 2010). Em muitos casos é necessária a adição de um plastificante, que tem como função reduzir as forças de atração das ligações entre as moléculas do polímero, tornando o filme mais flexível, em sistemas de baixa umidade. Os plastificantes mais utilizados são o glicerol e o sorbitol, como também a umidade, e foram material de estudo de diversos pesquisadores que, avaliaram a influência do teor de plastificante nas propriedades de barreira e mecânicas de filmes biodegradáveis (COUPLAND et al., 2000; SUPPAKUL et al., 2013; MALI et al., 2005; MÜLLER; YAMASHITA; LAURINDO, 2008).

Por outro lado, a qualidade e a utilização de embalagens em alimentos estão relacionadas às suas propriedades mecânicas (resistência à tração, alongação na ruptura e o módulo elástico), de barreira (transferência de oxigênio, de vapor de água, dióxido de carbono e compostos do aroma), ópticas e a resistência química (propriedades ácido/básica dos produtos). Os biopolímeros satisfazem as preocupações ambientais, porém, em sua maioria mostram algumas limitações em termo de desempenho, no que se refere às propriedades mecânicas e de barreira, uma vez que, em muitos casos estes materiais são afetados pelas condições de estocagem, principalmente no que se refere à umidade e temperatura. O desempenho mecânico e as propriedades de barreira dos filmes determinam o comportamento do biopolímero, sua funcionalidade e aplicações (SIRACUSA et al., 2008).

Embora a utilização de biopolímeros para embalar alimentos represente uma estratégia de redução do volume de resíduos gerados pela indústria de alimentos e pelo consumidor, ainda constitui um desafio à sua aplicação.

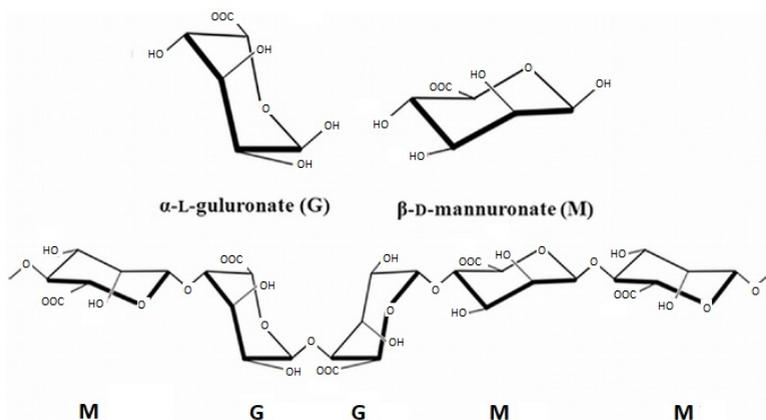
3.1.1 Alginato

Dentre os polímeros oriundos da biomassa encontra-se o alginato, que é um polissacarídeo aniônico amplamente utilizado na indústria de alimentos e farmacêutica como aditivo, que é extraído principalmente de algas, porém, também pode ser produzido por via fermentativa. As espécies de algas marinhas marrons (*Phaeophyta*) são responsáveis pela produção industrial dos alginatos. O alginato constitui um componente estrutural da parede celular e nos espaços intracelulares destas algas, promovendo rigidez e ao mesmo tempo flexibilidade à parede, e correspondem a cerca de 40% da matéria seca destes organismos (GARCIA-CRUZ; FOGGETT; SILVA, 2008). O alginato é também produzido pelas bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Azotobacter*, cuja biossíntese ocorre no complexo multiproteico, que está envolvido nas etapas de polimerização, translocação/modificação. A produção de alginato por bactérias ainda não acontece em escala comercial, porém, é uma alternativa que irá permitir uma exploração controlada de suas fontes naturais e a obtenção de materiais com características uniformes no que se refere a conformação e massa molar. (MÜLLER; SANTOS; BRIGIDO, 2011).

Os alginatos comerciais são extraídos principalmente de três espécies de algas marinhas marrons: *Laminaria Hyperborea*, *Ascophyllum nodosum*, e *Macrocystis pyrifera*. Outras fontes incluem *Laminaria japonica*, *Eclonia maxima*, *Lesonia negrescens* e *Sargassum* sp. (SMIDSRØD; SKJÅK-BRÆK, 1990). A biossíntese do alginato envolve a oxidação de uma fonte de carbono para acetil-CoA, que entra no ciclo dos ácidos tricarboxílicos, onde é convertido em frutose-6-fosfato via gluconeogênese. A frutose-6-fosfato, passa por uma série de transformações de biossíntese para ser finalmente convertida em ácido GDP-manurônico, que atua como um precursor para a síntese de alginato. Em geral, a biossíntese pode ser dividida em quatro fases: (1) síntese do precursor, o ácido GDP-manurônico; (2) transferência da membrana citoplasmática e polimerização de ácido polimanurônico; (3) transferência e modificação do periplasmático; e (4) a exportação através da membrana externa (FRANKLIN, 2004).

O alginato é um polissacarídeo formado por cadeias lineares de resíduos de ácido β -D-manurônico (M) unidos por ligações tipo (1 \rightarrow 4) ao ácido α -L-gulurônico (G), em várias proporções. Estes resíduos estão arranjados na forma de blocos de ácidos manurônico (M) ou gulurônico (G), que podem ser compostos por blocos de homopolímeros (GG e MM) junto com blocos alternados (MG) na mesma molécula, conforme Figura 2 (DRAGET; SKJÅK-BRÆK; SMIDSRØD, 1994). A proporção e como estes blocos são distribuídos na cadeia polimérica, dependem de fatores associados ao processo fermentativo (quando o alginato é obtido por este método), de fatores intrínsecos de crescimento das algas e de processos utilizados na purificação (ZHANG et al., 2015).

Figura 2. Estrutura química do alginato: ácido α -L-gulurônico (G) e ácido β -D-manurônico (M).



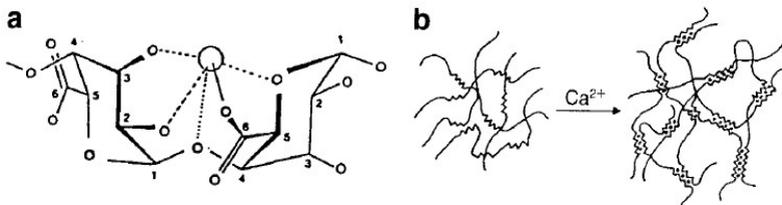
Fonte: Adaptado de Juárez et al. (2014).

Do ponto de vista tecnológico, umas das propriedades mais importantes do alginato é a sua capacidade de formar géis, através de dois mecanismos: geleificação ácida ou iônica. Ambos os processos de formação do gel são influenciados pela distribuição e o comprimento dos blocos, além do o número de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas e a presença de íons. A geleificação ácida ocorre pela redução do pH do meio onde o alginato se encontra solubilizado até atingir o pK_a que varia entre 3,20 e 3,38 (MARTINSEN; STORRØ; SKJÅRK-BRÆK, 1992; ZHANG et al., 2015). A geleificação iônica é a mais estudada principalmente para a produção de partículas ou filmes a partir de soluções de alginato. Neste processo, ocorre a formação de géis

irreversíveis através da interação de uma molécula de ácido gulurônico de uma molécula de alginato com outro ácido gulurônico de outra molécula de alginato através da interação cadeia-íon-cadeia (IMESON, 2010).

Smidsørd et al. (1968) descreveram a afinidade do alginato para cátions bivalentes alcalinos na seguinte ordem $Mg^{2+} \ll Ca^{2+} < Sr^{2+} < Ba^{2+}$. Estes autores observaram que a seletividade do alginato pelos íons aumenta à medida que o conteúdo de resíduos do ácido α -L-gulurônicos na cadeia aumenta e independe da quantidade de blocos poli-manurônicos. O comprimento dos blocos G é, por conseguinte, a principal característica estrutural que contribui para a formação de gel. Estas ligações seletivas do alginato com cátions explicam sua capacidade de formar géis ionotrópicos, devido à interação iônica de cátions bivalentes dos blocos de ácido gulurônico, resultando assim, na formação de uma rede tridimensional conhecida como “caixa de ovos” (Figura 3) (SMIDSRØD e SKJÅK-BRÆK, 1990).

Figura 3. (a) Ligação do Ca^{2+} (círculo maior) com o α -L-gulurônico-(1-4)- α -L-gulurônico; (b) Formação do gel de alginato – modelo “caixa de ovos”, as linhas curvadas representam as partes dos blocos G diaxialmente ligadas.



Fonte: Adaptado de Smidsrød e Skjåk-Bræk (1990).

O alginato é comumente utilizado pelas indústrias farmacêuticas, química e de alimentos, e é aplicado comercialmente principalmente forma de sais, nos quais os íons determinam sua solubilidade em água. Assim, os sais de alginato formados por íons monovalentes (sódio, potássio, amônio) são solúveis em água e se tornam insolúveis quando o sal é formado por íons bivalentes (cálcio, magnésio, cromo) (ZACTITI, 2004).

3.1.2 Filmes biodegradáveis de alginato

Filmes a base de alginato tem sido objeto de estudos em diversas pesquisas, em razão de suas propriedades específicas. Na literatura

encontram-se vários trabalhos com o desenvolvimento de filmes biodegradáveis e que relatam diferenças nas propriedades dos mesmos em função da variação da composição, método de preparação e as condições de secagem (SIRVIÖ et al., 2014).

As soluções de alginato de sódio são altamente viscosas e a força do gel depende do conteúdo de blocos G, no alginato usado e da concentração de íons cálcio (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). O processo de reticulação rápida do alginato na presença de íons de cálcio tem sido utilizado para melhorar as propriedades de barreira à água, resistência mecânica, a coesão e a rigidez de filmes (CAZÓN et al., 2017).

Bekin et al. (2014), investigaram o efeito da reticulação do alginato de sódio com íons de Ca^{2+} sobre as propriedades dielétricas, térmicas e de expansão de filmes. Os autores produziram filmes por *casting* com concentrações de 1 e 2 % (m/v) de alginato reticulados ou não. Para a incorporação do Ca^{2+} utilizaram uma solução de $4,6 \text{ g.L}^{-1}$ de CaCl_2 , que foi adicionado à solução filmogênica contendo o alginato solubilizado de modo que ocorresse 40 % de reticulação. Segundo os autores, os filmes reticulados apresentaram um aumento na espessura e na opacidade quando comparados aos filmes sem reticulação e todos os filmes apresentaram boa flexibilidade. Os padrões de difração de raios-X mostraram que os filmes apenas com alginato apresentaram estrutura predominantemente amorfa, porém, a reticulação iônica do alginato de sódio levou a um aumento da cristalinidade. As curvas termogravimétricas dos filmes reticulados e sem reticulação apresentaram as mesmas características de decomposição, sem diferenças significativas. Os autores atribuíram esse comportamento a não completa reticulação dos grupos carboxilatos do alginato e, portanto, não houve mudanças significativas no processo de degradação térmica. Os filmes reticulados foram analisados quanto ao grau de intumescimento por imersão em água ou em solução de NaCl ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) e observaram que houve 50 e 8 % de solubilização, respectivamente. Além disso, os autores verificaram que os valores do intumescimento de equilíbrio dos filmes diminuíram de 375 para 104 g de água/g de polímero quando imersos em solução salina.

Jost et al. (2014), avaliaram as propriedades de barreira dos filmes de alginato de sódio (7,5 % m/v) preparados pelo método de *casting*, com diferentes proporções de glicerol (20, 25, 30 e 40 %) ou sorbitol (30, 40, 45, 50 %), adicionados com relação a massa de alginato. Os autores avaliaram a umidade de equilíbrio, permeabilidade ao oxigênio (23 °C e 50 % UR), taxa de transmissão do vapor de água.

Segundo os dados apresentados pelos autores, o teor de umidade de equilíbrio diminuiu com a adição de ambos os plastificantes, atribuíram esse resultado ao caráter hidrofílico do polímero e dos plastificantes, relatando que os plastificantes são menos hidrofílicos que o alginato. A permeabilidade ao oxigênio aumentou com o aumento da concentração do glicerol, porém, a adição de sorbitol não teve nenhuma influência sobre os resultados da permeabilidade ao oxigênio. Os resultados da taxa de transmissão do vapor de água tiveram a mesma tendência da permeabilidade ao oxigênio.

Gao, Pollet e Avérous (2017) elaboraram filmes com 35 % alginato (m/v) em água, plastificados com diferentes concentrações de glicerol (0, 20, 30, 40 e 50 % m/v) e preparados pelo método de mistura termomecânica. Os filmes foram avaliados em termos de microestrutura por microscopia eletrônica de varredura (MEV), propriedades termogravimétricas e propriedades mecânicas. Segundo os autores os filmes apresentaram aparência homogênea, transparentes com um tom amarelado e flexíveis. Os filmes com teores de glicerol superiores a 30 % (m/v) tornaram a superfície dos filmes mais pegajosa que foi associado à migração do glicerol para a superfície e consequente excesso de plastificação, o que foi corroborado pelas microscopias onde observaram separação de fases. No que se refere à microestrutura, foi relatado que os filmes de alginato não plastificados apresentaram superfície rugosa diferentemente dos filmes plastificados, em que observaram uma superfície mais lisa e homogênea. Quanto às propriedades mecânicas dos filmes, os autores observaram três diferentes comportamentos: (i) os filmes sem plastificante apresentaram elevado módulo de elasticidade e reduzida elongação caracterizando ser um material frágil; (ii) os filmes com 10 e 20 % de glicerol apresentaram deformação plástica aparente característica de polímeros fundidos; (iii) os filmes com teor de glicerol acima de 30 % exibiram deformação limitada e módulos muito baixos.

3.2 BIOFILMES ATIVOS

Tradicionalmente, os materiais de embalagens são escolhidos no sentido de ter a mínima interação com o alimento, porém, este aspecto tem mudado nos últimos anos com a introdução de substâncias nos sistemas das embalagens, que possuem interações desejáveis sobre os alimentos (ROONEY, 1995). Neste sentido, além da função de barreira a gases ou água e de proteção mecânica os filmes aplicados em alimentos, podem atuar sobre outras propriedades no sentido de retardar

processos de deterioração e ampliar a vida útil do produto. Quando o material de embalagem cumpre estas funções é chamado de embalagem ativa. As embalagens ativas são projetadas para agir sobre uma determinada propriedade do alimento que limita a qualidade ou vida útil do mesmo (HAN, 2005). Algumas técnicas para produção de embalagens ativas são bem estabelecidas e encontram aplicação em produtos disponíveis no mercado. A seguir, serão abordados temas que referenciam os biofilmes ativos antimicrobianos e antioxidantes e suas aplicações em alimentos, que tem sido apontado como os mais promissores no desenvolvimento de embalagens ativas.

3.2.1 Biofilme antimicrobiano

A embalagem ativa antimicrobiana contém substâncias que incorporadas e/ou imobilizadas no material da embalagem apresentam capacidade de eliminar ou inibir o crescimento de micro-organismos deteriorantes e/ou patogênicos. O princípio básico de ação deste tipo de embalagem ativa é a incorporação de uma barreira microbiológica às barreiras físicas (gases e/ou umidade) (HAN, 2003).

Um das principais causas da deterioração de alimentos é o crescimento microbiano na superfície o que reduz a vida útil e aumenta o risco de doenças transmitidas por alimentos. Os métodos tradicionais de conservação de alimentos, que visam a inibição e/ou redução de crescimento microbiano, incluem o processamento térmico, secagem, congelamento, refrigeração, irradiação ionizante, uso de embalagens com atmosfera modificada e a adição de agentes antimicrobianos (ácidos orgânicos, bacteriocidas, enzimas, álcoois e ácidos graxos). Porém, algumas destas técnicas não podem ser aplicadas em determinados produtos alimentares, tais como carne fresca e produtos prontos para consumo (QUINTAVALLA; VICINI, 2002).

Possíveis aplicações de filmes antimicrobianos foram apresentadas por Appendini e Hotchkiss (2002). Segundo os autores a primeira estratégia é prolongar a vida útil de produtos, reduzindo as taxas de crescimento de micro-organismos por contato direto da embalagem com a superfície dos alimentos. A segunda estratégia se refere às embalagens antimicrobianas que apresentam capacidade de atuar como autoesterilizantes, eliminando a necessidade de tratamentos tradicionalmente aplicados em embalagens assépticas.

Neste sentido, vários estudos têm sido realizados para avaliação do potencial antimicrobiano de algumas substâncias em embalagens biodegradáveis utilizando diferentes polímeros e mostram sua eficiência

e aplicabilidade das embalagens ativas antimicrobianas (BONILLA et al., 2014; WU et al., 2016; WORAPRAYOTE et al., 2017; ALBERTOS et al., 2017; MARQUES et al., 2017; WU et al., 2014; ESPITIA et al., 2014; ALDANA et al., 2015; SONG; ZUO; CHEN, 2018; CORREA et al., 2017).

Alguns autores que trabalharam com filmes a base de alginato têm avaliado a atuação destes como materiais de embalagens ativas para inibição de crescimento microbiano e relatam o potencial de uso dos mesmos em diferentes alimentos.

Pranoto, Salokhe e Rakshit (2005) elaboraram filmes comestíveis de alginato incorporando óleo de alho comercial para avaliar suas propriedades antimicrobianas frente às bactérias patogênicas alimentares: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*. O óleo de alho foi diluído na concentração de 10 % em etanol e adicionado na solução filmogênica comestível nas proporções de 0 (controle), 0,1 %, 0,2 %, 0,3 % e 0,4 % (v/v). Estes autores verificaram que todos os filmes apresentaram redução nas contagens microbianas quando comparadas com os respectivos grupos controle. Os filmes com concentrações maiores ou iguais a 0,2 % de óleo de alho apresentaram efeito significativo na inibição das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*. Foi observado um maior efeito inibitório nestas bactérias quando comparadas com a *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*.

Filmes a base de alginato e policaprolactona (PCL), plastificados com glicerol, foram adicionados de 1 % (m/v) de óleos essenciais de orégano (*Corydothymus capitatus*), canela (*Cinnamomum cassia*) ou segurelha (*Satureja montana*) e reticulados com CaCl_2 foram aplicados em cortes de carnes bovina com a finalidade de avaliar sua capacidade antimicrobiana. Assim, os cortes de carne foram inoculados com as bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium* (10^3 UFC/cm³ de carne) e posteriormente, avaliaram o efeito da adição dos óleos essenciais nos filmes sob o crescimento bacteriano durante o armazenamento por 5 dias a 4 °C. Em todos os filmes contendo óleo essencial foi observada redução das contagens microbianas (UFC/cm³) de *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium* apresentando maior redução no quinto dia de armazenamento. Os filmes com 2 % de CaCl_2 apresentaram maior atividade antimicrobiana que as formulações com 20 % de CaCl_2 . Dentre os óleos essenciais, o de orégano apresentou a maior capacidade de inibição frente as bactérias após os 5 dias de armazenamento (OUSSALAH et al., 2006).

Kanmani e Rhim (2014) testaram as propriedades antimicrobianas de filmes à base de ágar, com concentrações de extrato da semente de toranja comercial variando entre 0 (controle) até 13,3 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. A atividade antimicrobiana dos filmes foi testada usando o método de difusão em disco empregando as bactérias *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*. Os resultados demonstraram que quanto maior a dosagem do extrato maior a inibição das bactérias *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus* e que a inibição de crescimento máxima ocorreu quando foi utilizada na dosagem de 13,3 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de extrato da semente de toranja. No entanto, o extrato teve maior ação sobre a bactéria *L. monocytogenes* que são gram-positivas, mostrando que é mais susceptível à inibição, que a bactéria gram-negativa *E. coli*.

Bonilla e Sobral (2016) estudaram as propriedades antimicrobianas de filmes a base de gelatina e quitosana com adição de extratos etanólicos de sementes de guaraná (*Paullinia cupana*), folhas de boldo-do-chile (*Peumus boldus Molina*), cascas de canela (*Cinnamomum sp.*) ou folhas de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). Os filmes foram preparados com concentrações diferentes de polímeros e os extratos foram preparados na proporção de pó e etanol 1:8 (m/v) e adicionados na concentração de 1 % (v/v) em relação à solução filmogênica. Para avaliar a atividade microbiana dos filmes frente às bactérias gram-negativa (*Escherichia coli*) e gram-positiva (*Staphylococcus aureus*) foi utilizado o método de difusão em disco, onde o etanol absoluto e o antibiótico cloranfenicol foram utilizados como controles. A formulação contendo 50 % de gelatina e 50 % de quitosana obteve a melhor resposta de inibição do crescimento da *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e por isso, esta formulação foi selecionada para a determinação da atividade antimicrobiana com os extratos. Os filmes incorporados dos extratos tiveram a atividade antimicrobiana aumentada, sendo que a maior inibição do desenvolvimento do *Staphylococcus aureus* foi observada no filme com extrato de canela, para *Escherichia coli* o maior efeito inibitório ocorreu na presença do filme com extrato de guaraná.

3.2.2 Biofilme antioxidante

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e previsível, que compromete o valor nutricional e comercial dos ácidos graxos e dos produtos que os contém. Este fenômeno nos gêneros alimentícios resulta no desenvolvimento de sabor e aromas desagradáveis, típicos do

processo da rancidez, o que torna o produto inaceitável para consumo humano. Os produtos alimentícios processados sofrem alterações na sua estrutura, que podem tornar os lipídios mais expostos ao oxigênio, tornando-os mais susceptíveis a oxidação, limitando assim, a sua vida útil. No sentido de garantir a qualidade dos alimentos, foram desenvolvidos métodos que limitam a oxidação durante as fases do processamento e armazenamento dos produtos. Por exemplo, a escolha de processos que limitam as operações na presença de O₂ e o tratamento térmico, utilização de matérias-primas refinadas, baixo teores de água, armazenamento a baixas temperaturas e em atmosfera inerte, e adição de compostos antioxidantes. (MADSEN; BERTELSEN, 1995; SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

As embalagens ativas antioxidantes apresentam uma alternativa para aplicação comercial, porém, é necessário que o agente antioxidante satisfaça os critérios de difusividade para o alimento e garanta o retardamento do processo de oxidação. Soares et al. (2009), indicaram alguns antioxidantes naturais que podem ser utilizados em embalagens para alimentos, nestes estão inclusos os ácidos fenólicos, os ácidos orgânicos, os extrato de plantas e as poliaminas. Os autores enfatizam que as substâncias naturais têm elevado custo e o desenvolvimento de novas embalagens ativas empregando quantidades mínimas destes compostos é desejável para aplicações práticas.

Existem basicamente dois métodos para produção de sistemas de embalagens ativas antioxidantes: o uso de dispositivos independentes da embalagem e materiais antioxidantes incorporados à embalagem. No primeiro caso o agente antioxidante é adicionado em sachês ou no próprio rótulo e pode ser utilizado em embalagens convencionais passivas. No segundo método o agente ativo é incorporado no polímero que constitui a embalagem e exerce sua ação através da absorção de compostos indesejáveis no *headspace* ou por liberação gradual dos compostos antioxidantes diretamente para o alimento (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014).

Os antioxidantes são geralmente adicionados aos alimentos para evitar as reações em cadeia dos radicais de oxidação, e podem atuar por diferentes mecanismos de ação, dos quais incluem: (i) o controle de radicais livres, que inibem a oxidação de lipídios reagindo mais rapidamente com os radicais livres, e conseqüentemente retardando as etapas de iniciação, propagação e reações de β -clivagem; (ii) o controle de pró-oxidantes, tais como os íons metálicos de transição de ferro e cobre que podem ser quelados ou complexados pela ação de um antioxidante, com o ataque as duplas ligações do oxigênio singlete

bloqueando sua atividade e inativação térmica das lipoxigenases; (iii) o controle de intermediários da oxidação onde os ânions superóxidos e peróxidos têm sua atividade oxidante reduzida pela ação de enzimas (GÜLÇİN, 2006; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Neste contexto, a adição de compostos antioxidantes em embalagens pode ser uma prática eficiente e tem sido interesse de vários pesquisadores, tanto na procura de novos compostos antioxidantes, como formas para aplicação destes em embalagens.

López-de-Dicastillo et al. (2012), desenvolveram filmes pelo método de *casting* utilizando copolímero de etileno e álcool vinílico (EVOH) contendo 5% de ácido ascórbico, ácido ferúlico, quercetina ou extrato de chá verde e verificaram a estabilidade lipídica da sardinha submetida a salga. Os compostos antioxidantes foram quantificados no filme após o seu preparo, pelos métodos de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e por espectroscopia na região do UV-visível e comparados entre eles. Apenas o filme contendo ácido ferúlico apresenta diferença significativa entre os métodos de quantificação. Os valores da atividade antioxidante para ácido ascórbico, quercetina e extrato de chá verde foram ligeiramente abaixo dos 5%, porém, o ácido ferúlico obteve valores próximos a 3%. A evolução da oxidação foi medida com o índice de peróxido e de malondialdeído nas amostras controle que tiveram picos de máxima em 5 e 3 dias, respectivamente. Os filmes com extrato de chá verde tiveram a melhor resposta, com uma atividade antioxidante eficiente nas etapas iniciais o que impediu a acumulação tanto do peróxido como do malondialdeído.

Calatayud et al. (2013), elaboraram filmes ativos utilizando copolímero de etileno e álcool vinílico com um teor de etileno de 29 % molar (EVOH) como base, e extrato de cacau como antioxidante, produzidos pelo método de *casting*. O extrato de cacau foi incorporado em diferentes concentrações: 7,5 %, 10 %, 15 %, e 20 % (m/m com relação à massa do polímero). A cinética de liberação do agente antioxidante contido nos filmes foi determinada com os filmes contendo 10, 15 e 20 % de extrato de cacau, em meio aquoso nas temperaturas de 4 e 40 °C. Os filmes contendo 20 % de extrato obtiveram os maiores valores de liberação, uma vez que, a liberação do extrato ter sido proporcional à concentração de agente antioxidante incorporado nos filmes. A liberação dos extratos de cacau dos filmes em água nas temperaturas de 4 e 40 °C equilibraram com valores correspondentes a 70 e 100 %, respectivamente, a liberação completa do extrato ocorreu a temperatura próxima a 37 °C.

Outros autores que avaliaram o uso de filmes com adição de diferentes extratos vegetais ressaltam o potencial deste tipo de embalagem ativa na inibição de processos oxidativos: o extrato da semente de manga (5 % m/v), incorporados a filmes a base proteína isolada de soja apresentou elevada ação antioxidante, determinada pelos métodos de sequestro de radicais livres do DPPH e ABTS e pelo método de redução dos íons Fe^{3+} o FRAP (ADILAH, JAMILAH E HANANI, 2018). Singh, Gaikwad e Lee (2018), avaliaram a atividade antioxidante de pelo método do DPPH de filmes elaborados com álcool polivinílico (PVA) e nanocristais de celulose e extrato das folhas de manjerição como agente antioxidante, os filmes com 20 % de extrato apresentaram a maior inibição dos radicais livres. López et al. (2017), encontraram ação sinérgica entre os filmes contendo gelatina de salmão e boldina, e observaram uma redução de 80 % da atividade oxidante, avaliada pelo método do DPPH. Piñeros-Hernandez et al. (2017), avaliaram a atividade antioxidante de filmes de amido de mandioca com extrato de alecrim, e observaram que a atividade antioxidante aumentou proporcionalmente à quantidade de extrato incorporado nos filmes. Outros ensaios de atividade antioxidante em filmes ativos biodegradáveis aplicados a produtos alimentícios, também reforçam a ação antioxidante dos extratos vegetais, como por exemplo, o estudo realizado por Akcan, Estevez e Serdaroglu (2017), que aumentaram a estabilidade oxidativa de almôndegas, recobertas com filmes de proteína de soro de leite adicionados dos extratos de vegetais de louro e sálvia.

3.3 ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire)

A *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire chamada de erva-mate é uma planta autótona de América do Sul onde é explorada a partir de extrativismo ou cultivo na Argentina, Uruguai, Brasil e Paraguai. As partes aéreas da planta são usadas para preparar infusões com água fria ou quente, denominadas tererê e mate ou chimarrão, respectivamente. A *I. paraguariensis* também é utilizada na medicina popular e sua atividade biológica foi confirmada em diversas pesquisas, entre elas pode-se citar, efeito antioxidante (GUGLIUCCI; MENINI, 2002), quimioprotetor celular (FILIP et al., 2007), efeito digestivo (GORZALCZANY et al., 2001), efeito hipocolesterolêmico (STEIN et al., 2005), efeito antidiabetes (LUNCEFORD; GUGLIUCCI, 2005), antiobesidade (ANDERSEN; FOGH 2001), entre outros. Algumas espécies afins do gênero *Ilex* do mesmo habitat são usados como substitutos ou adulterantes de *I. Paraguariensis*, incluindo *I. Theezans*

C. Martis ex Reisseck; I. Dumosa Reisseck var dumosa; I. Argentina Lillo; I. Brevicuspis Reisseck; e I. Pseudobuxus Reisseck (FILIP et al., 2000).

A erva-mate apresenta uma composição complexa do ponto de vista químico, fazendo parte de sua composição minerais, vitaminas, ácidos orgânicos e metabólitos secundários como alcaloides, esteroides, triterpenos, compostos fenólicos e entre outros. Esta composição varia em função de fatores intrínsecos da planta e das condições de cultivo, além, das etapas e condições de processamento e são responsáveis pelas propriedades terapêuticas atribuídas à erva-mate e seus extratos (ISOLABELLA et al., 2010; JACQUES et al., 2007; VALERGA; RETA; LANARI, 2012).

Algumas das propriedades terapêuticas da erva-mate são atribuídas à presença de antioxidantes polifenólicos principalmente do ácido clorogênico e seus derivados (3,4 dicafeiolquínico, 3,5 dicafeiolquínico e 4,5 dicafeiolquínico) e ácido caféico, além dos flavonóides (rutina, quercetina e campferol) (HECK; SCHMALKO; MEJIA, 2008). Além de suas funções fisiológicas, a erva-mate também apresenta propriedades tecnológicas associadas à sua capacidade de inibir a oxidação lipídica por ação dos derivados do ácido caféico que atuam como sequestrantes de radicais peroxil antes do início da oxidação lipídica (FILIP et al., 2000). Outras substâncias como as saponinas triterpênicas, derivadas dos ácidos ursólico e oleanólico foram identificadas na planta da *Ilex paraguariensis* (FERREIRA et al., 1997).

Além destes compostos, a erva-mate apresenta teores significativos de minerais conforme relatado por Marcelo et al. (2014) que analisaram a composição mineral de 54 amostras comerciais de erva-mate e reportam valores médios relevantes de cálcio (6825 µg/g), magnésio (4591 µg/g) e potássio (3409 µg/g). Os resultados da análise de microminerais revelaram que os elementos que tiveram a maior expressividade foram o manganês e o ferro, que obtiveram valores de 1078 µg/g e 205 µg/g, respectivamente.

Essa complexidade em termos de composição da erva-mate faz com que seu consumo esteja associado a alguns benefícios à saúde entre os que se destacam: antiobesidade, atuação sobre o índice glicêmico, efeito antiinflamatório, restauração da sinalização hepática à insulina, redução de risco de doenças cardiovasculares, atividade antioxidante, entre outras (KANG et al., 2012; YU et al., 2015; BOAVENTURA et al., 2015; LUZ et al., 2016; LIMA et al., 2014).

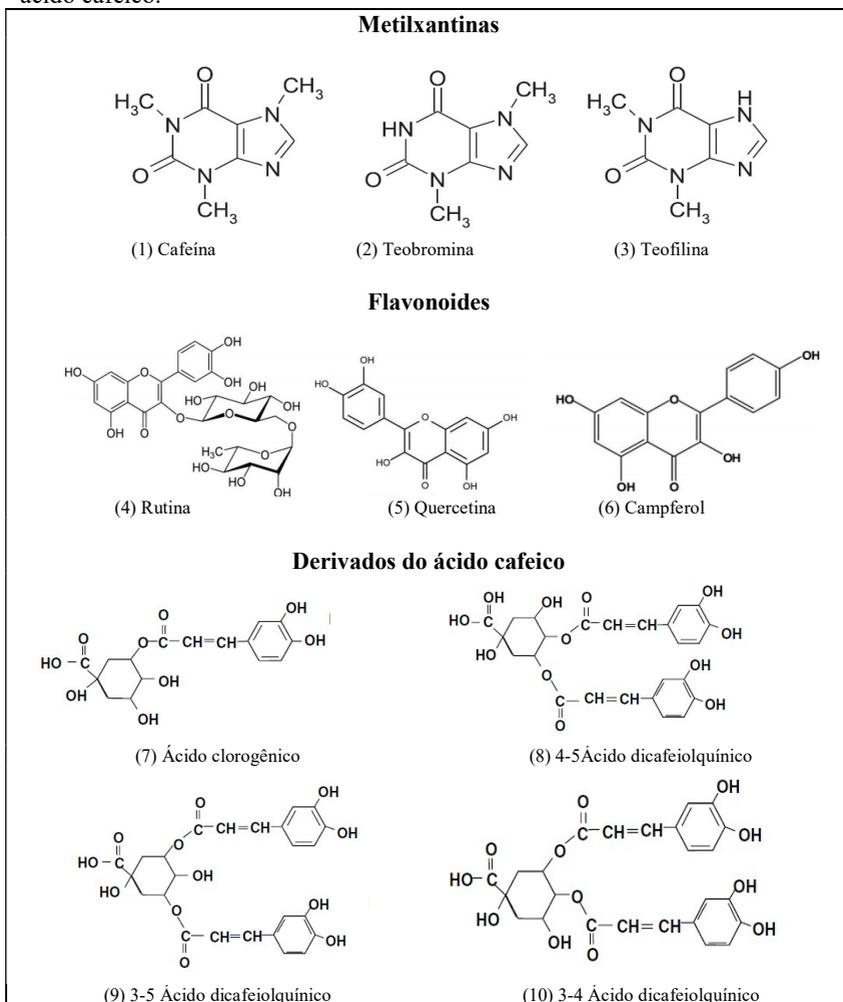
3.3.1 Compostos fenólicos na erva-mate

Os metabólitos secundários são um grupo de compostos presentes em muitos alimentos de origem vegetal e são gerados como mecanismos de defesa da planta. Muitos destes compostos possuem ação pesticida, resistência ao ataque de insetos, resistência a outras ervas, resistência a nematoides, inibidores de enzimas, ação fungicida, bactericida, entre outros (BENNETT; WALLSGROVE, 1994; MCGARVEY; CROTEAU, 1995; ARRUDA et al., 2005). São classificados em três grandes grupos: classe dos alcalóides, classe dos terpenos e classe dos compostos fenólicos. Neste último estão os taninos, flavonóides e os ácidos fenólicos (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001).

Os compostos fenólicos constituem o segundo maior grupo dos metabólitos secundários, com mais de 10.000 compostos solúveis e insolúveis dispersos nas diversas frações vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2006). Estes compostos podem estar acumulados nos vacúolos centrais das células guarda, nas células da epiderme das folhas, ou ainda dispersos nos rizomas. Os fatores quantitativos relacionados com a síntese destes metabólitos são atribuídos aos fatores genéticos, morfogenéticos e ontogenéticos da planta, como também, as variáveis ambientais bióticas (ataque de agentes biológicos como, fungos, vírus, bactérias e nematóides) e abióticas (estresse hídrico, de temperatura, de radiação, salino, químico e variações sazonais) (VERMA; SHUKLA, 2015; ACHAKZAI et al., 2009; HUTZLER et al., 1998; SIMÓN et al., 1992).

A erva-mate possui em seus constiuintes altas concentrações de compostos fenólicos, principalmente ácidos fenólicos e flavonóides e ainda metilxantinas (BRAVO; GOYA; LECUMBERRI, 2007). As metilxantinas presentes na erva-mate são a teofilina, teobromina e cafeína, no grupo dos flavonoides pode-se destacar a presença de rutina, quercetina e campferol, por último os ácidos fenólicos representam o maior grupo com a presença principalmente do ácido cafeico e seus derivados: ácido clorogênico, 3-4 ácido dicafeiolquínico, 3-5 ácido dicafeiolquínico e 4,5 ácido dicafeiolquínico, (GNOATTO et al., 2007; HECK; MEJIA, 2007; ISOLABELLA et al., 2010; CARDOZO JR et al., 2007; BUTIUK et al., 2016; BIZZOTTO et al., 2012; DUGO et al., 2009; MATEOS et al., 2018), as estruturas químicas destes compostos são apresentadas na Figura 4.

Figura 4. Estrutura química das metilxantinas, flavonoides e derivados do ácido cafeico.



Fonte: Adaptado de Gnoatto et al. (2007); Heck e Mejia (2007); Ashokkumar, Selvaraj e Devi (2013).

Muitos trabalhos foram publicados para identificação e quantificação dos compostos fenólicos da erva-mate, tanto em folhas verdes, talos, produtos comerciais e extratos. Segundo Schubert et al. (2006) existe uma grande diversidade nas metodologias utilizadas na extração e determinação desses compostos e além das decorrentes das

condições de cultivo da planta como época de coleta, local e idade da planta. Estas variabilidades metodológicas e intrínsecas da planta e/ou seu cultivo dificultam a comparação de resultados encontrados na literatura em termos de composição da erva-mate.

Isolabella et al. (2010) avaliaram o efeito das etapas de processamento da erva-mate sobre o perfil de compostos bioativos. Foram preparados extratos aquosos de erva-mate utilizando 5 % de folhas (m/v) e a composição fenólica foi analisada utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Os compostos bioativos foram determinados nas folhas verdes apenas colhidas, após o sapeco, nas folhas secas, nas folhas submetidas ao envelhecimento forçado (60 ± 5 °C, 40 ± 10 % de umidade, por 60 dias) e nas folhas submetidas ao envelhecimento natural (armazenadas por 12 meses em armazém). O perfil cromatográfico de todas as amostras foi semelhante. Os isômeros do ácido isoclorogênico tiveram uma relação de concentração constante em todas as etapas: o 4,5 DCQ > 3,5 DCQ > 3,4 DCQ. O ácido clorogênico e o 4,5 DCQ foram os componentes mais abundantes, o ácido caféico teve a concentração mais baixa e constante em todas as amostras analisadas. As folhas verdes apresentaram uma menor concentração de ácido clorogênico e de isômeros do ácido isoclorogênico quando comparadas as demais amostras. No que se referem às metilxantinas, os autores observaram um aumento do conteúdo da cafeína e teobromina nas folhas torradas em comparação as folhas verdes. A concentração de rutina aumentou até a etapa de secagem e se manteve constante nas fases de envelhecimento. Comportamento similar ao da rutina foi observado no teor total dos derivados caféicos.

Butiuk et al. (2016), estudaram o efeito da fração da planta, da etapa do processamento e da época de colheita da erva-mate na quantificação do ácido clorogênico por HPLC. Neste estudo, ramos da erva-mate frescos foram fornecidos por duas plantas de processamento (planta A e planta B) localizadas nas cidades de Apóstoles e Misiones, na Argentina. As ervas foram avaliadas nas etapas de colheita, sapeco, pré-secagem, primeira secagem, segunda secagem e na erva-mate pronta para a comercialização. Foram identificados três compostos derivados do ácido cafeoquímico: o ácido clorogênico e dois dos seus isômeros, o ácido 3-*O*-cafeiolquínico (neoclorogênico) e o ácido 4-*O*-cafeiolquínico (criptoclorogênico). Os valores mais elevados da concentração de ácido clorogênico total foram encontrados em amostras de erva-mate verde da planta A, 80.8 ± 1.0 e 78.9 ± 5.3 g de ácido clorogênico.kg⁻¹ na folha e no caule, respectivamente. Ao final do

processamento houve uma redução do teor de ácido clorogênico total valores de $62.9 \pm 2.1 \text{ kg}^{-1}$ de folha na planta A. A principal redução da concentração de todos os isômeros do ácido clorogênico aconteceu durante a etapa do sapeco. Na planta B o conteúdo de cada isômero de ácido clorogênico foi constante ao longo das etapas de processamento.

3.3.2 Filmes com adição de extratos da erva-mate

Nos últimos anos houve um crescente interesse da comunidade acadêmica no uso de substâncias antioxidantes naturais que possam estender a vida útil de alimentos processados e não processados (BANERJEE; VERMA; SIDDIQUI, 2017; SHARIF et al., 2017). A seguir serão apresentados estudos recentes, que indicam que, a erva-mate e seus extratos podem ser uma alternativa de antioxidante natural, usado em biofilmes ativos, como substituto à utilização de antioxidantes sintéticos.

Chang-Bravo, Lopez-Cordoba e Martino (2014), elaboraram filmes de amido de milho e k-carragenana plastificados com glicerol adicionados de 6 % (m/v) de extratos de própolis vermelha de cuba ou de extrato de erva-mate. O extrato da erva-mate foi preparado na concentração de 10 % (m/v) com erva comercial e o extrato de própolis foi utilizado na formulação de uso comercial (extrato hidro-alcoólico de própolis vermelha cubana (17,9 g de sólidos secos/100 g de extrato). Os filmes elaborados com erva-mate apresentaram maior capacidade antioxidante quando comparado aos filmes elaborados com o extrato de própolis, pelo método do DPPH. Quanto à morfologia, os filmes de erva-mate apresentaram superfície homogênea e sem a presença de rachaduras. Durante 6 meses de armazenamento os filmes contendo extrato de erva-mate não mostraram alterações significativas no conteúdo de compostos fenólicos totais e a atividade sequestradora de radicais (DPPH) aumentou aproximadamente 50 % em relação aos valores no início do condicionamento.

Jaramillo et al. (2015), elaboraram filmes por *casting* de amido de mandioca com glicerol adicionado com 0 (controle), 5 e 20 % de extrato de erva-mate e avaliaram o efeito da adição de extrato na capacidade antioxidante dos filmes utilizando o método de DPPH. Os resultados mostraram que quanto maior a quantidade do extrato de erva-mate nos filmes maior a sua atividade antioxidante. Também observaram na análise de microestrutura que o filme com 20 % do extrato da erva-mate apresenta superfície mais rugosa e menos homogênea. Os filmes mais rugosos apresentaram maior ângulo de contato com a água, indicando

uma maior hidrofobicidade. A determinação do ângulo de contato confirma esta observação, uma vez que, obtiveram valores de $55 \pm 5^\circ$, $75 \pm 5^\circ$ e $66 \pm 4^\circ$, para o controle, 5 e 20 % de extrato, respectivamente, este fato levou os autores a caracterizar os filmes com extrato como hidrofóbicos ($\theta > 65^\circ$). A permeabilidade ao vapor de água dos filmes com 20 % de extrato foi 50 % menor que a da permeabilidade dos filmes controle. A adição do extrato de erva-mate também promoveu aumentos importantes na deformação à ruptura, mostrando um material com mais flexibilidade, como um comportamento típico de um filme plastificado.

Jaramillo et al. (2016), elaboraram filmes a base de amido de mandioca, cuja solução filmogênica continha 5 g de amido, 1,5 g de glicerol e 93,5 g de água destilada. O extrato de erva-mate foi preparado na concentração de 3 % (m/v) e adicionado à solução filmogênica nas proporções de 0, 5 e 20 %. Os autores reportam que os filmes com extrato de erva-mate foram termicamente mais estáveis e sugerem que a incorporação do extrato permite diminuir as interações moleculares entre as cadeias de amido-amido atuando como plastificante.

3.4 ENSAIOS DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* PARA POLÍMEROS HIDROFÍLICOS

Atualmente diversos polímeros têm sido temas de estudo para uso como matriz de liberação de fármacos ou de compostos bioativos. Segundo Lopes, Lobo e Costa (2005), um sistema matricial nada mais é que, um polímero ou outro agente formador de matriz que contém uma substância ativa molecularmente dispersa ou dissolvida, e sua liberação é controlada pelos mecanismos de erosão, difusão e intumescimento de polímero.

Pezzini, Silva e Ferraz (2007) reportam que a liberação do composto ativo de um sistema matricial hidrofílico, ocorre devido a um processo complexo, que se inicia pelo intumescimento do polímero, seguido da difusão do composto ativo da matriz para o meio de liberação e por último a erosão da matriz. Segundo Maderuelo, Zarzuelo e Lanao (2011), as matrizes hidrofílicas em contato com água se hidratam, aumentando o volume da matriz polimérica pela entrada do solvente, sem que haja inicialmente a desintegração da mesma. Porém, na medida em que ocorre o intumescimento da matriz polimérica, acontecem simultaneamente fenômenos de entrada do solvente na matriz e a saída do composto ativo para o meio de liberação, o que pode levar a erosão matricial.

Estes fenômenos envolvidos na liberação dos compostos ativos são de alta complexidade. Devido a isso, alguns modelos matemáticos empíricos e semiempíricos foram desenvolvidos para descrever e analisar a liberação destes compostos contidos em sistemas poliméricos (Costa, Sousa e Lobo, 2001).

O modelo de Higuchi (1961) descreve a velocidade de liberação de um determinado composto bioativo a partir de um sistema de matriz polimérica. Porém, esta equação é inadequada para sistemas em que ocorre o intumescimento do polímero, devido a descrição do sistema que considera apenas, no processo de liberação os mecanismos difusivos, baseado na lei de Fick, como mostrado na Equação 1 a seguir.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K\sqrt{t} + b \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, M_t é a quantidade da substância ativa liberada com o tempo, M_∞ é a quantidade total da substância ativa incorporada ao sistema polimérico, K é a constante de liberação de Higuchi, t é o tempo, e b é a quantidade inicial da substância na solução.

Korsmeyer et al. (1983), sugeriram outro modelo, considerando o intumescimento do sistema ocasionado quando a matriz hidrofílica entra em contato com o solvente, além do processo de difusão da substância ativa. Estes autores consideraram que a difusão da substância ativa depende da estrutura física do polímero e é afetada pela densidade do sistema, grau de cristalinidade, interações termodinâmicas entre o polímero e o soluto. Logo, a equação de Korsmeyer (Eq. 2) é descrita como:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n + b \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde, o K está relacionado com as características estruturais e geométricas do mecanismo e n é o expoente difusional de liberação, que caracteriza o mecanismo de liberação da substância ativa. Se $n = 0,5$ a difusão é Fickiana; se $0,5 < n < 1,0$ indica que a cinética é de transporte anômalo ou uma difusão não Fickiana; se $n = 1,0$ a difusão ocorre pelo caso II (é controlada pelo fenômeno de intumescimento do polímero); e se $n > 1,0$ ocorre o transporte pelo super caso II.

Outro modelo que pode ser utilizado para descrever os processos de liberação de compostos ativos em sistemas matriciais hidrofílicos é o

de Peppas e Sahlin (1989). Estes autores partiram da equação de Korsmeyer (Eq. 2) e agregaram as contribuições relativas aos fenômenos de difusão e relaxação, como observado na Equação 3:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 t^m + K_2 t^{2m} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde, K_1 é a constante que reflete o mecanismo de difusão Fickiana e o K_2 é a constante do modelo que está relacionada com o mecanismo de relaxação/ erosão (transporte de Caso II); e o m é o expoente de difusão Fickiana.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ELABORAÇÃO DO EXTRATO DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire)

As folhas da erva-mate desidratadas e trituradas (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) utilizadas neste estudo foram fornecidas pela empresa (Materva, Catanduvas, SC). As folhas foram transportadas para o Laboratório de Tecnologia de Frutas e Hortaliças da Universidade Federal de Santa Catarina em embalagens fechadas de polietileno, ao abrigo da luz em novembro de 2016. Foi realizado quarteamento das amostras e a seguir foram embaladas em sacos de BOPP em seladora a vácuo (Conceito Vácuo®, Modulare CV 25) e armazenadas ao abrigo da luz, para posteriores processos e análises.

O extrato aquoso das folhas da erva-mate foi preparado na concentração de 3 % (m/v), aquecido a 90 °C por 3 minutos com agitação constante, filtrado duas vezes com papel filtro (poro de 25 mm e whatman) e seu volume completado com água, para correção da concentração, como descrito por Murakami et al. (2011).

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO

4.2.1 Determinação dos sólidos totais e pH

A determinação dos sólidos totais do extrato foi realizada a 105°C até peso constante (AOAC, 2005). A determinação do pH foi realizada por medição direta em pHmetro digital previamente calibrado (modelo Tec-3MP, Tecnal), de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolf Lutz (IAL, 1985).

4.2.2 Determinação dos compostos fenólicos totais do extrato

A determinação do teor de fenólicos totais foi realizada pelo procedimento colorimétrico do Folin-Ciocalteu modificado, método descrito por Singleton, Joseph e Rossi (1965). A curva padrão foi preparada com ácido gálico e as leituras realizadas em espectrofotômetro a 760 nm de absorbância ($y = 0,052x - 0,0043$ e $R^2 = 0,99$). Os resultados foram expressos como equivalentes de ácido gálico (mg equivalente ao ácido gálico/ mL de extrato).

4.2.3 Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante do extrato foi avaliada por dois métodos *in vitro*: DPPH• e FRAP. Os métodos foram escolhidos em virtude da diferença entre seus princípios. A curva padrão para ambos os métodos foi obtida com Trolox e etanol em diferentes concentrações. A concentração das atividades antioxidantes foram calculadas pela seguinte equação $y = 0,0783x + 3,3042$ com $R^2 = 0,9998$ e os resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox (μmol de Trolox/ mL de extrato).

4.2.2.1 Método DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

A determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH•, consistiu na reação entre o extrato e o radical livre DPPH•. À medida que a substância antioxidante doa átomos de hidrogênio ao radical livre, ocorre a diminuição da absorbância de 517 nm, com simultânea mudança na coloração de violeta a amarelo pálido. Seguiu-se o método proposto por Kim et al. (2002), com leituras antes e após (30 min ao abrigo da luz) a adição de 0,1 mL do extrato de erva-mate a 2,9 mL do DPPH, em espectrofotômetro (Modelo U-1800, Hitachi, Tokyo, Japan) a 517 nm de absorbância.

4.2.2.2 Método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

A atividade antioxidante pelo método FRAP fundamenta-se na redução do Fe^{3+} para o complexo férrico-tripiridiltriazina por compostos antioxidantes, esta redução pode ser observada pela alteração na coloração, que passa de roxo claro para roxo intenso. A mudança na tonalidade foi quantificada em espectrofotômetro (Modelo U-1800, Hitachi, Tokyo, Japan) a 620 nm de absorbância (BENZIE; STRAIN, 1996; ARNOUS et al, 2002). O método consiste na solubilização de 200 μL da amostra na solução de FeCl_3 (3 mM), que foi aquecida em banho-maria a 37 °C por 30 min. Posteriormente, foi adicionada a solução de TPTZ a 10mM (complexo 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) e realizada a leitura a 620 nm de absorbância, toda análise foi conduzida sob o abrigo da luz. Os resultados obtidos foram expressos em equivalente ao Trolox (μmol / mL).

4.3 ELABORAÇÃO DOS FILMES

Os filmes foram elaborados utilizando a técnica de *casting*. Para a formulação da solução filmogênica foi utilizada uma proporção de 1,5 % (m/v) de alginato de sódio, cedido pela Danisco® (Copenhague, Dinamarca), que foi solubilizado em água destilada previamente aquecida a 70°C. Seguidamente, foi adicionado o glicerol P.A. (Casa da Química Ind. e Com. LTDA®) como plastificante, na concentração de 0,3 g de glicerol/ g de alginato.

Foram preparados filmes com concentrações de 0, 10, 15, 20 e 25 % (v/v) de extrato da erva-mate a 3 % (m/v) que foram denominados ALG, ALG10, ALG15, ALG20, ALG25, respectivamente. Após a completa dissolução, com o objetivo de remover as bolhas de ar incorporadas na solução filmogênica, às soluções foram filtradas e colocadas em sonicador (Modelo Maxi Clean 1650^a, Unique) por 20 minutos. A seguir 60 g das soluções filmogênica, foram espalhadas em placas de poliestireno cristal de 14 cm de diâmetro, e secas em estufa com circulação de ar a 40 °C por 14 h. Após a secagem os filmes foram reticulados conforme o método descrito por Li et al. (2015), sendo assim, os filmes foram imersos (um por vez) em 100 mL da solução aquosa reticulante, que consistia 3 % (m/v) de CaCl₂ e 30 % (v/v) de etanol.

Ensaio preliminares para elaboração do filmes foram realizados, para definição da formulação citada à cima. Todas as formulações testadas estão apresentadas no Anexo A, cujos critérios utilizados para seleção da formulação filmogênica foi determinado segundo os parâmetros estabelecidos por Gontard (1992): continuidade (ausência de fraturas após a secagem), homogeneidade (ausência de partículas insolúveis ou bolhas visíveis a olho nu) e manuseabilidade (possibilidade do filme ser manipulado sem se romper).

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

4.4.1 Análise da microestrutura dos filmes

A microestrutura dos filmes foi avaliada através do microscópio eletrônico de varredura modelo JEOL JSM-6390LV (Jeol, Tokyo, Japan), com filamento de elétrons de tungstênio utilizando feixe de elétrons de 8 kV. As amostras de superfície (expostas à secagem) foram fixadas diretamente nos suportes, e para as observações de fratura os filmes foram criofraturados utilizando nitrogênio líquido.

As amostras foram conduzidas ao Laboratório Central de Microscopia da Eletrônica (LCME) da UFSC, onde foram fixadas em “*stubs*”, com fita de carbono e recobertas com ouro utilizando um metalizador Baltec (SCD 0005, Suíça).

4.4.2 Isotermas de sorção de umidade

Filmes medindo 2 x 2 cm, foram desidratados por 15 dias em dessecador contendo sílica a temperatura ambiente. Após, os filmes foram acondicionados em cadinhos previamente tarados e colocados em sistemas herméticos contendo soluções salinas saturadas de: cloreto de lítio, cloreto de magnésio, carbonato de potássio, brometo de sódio, cloreto de sódio, cloreto de potássio e cloreto de bário, que proporcionam diferentes condições de umidade relativa de equilíbrio (URE), que são apresentadas na Tabela 1. Os sistemas foram mantidos em estufa tipo B.O.D (Modelo TE-371, Tecnal) à 25°C e em intervalos regulares as amostras foram pesadas até a condição de umidade de equilíbrio (7 dias), seguindo as recomendações do método gravimétrico estático, sugerido por Barbosa-Cánovas, Schmidt, Fontana, (2008). Estabelecida esta condição, foi determinado teor de umidade das amostras, em estufa a 70 °C por 14 h. Com esses dados, foram calculadas as umidades de equilíbrio (X_{eq}) das amostras (Eq. 4), em cada condição de umidade relativa.

$$X_{eq} = \frac{\text{massa de água (g)}}{\text{massa seca (g)}} \quad (\text{Eq. 4})$$

Tabela 1. Atividade de água das soluções saturadas de sais a 25 °C.

Sal	a_w
Cloreto de Lítio (LiCl)	0,11
Cloreto de Magnésio (MgCl ₂)	0,33
Carbonato de Potássio (KCO ₃)	0,43
Brometo de Sódio (NaBr)	0,58
Cloreto de Sódio (NaCl)	0,75
Cloreto de Potássio (KCl)	0,80
Cloreto de Bário (BaCl ₂)	0,90

Para ajuste dos dados experimentais, foram utilizados a ferramenta da rotina de ajuste não linear do programa Statistica 7.0 (STATSOFT, 2011), os modelos de Guggenheim-Anderson-de-Böer (GAB) e de Brunauer, Emmett e Teller (BET), são apresentados nas Equações 5 e 6, respectivamente.

$$X_{eq} = \frac{X_m C K a_w}{(1 - k a_w)(1 - k a_w + C K a_w)} \text{ (Eq. 5)}$$

$$X_{eq} = \frac{X_m C a_w}{(1 - a_w)[1 - (C - 1)a_w]} \text{ (Eq. 6)}$$

Onde, X_{eq} é a umidade de equilíbrio (g água/ g de sólido seco), C , K e X_m são as constantes de ajuste do modelo, sendo que, C está relacionada ao calor de sorção da camada molecular, K está relacionada ao calor de sorção nas multicamadas, X_m está relacionado à umidade da monocamada (g água/ g de sólido seco) e a_w é atividade de água do sistema.

4.4.3 Permeabilidade ao vapor de água (K^w)

Os testes de permeabilidade ao vapor de água foram realizados seguindo as recomendações da ASTM E96-00. Discos de 0,0034m² de filmes foram fixados com graxa de silicone, em células de difusão contendo sílica (2 % de umidade relativa). As células foram colocadas em dessecadores contendo solução saturada de cloreto de sódio (75 % de umidade relativa) e acondicionados em estufa tipo B.O.D (Modelo TE-371, Tecnal) à 25°C. Logo, a transferência do vapor de água através do filme foi medida pelo ganho de massa da cápsula em função do tempo, medido por 25 h. A permeabilidade foi determinada pela seguinte equação (Eq. 7):

$$K^w = \frac{W \delta}{S P_s (a_{w1} - a_{w2})} \text{ (Eq. 7)}$$

Onde, δ é a espessura média do filme, S a área de permeação (0,002043 m²), a_{w1} é o valor de (URE/100) dentro da cuba, a_{w2} é o valor de (URE/100) no interior da célula, P_s é a pressão de saturação da água na temperatura do experimento (25° C) e $W = GM/t$ (g de água/h) foi calculado por regressão linear dos dados de ganho de massa (GM) em função do tempo (t) no estado estacionário.

4.4.4 Ensaios mecânicos de tração

Foram realizados ensaios de tensão-deformação dos filmes utilizando equipamento de ensaio universal EMIC DL 2000. Os filmes foram cortados nas dimensões de 12,35 x 50 mm e acondicionados por 48 h em dessecador contendo solução saturada de brometo de sódio,

para uniformização da umidade relativa em 58 % à temperatura de 25° C.

Os padrões da norma ASMT D882-12 (2012), foram usados para condução dos ensaios. Foram cortados 10 corpos de prova das amostras ALG, ALG10, ALG15, ALG20 e ALG25, e fixados as garras do EMIC que estavam a uma distância inicial de 50 mm, a velocidade de tração constante de 12,50 mm/ min e acoplado uma célula de carga de 50 kg. Foram determinados os valores de tensão na ruptura (T_{rup}), alongação na ruptura (ϵ_{rup}) e o módulo de Young (Y) dos filmes elaborados.

4.5 ENSAIO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

Os filmes ALG e ALG25 foram escolhidos para o ensaio de liberação. O estudo de migração dos compostos fenólicos totais, contidos no extrato de erva-mate do filme de alginato de sódio, foi conduzido de acordo com a Norma Européia EN 13130-1:2005. Foram escolhidos 4 simulantes alimentares em condições aceleradas para liberação, 3 destes simulantes eram polares e 1 simulante apolar. Os simulantes polares usados foram: água destilada (A), etanol à 10 % (v/v) (B), e ácido acético a 3 % (pH= 2,5) (m/ v) (C) o isooctano P.A (D) como simulante apolar. A Tabela 2 descreve cada simulante e sua representação de uso.

Tabela 2. Composição e características de uso de cada simulante de alimentos.

Nome	Composição	Temperatura	Uso
Simulante A	Água destilada.	40 °C	Para alimentos aquosos com pH> 4,5
Simulante B	Etanol à 10 % (v/v) em água destilada.	40 °C	Para alimentos que contém álcool.
Simulante C	Ácido etanóico (ácido acético)à 3 % (m/ v) em água destilada.	40 °C	Para alimentos com o pH< 4,5.
Simulante D	2,2,4-Trimetilpentano (isooctano P.A.)	20 °C	Para alimentos com alto teor de gordura.

Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

4.5.1 Cinética de migração por imersão

Os filmes medindo 12 cm² e contendo 2,97 mg de compostos fenólicos foram imersos em 20 mL de cada simulante (A, B, C e D) e foram armazenados durante 48 horas em estufa tipo B.O.D. (Modelo TE-371, Tecnal) à 40 °C, sob o abrigo da luz e de umidade, porém, o isooctano foi armazenado a 20 °C em estufa tipo B.O.D. (Modelo TE-371, Tecnal) devido a sua volatilidade. Os ensaios de cada simulante

foram conduzidos em triplicata, mais um branco. Nos tempos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24 e 48 horas foram retiradas alíquotas de cada sistema e os compostos fenólicos totais foram quantificados.

4.5.2 Análise de compostos fenólicos totais liberados nos simulantes alimentícios

Os compostos fenólicos totais de cada ponto da cinética, retirados dos simulantes A, B, C e D foram quantificados de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.1.

4.5.3 Modelagem matemática

Os resultados obtidos na liberação dos compostos fenólicos totais do filme ALG25 em função do tempo (horas) foram utilizados para ajuste dos modelos matemáticos. A concentração dos compostos fenólicos totais foi adimensionalizada, utilizando a razão entre os valores de M_t (quantidade da substância ativa liberada com o tempo) e M_∞ (quantidade total da substância ativa incorporada ao sistema polimérico). E os modelos empíricos de liberação, foram apresentados em $\frac{M_t}{M_\infty}$ em função do tempo (horas). Os modelos propostos por Higuchi (1961), Korsmeyer et al. (1983) e Peppas e Sahlin (1989), e suas respectivas equações são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Modelos matemáticos aplicados a cinética de liberação dos compostos fenólicos totais.

Modelo	Equação
Higuchi (1961)	$\frac{M_t}{M_\infty} = K\sqrt{t} + b$
Korsmeyer et al. (1983)	$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n + b$
Peppas e Sahlin (1989)	$\frac{M_t}{M_\infty} = K_1t^m + K_2t^{2m}$

Onde, M_t é a quantidade da substância ativa liberada com o tempo; M_∞ é a quantidade total da substância ativa incorporada ao sistema polimérico; K é a constante de liberação; t é o tempo; b é a quantidade inicial da substância na solução; n é o expoente difusional de liberação; K_1 é a constante que reflete o mecanismo de difusão Fickiana; K_2 é a constante que está relacionada com o mecanismo de relaxação/ erosão (transporte de Caso II); e o m é o expoente de difusão Fickiana.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das análises ($n= 3$) foram apresentados como média \pm desvio padrão, quando cabíveis. Foram submetidos a análise de variância ANOVA e o teste de Tukey considerando-se o nível de probabilidade de erro (p) menor que 5 %, utilizando o *software* Statistica[®] versão Ultimate Academic.

As modelagens das isotermas de sorção e da cinética de liberação *in vitro* foram submetidas a rotina de ajuste não linear do *software* Statistica[®]. Para avaliação da qualidade do ajuste dos modelos cinéticos foram usados o Desvio Médio Quadrático (DMQ) e o teste Qui-Quadrado (X^2), que são apresentados nas Equações 8 e 9, respectivamente:

$$DMQ = \sqrt{\frac{\sum(V_{pred}-V_{obs})^2}{n}} \quad (\text{Eq. 8})$$

Onde, V_{pred} são os valores preditos pelo modelo; V_{obs} são os valores experimentais; e n é o número de observações.

$$X^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(V_{pred}-V_{obs})^2}{N-n} \quad (\text{Eq. 9})$$

Onde, V_{pred} são os valores preditos pelo modelo; V_{obs} são os valores experimentais; N é o número de observações e n é o número de parâmetros do experimento.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE ERVA-MATE

Os resultados das determinações dos compostos fenólicos totais, expresso em mg Equivalente em Ácido Gálico (EAG)/ mL do extrato de erva-mate, e atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e FRAP expressos em μmol de Trolox/ mL do extrato são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire).

	Compostos fenólicos totais * (mg EAG/ mL)	DPPH* (μmol de Trolox/ mL)	FRAP* (μmol de Trolox/ mL)
Extrato de erva-mate	1,87 \pm 0,005	9,97 \pm 0,131	6,57 \pm 0,103

* Valores médios \pm desvio padrão de determinações em triplicata

O extrato de erva-mate apresentou teor de compostos fenólicos totais que corroboram com os resultados obtidos por outros autores que avaliaram extratos aquosos de erva-mate, indicando que o processo utilizado para obtenção do extrato foi eficiente para a extração dos compostos de interesse (MURAKAMI et al., 2011; COLPO et al., 2016; BRAVO; GOYA; LECUMBERRI, 2007).

Murakami et al. (2011) realizaram a otimização do processo de extração dos compostos fenólicos totais das folhas da erva-mate desidratadas (3 % m/v) e reportam teor de 1,94 mg EAG/ mL na condição otimizada (90 °C/ 3 min). Colpo et al. (2016) estudaram o perfil cromatográfico de extratos aquosos de erva-mate de diferentes origens e reportam valores de compostos fenólicos totais entre 0,057 e 1,451 mg EAG/ mL. Boaventura et al. (2013), avaliaram o efeito da crioconcentração do extrato obtido de folhas da erva-mate a 3 % (m/v), no primeiro estágio de alimentação do sistema de crioconcentração o extrato apresentou valores de 2,68 mg de EAG/ mL da amostra.

O teor de compostos fenólicos em extratos aquosos de erva-mate varia em função das condições utilizadas no processo de extração e de variações intrínsecas como, as técnicas de cultivo, linhagem genética, clima, solo, altitude, tempo de colheita, idade da planta, parte da planta, além das etapas de processamento. Frizon et al. (2015), trabalharam com erva-mate de diferentes regiões do estado do Paraná (região

metropolitana de Curitiba, sudeste e central sul) e obtiveram valores para os compostos fenólicos totais que variaram significativamente ($p \leq 0,05$) entre 37,00 e 133,31 mg/g. Isolabella et al. (2010), examinaram o efeito do processamento na quantificação dos compostos bioativos da erva-mate e observaram que o teor de, ácido clorogênico, ácido isoclorogênico e seus derivados (3, 4 dicafeiolquínico, 3,5 dicafeiolquínico e 4,5 dicafeiolquínico), ácido cafeico, cafeína, teobromina e rutina, aumentaram após os processos de sapeco, secagem e armazenamento, quando comparados com as folhas verdes. Filip et al. (2001) analisaram a composição dos compostos fenólicos totais presentes em oito espécies de *Ilex* e constataram que a variedade *I. paraguariensis* St. Hilaire possui o maior teor dos compostos derivados do ácido cafeiolquínico, rutina e quercetina. Souza et al. (2015), fizeram um estudo comparativo das partes da *I. paraguariensis* A. St. Hil. cultivada e comercializada na região da cidade de Maringá (PA, Brasil) e encontraram valores para os compostos fenólicos totais de $298 \pm 3,0$, $309 \pm 1,0$ e $188 \pm 1,0$ mg EAG/ g da planta inteira, folhas e caule, respectivamente. Gómez-Juaristi et al. (2018) trabalharam com erva-mate cultivada na Argentina e obtiveram um teor de compostos fenólicos totais de $80,6 \pm 2,3$ mg EAG/ g de amostra.

No que se refere aos processos de extração, estudos comprovaram que a solubilidade dos compostos fenólicos totais é um fator dependente do tipo de tecido do qual é extraído. Os compostos fenólicos totais menos solúveis são encontrados nas paredes celulares e na erva-mate estão presentes nos tecidos lignocelulósicos dos talos, enquanto os fenólicos solúveis estão presentes nos vacúolos das células vegetais. Estas diferenças em termos de solubilidade fazem com que o solvente utilizado na extração e sua polaridade interfiram na classe de compostos fenólicos que são extraídos (VIEIRA et al., 2010; PAGLIOSA et al., 2010; NACZK; SHAHIDI, 2006; HARBONE, 1964).

O pH da solução de extração dos compostos fenólicos interfere nos valores obtidos nesta determinação, segundo Chirinos et al. (2007) este parâmetro está relacionado com a estabilidade e difusão dos compostos fenólicos da parede celular das plantas. O extrato de erva-mate apresentou $\text{pH} = 5,51 \pm 0,01$, resultado similar foi reportado por Reis et al. (2015) no extrato de erva-mate ($\text{pH} = 5,80$). Na literatura encontra-se diferentes pesquisas que correlacionam os valores do pH com a extração dos compostos fenólicos de espécies vegetais. Murakami et al. (2011) verificou que o aumento do pH e da temperatura provoca o aumento do teor dos compostos fenólicos totais em extratos obtidos das folhas da erva-mate. Santos et al. (2017) observou que os compostos

fenólicos obtidos do extrato aquoso do bagaço de amora (*Rubus fruticosus*) seco por *spray dryer* ou microencapsulado, possui maior estabilidade quando armazenados por até 7 dias em $\text{pH} \leq 5,0$. Logo, o pH encontrado no presente estudo pode ter favorecido a estabilidade dos compostos fenólicos do extrato aquoso de erva-mate.

Outro fator que afeta a concentração dos compostos fenólicos totais no extrato é a temperatura em que se realiza a extração. O aumento da temperatura favorece o aumento significativo do rendimento de extração de alguns compostos bioativos. Isto ocorre devido as temperaturas mais elevadas favorecerem os processos de difusão do solvente na matriz sólida, além de modificar a solubilidade dos compostos. Porém, temperaturas muito elevadas ou tempos de extração muito longos, podem ocasionar degradação de compostos fenólicos (SHUYUAN et al., 2017; GONZÁLEZ et al., 2017; MOKRANI; MADANI, 2016).

As propriedades bioativas dos compostos fenólicos da erva-mate são bem conhecidas e a principal delas é a atividade antioxidante. O extrato apresentou diferentes valores para os métodos de atividade antioxidante realizados neste estudo, $9,97 \pm 0,131$ e $6,57 \pm 0,103$ $\mu\text{mol}/\text{mL}$ para DPPH e FRAP, respectivamente. Segundo Ivanovic et al. (2013), as propriedades antioxidantes dos extratos vegetais são atreladas a presença e concentração dos compostos fenólicos, como também a estrutura e os mecanismos de interação entre estes compostos e outros, como carboidratos.

Blum-Silva et al. (2015), observaram que existe uma correlação inversa entre os valores dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método do $\text{DPPH}_{\text{EC50}}$, quanto maior a concentração dos compostos fenólicos totais, menor é a quantidade de extrato necessária para reduzir o radical DPPH. Outros autores reportam que os compostos fenólicos individuais da erva-mate apresentam diferentes atividades antioxidantes, como observado por Valerga, Reta e Lanari (2012), que avaliaram a atividade antioxidante pelo método β -caroteno/ácido linoleico dos compostos fenólicos individuais do extrato de erva-mate, obtido com acetona/água na proporção de 80:20. Em ordem decrescente os compostos individuais com maior atividade antioxidante foram quercetina, campferol e ácido cafeico; rutina e ácido clorogênico segundo os autores, não tiveram diferença significativa ($p \leq 0,05$). Anesini et al. (2012), estudaram a capacidade antioxidante dos compostos bioativos individuais (ácido cafeico, ácido clorogênico e rutina) do extrato aquoso da erva-mate a 5 % (m/v) e verificaram que todos os compostos apresentaram efeito de eliminação de radical pelo

método do DPPH, o ácido clorogênico apresentou maior potencial redutor que os demais compostos nas mesmas concentrações.

Outros autores apresentaram os resultados dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante em base seca. O extrato aquoso obtido apresenta $0,01 \pm 0,001$ g de sólidos totais, destes, 180 mg EAG/ g são de compostos fenólicos totais. Valores aproximados foram encontrados por Turkmen, Sari e Velioglu (2006), que obtiveram valor de $120,4 \pm 1,49$ mg de EAG/ g de extrato de erva-mate, extraído com maceração em solução com 50 % de acetona (v/v). Vieitez et al. (2018), encontraram valor de $158,9 \pm 0,4$ mg de EAG/ g de extrato de erva-mate, obtido por maceração em solução etanólica a 75 % (v/v).

Vários outros estudos determinaram a atividade antioxidante da erva-mate, porém o uso dos diferentes métodos ou a maneira como expressam seus resultados dificulta a comparação entre os dados. Outros autores relatam a atividade antioxidante em μmol de Trolox/ g de matéria seca. Bravo, Goya e Lecumberri (2007) avaliaram a atividade antioxidante de diferentes ervas-mates comerciais da Argentina, pelo método de FRAP e obtiveram valores para o extrato de erva-mate que variaram entre $762,02 \pm 31,27$ e $938,59 \pm 39,86$ μmol de Trolox/ g de matéria seca. Pagliosa et al. (2010), obteve valores para a atividade antioxidante pelo método de DPPH das partes da folhas e casca da erva-mate que variaram entre $233 \pm 3,73$ a $621 \pm 18,45$ μmol de Trolox/ g das amostras secas, respectivamente. Dados estes, que corroboram com os resultados encontrados no presente estudo, que quando convertidos para massa seca são de: 997 e 657 μmol / g para o DPPH e FRAP, respectivamente.

Dudonné et al. (2009), avaliaram o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante de 30 extratos de plantas de interesse industrial. Dentre elas, a *Ilex paraguariensis* se destacou entre as demais, por apresentar alto teor de fenólicos e atividade antioxidante avaliada pelos métodos de DPPH, ABTS, FRAP, ORAC e SOD. Por apresentar estas propriedades discorridas acima, é interessante o uso do extrato de erva-mate em produtos alimentícios ou até mesmo em embalagens para uso em alimentos, para liberação controlada de seus compostos bioativos.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Os filmes elaborados apresentaram-se visualmente sem fraturas, sem poros, sem partículas insolúveis e foram de fácil remoção da placa de petri de acrílico após a secagem (Figura 5). Observou-se que a

incorporação do extrato de erva-mate ocasionou a mudança de cor em relação ao filme controle (ALG).

Figura 5. Imagem dos filmes de alginato de sódio reticulados com CaCl_2 com e sem adição de extrato da erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire). Onde, ALG, ALG10, ALG15, ALG20 e ALG25 correspondem a adição de 0, 10, 15, 20 e 25 % (v/v) do extrato de erva-mate, respectivamente.



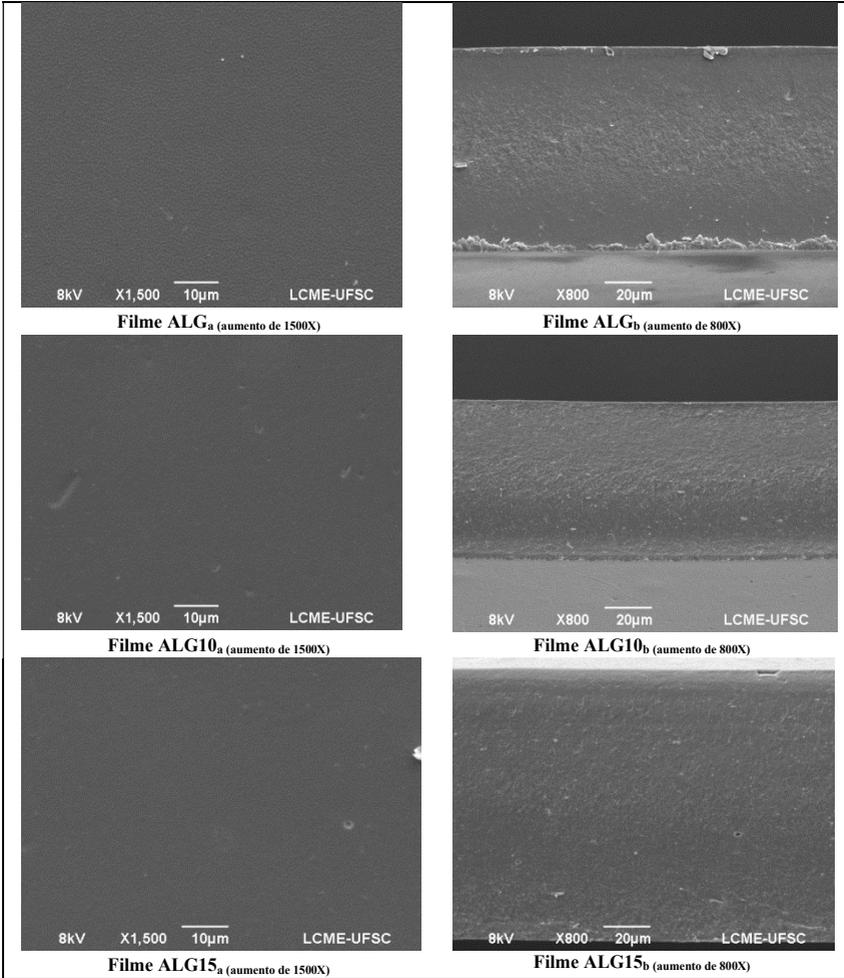
Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

5.2.1 Análise da microestrutura dos filmes (MEV)

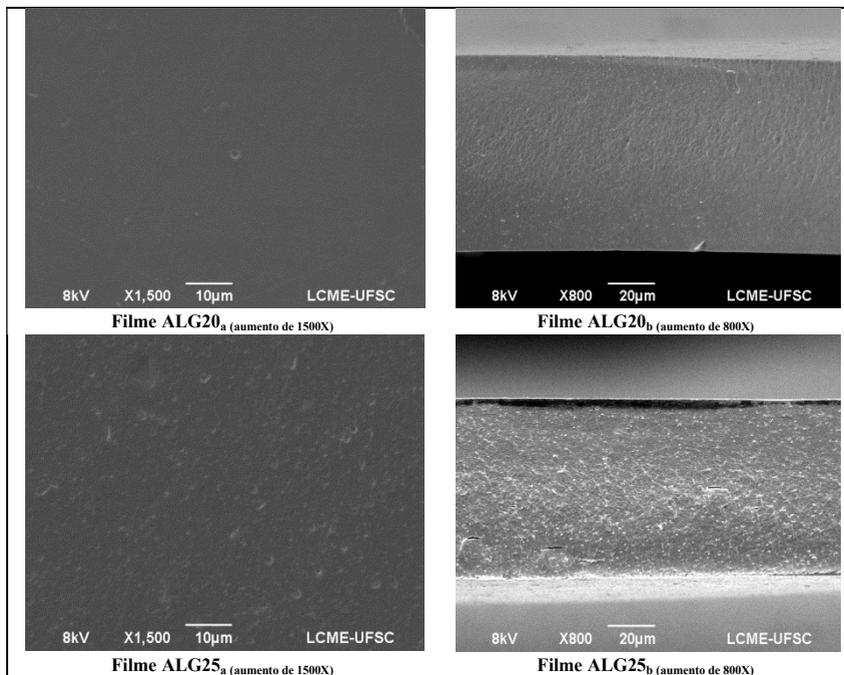
As micrografias de superfície (subíndice a) e da criofratura (subíndice b) dos filmes com e sem adição do extrato de erva-mate são apresentadas na Figura 6. As imagens foram ampliadas em 1500 X para as micrografias de superfície e 800X para as micrografias de fratura.

As micrografias de superfície dos filmes exibem regiões lisas, homogêneas e sem rachaduras, porém, a incorporação do extrato de erva-mate na matriz polimérica favoreceu a formação de poros nos filmes. Os microporos na matriz aumentaram com a adição do extrato de erva-mate, o filme com a maior adição do extrato (filme ALG25) apresentou superfície mais rugosa, quando comparada ao filme sem extrato (ALG, controle). Este comportamento corrobora com as observações de Gómez-Guillén et al. (2007), que estudaram filmes de gelatina adicionados de extratos de murtilla (*Ugni molinae* Turcz) e relatam que a incorporação do extrato modificou a morfologia dos filmes tornando a superfície dos mesmos mais rugosas e irregulares quando comparada à dos filmes controle sem o extrato. Outros resultados similares foram reportados por Han, Yu e Wang (2018), quando avaliaram as micrografias de superfície e de fratura de filmes de alginato de sódio com carboximetilcelulose (CMC), reticulados com CaCl_2 e adicionados do óleo essencial de canela e relatam um aumento da rugosidade destes filmes quando comparados aos filmes controle (sem óleo essencial).

Figura 6. Micrografias dos filmes de alginato de sódio com e sem adição do extrato de erva-mate.



Continua.



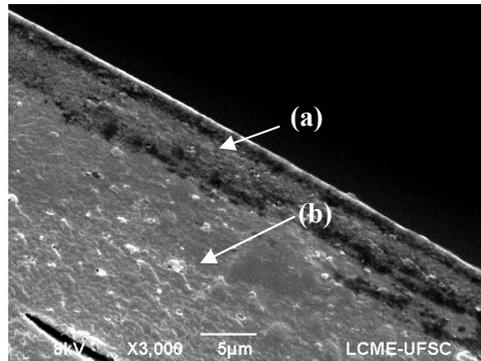
Onde, ALG, ALG10, ALG15, ALG20 e ALG25 correspondem a adição de 0, 10, 15, 20 e 25 % (v/v) do extrato de erva-mate, respectivamente.

Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

Em geral, os filmes mostraram uma morfologia similar nas fraturas, apresentando uma estrutura densa e compacta. Porém, observam-se diferenças na homogeneidade nas camadas internas e centrais dos filmes, o que pode estar associado ao efeito do processo de reticulação. Uma vez que, a reticulação dos filmes foi realizada pelo método de imersão dos mesmos na solução de cloreto de cálcio, é possível que essa diferença nas camadas internas dos filmes esteja relacionada com o processo de difusão do íon na matriz polimérica.

É importante ressaltar que a micrografia de fratura do filme ALG25 revela uma superfície mais densa na interface superior (Figura 7 (a)), que a difere da camada interna (Figura 7 (b)), conforme observado na ampliação de 3000X da fratura (Figura 7).

Figura 7. Micrografia de fratura do filme com 25% de extrato de erva-mate (ALG25). Onde, (a) camada superficial escura e (b) camada interna mais clara.



Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

No filme ALG25 observa-se a presença de uma camada superficial (a) com morfologia diferente da camada interna (b) o que pode ser atribuído, a uma separação de fases devido à presença de compostos apolares, como lipídios provenientes da erva-mate, uma vez que, na formulação desses filmes foi utilizada a maior concentração de extrato. Berté et al. (2011) e Souza et al. (2015) produziram extratos aquosos de erva-mate e reportam valores entre 1,7 e 4,25 g de lipídios/100 g de matéria seca, que segundo estes autores podem ter sido lixiviados da matriz sólida para a fase aquosa durante o aquecimento.

Acosta et al. (2016) encontraram resultados similares, nas micrografias de biofilmes ativos elaborados com gelatina e amido de mandioca, com adição dos óleos essenciais de canela, orégano ou cravo (como agente antimicrobiano). Os autores atribuem as alterações encontradas nas camadas dos filmes, a diferença de densidade dos componentes da solução filmogênica, principalmente aos óleos essenciais, devido à menor miscibilidade. Segundo os autores durante o processo de secagem dos filmes podem ocorrer os fenômenos da floculação, coalescência e *creaming*, que favorecem a elevação da fração lipídica para a superfície dos filmes. O efeito destes fenômenos também foi observado por Riquelme, Herrera e Matiacevich (2017) nas micrografias de filmes de alginato de sódio com adição do óleo

essencial de capim-limão, dados estes, que corroboram com os obtidos no presente estudo.

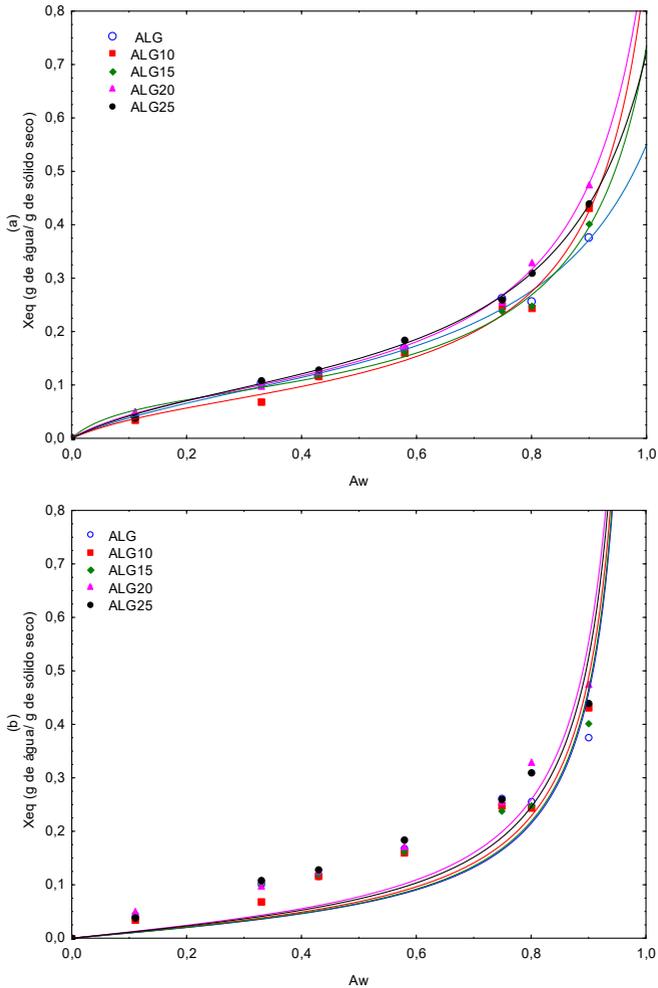
5.2.2 Isotermas de adsorção de umidade a 25 °C

A Figura 8 apresenta as isotermas de adsorção de umidade obtidas a 25 °C dos filmes de alginato com e sem adição de extrato de erva-mate e os respectivos ajustes (linhas contínuas) dos modelos de GAB (a) e BET (b).

Em todos os filmes observou-se um aumento da umidade de equilíbrio com aumento da atividade de água. Este comportamento já foi relatado por outros autores que associam à higroscopicidade de materiais como amido, alginato, açúcares, etc. (AGUIRRE-LOREDO et al., 2016; BIERHALZ et al., 2014; TEODORO et al., 2015; MOREIRA et al., 2016). As isotermas de sorção de umidade permitem correlacionar umidade relativa do ambiente ou atividade de água com a umidade de equilíbrio no material, numa dada temperatura. Para materiais de baixa umidade e com características hidrofílicas as isotermas de adsorção são as mais empregadas, uma vez que, estes tipos de materiais quando condicionados em ambientes sem controle de UR, tendem a adsorver umidade do ar. Sendo assim, o estudo das isotermas de adsorção de umidade de filmes de alginato de sódio é de grande interesse tecnológico devido que, além de ser higroscópicos, a água atua como plastificante deste tipo de polímeros alterando significativamente as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes produzidos a partir deles (AL-MUHTASEB; McMINN; MAGEE, 2004; MOREIRA et al., 2016).

O modelo de GAB se ajustou bem aos dados experimentais, apresentou resíduos do modelo (Anexo B) bem distribuídos e não tendenciosos, mostrando pontos aleatórios, positivos e negativos ao seu entorno. A Tabela 5 apresenta os coeficientes de ajuste (R^2) e os parâmetros estimados pelo modelo de GAB. Os valores de R^2 foram para todos os filmes foram superiores a 0,99 e o ajuste de todos os parâmetros do modelo foi significativo ($p \leq 0,05$). As isotermas foram sigmoidal do Tipo II, segundo classificação de Brunauer, Emmet e Teller (1938), características de produtos com alto teor de polissacarídeos e higroscópicos.

Figura 8. Isoterma de adsorção de umidade, (a) ajuste matemático do modelo de GAB; (b) ajuste matemático do modelo de BET.



Onde, X_{eq} é a umidade de equilíbrio (g de água/ g de S.S.); A_w é a atividade de água.

Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

Por outro lado, o modelo de BET subestima os valores de umidade de equilíbrio para a_w inferiores a 0,8, não se ajustando aos

dados experimentais. Esta falta de ajuste do modelo de BET aos dados experimentais é comprovada também pelos baixos valores de R^2 e com a análise dos resíduos (Anexo C) encontrados para todos os filmes. Logo, o modelo de BET fez com que os valores de teor de umidade da monocamada (X_m) apresentados na Tabela 5, não tenham sentido físico. Este comportamento pode estar associado a que, o modelo de BET descreve isotermas de adsorção de umidade tipo III, características de matrizes com alto teor de açúcares simples, não se adequando a materiais poliméricos (AL-MUHTASEB; McMINN; MAGEE, 2002).

Os valores do teor de umidade na monocamada (X_m) determinado pelo modelo de GAB dos filmes com e sem adição de extrato de erva-mate foram da mesma ordem de grandeza que os reportados para filmes biopolímeros como amido, alginato, quitosana, goma guar, caseína e queratina (MALI et al., 2005; VISHWAKARMA; SHIVHARE; NANDA, 2011; SABERI et al., 2016; ZHANG; HAN, 2008; FABRA; TALENS; CHIRALT, 2010; MARTELLI et al., 2006).

Xiao e Tong (2013) avaliaram as isotermas de sorção de umidade em diferentes temperaturas (25, 35 e 45 °C) em filmes de blendas de alginato de sódio e pululano e relatam valores de X_m entre 0,072 a 0,124 g de água/g de s.s. para o ajuste do modelo de GAB. Além disso, verificaram que o aumento da concentração de pululano nas blendas diminuiu a umidade da monocamada dos filmes que associaram à redução da disponibilidade dos sítios hidrofílicos do alginato para interagir com a água devido à presença do pululano. Bierhalz et al. (2014), estudaram o efeito do método de reticulação sobre a umidade de equilíbrio de filmes de alginato e ajustaram o modelo de GAB aos resultados de isotermas de sorção de umidade. Os autores relatam valores de X_m que variaram entre 0,0979 a 0,1417 g de água/ g de s.s., corroborando os resultados obtidos no presente estudo. Do mesmo modo, estudos com filmes de amido relatam valores de teor de umidade da monocamada entre 0,079 e 0,389 g de água/ g de s.s em função da fonte e do teor de plastificante adicionado (SABERI et al, 2016; ZHANG; HAN, 2008).

Os filmes em que foram adicionados 10, 15 e 20 % do extrato de erva-mate observaram-se uma redução do teor de umidade da monocamada de 24, 25 e 12 %, respectivamente, quando comparados aos filmes sem extrato. Segundo Chaurasia e Bajpai (2013), em atividades de água reduzidas e intermediárias a adsorção acontece nas regiões da monocamada e multicamadas, pois a adsorção física nestes estágios ocorre entre os sítios ativos de sorção, que, no caso do alginato acontece nos grupamentos $-COO-Na^+$ e $-OH$. Em função disso, pode ser

que, nos filmes onde foi adicionado extrato uma parte desses sítios do alginato esteja interagindo com os compostos fenólicos e reduzindo, dessa forma a interações do alginato com a água. Por outro lado, os filmes com 25 % de extrato apresentaram teor de umidade da monocamada da mesma ordem de grandeza que o filme sem extrato, reduzindo somente 2 % em relação a este último. Este comportamento pode estar associado a uma maior área superficial destes filmes devido a maior rugosidade observada nestes filmes nas microscopias.

Tabela 5. Parâmetros de ajuste do modelo de GAB e BET para os filmes controle e com extrato de erva-mate.

Filme	Parâmetros do modelo de GAB				Parâmetros do modelo de BET		
	X_m (g H ₂ O/g S.S.)	k	C	R ²	X_m (g H ₂ O/g S.S.)	C	R ²
ALG	0,105	0,817	5,655	0,996	7,089	0,013	0,833
ALG10	0,078	0,914	6,559	0,994	6,303	0,016	0,931
ALG15	0,079	0,894	13,874	0,997	6,578	0,015	0,884
ALG20	0,092	0,902	7,525	0,999	7,551	0,015	0,917
ALG25	0,103	0,861	6,214	0,999	7,484	0,015	0,880

Valores de A_w de 0,11 a 0,9; onde X_m (g H₂O/ g de S.S.), C e k correspondem aos coeficientes de ajuste dos modelos de GAB e BET.

Onde, ALG, ALG10, ALG15, ALG20 e ALG25 correspondem a adição de 0, 10, 15, 20 e 25 % (v/v) do extrato de erva-mate, respectivamente.

Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

O modelo de GAB apresenta mais dois parâmetros de ajuste: o parâmetro C, denominado constante de Guggenheim, que é característico da matriz e se relaciona com o calor de adsorção da monocamada e o parâmetro k que se relaciona com o calor de adsorção das multicamadas (BARBOSA-CÁNOVAS; SHIMIDT; FONTANA, 2008)

Os valores do parâmetro C apresentam uma ampla faixa de variação mesmo em filmes poliméricos onde outros autores reportam valores de entre 26,0 a 67,0 para filmes de quitosana (LECETA et al., 2014), 3,9 a 30 para filmes de amido de ervilha (ZHANG; HAN, 2008); 9,65 e 322,2 para filmes de amido de mandioca (MÜLLER; LAURINDO; YAMASHITA, 2009a).

O parâmetro k apresentou, para todos os filmes avaliados valores menores que 1 e que corroboram com os resultados de outros autores que trabalharam com filmes hidrofílicos. Shih, Daigle e Champagne (2011), relatam que filmes de pululano e goma arábica com diferentes concentrações de cera de arroz apresentaram valores de k entre 0,85 e

0,91. Dias et al. (2011), trabalharam com filme de farinha de arroz reforçados com fibras de celulose e obtiveram valores de k que variaram entre 0,85 a 0,92 e Shirai et al. (2013) produziram filmes biodegradáveis a base de amido termoplástico de mandioca (TPS), poli (ácido láctico) (PLA) e poli (butileno adipato-tereftalato) (PBAT) e encontraram valores de k que variaram entre 0,923 a 0,980; Müller, Laurindo e Yamashita (2011), elaboraram filmes com amido de mandioca e avaliaram a influência da adição de nanoargila nas propriedades de barreira e mecânicas dos filmes, obtiveram na análise dos parâmetros do ajuste do modelo de GAB, valores de k que variaram entre 0,851 e 0,915.

Contudo, os filmes ALG20 e ALG25 foram os mais higroscópicos. Ambos os materiais são mais susceptíveis a sofrerem alterações significativas nas suas propriedades mecânicas e de barreira, devido ao efeito plastificante ocasionado pela adsorção de umidade.

5.2.3 Permeabilidade ao vapor de água (K^w)

Os resultados obtidos para a permeabilidade ao vapor de água estão apresentados na Tabela 6. Segundo Ren et al. (2017), este parâmetro desempenha um papel fundamental na verificação das trocas de umidade entre os produtos embalados e a atmosfera em que se encontra condicionado. Os valores da permeabilidade ao vapor de água dos filmes de alginato reticulados com cloreto de cálcio com e sem adição de extrato de erva-mate variaram de $3,57 \pm 0,04 \times 10^{-7}$ a $4,64 \pm 0,05 \times 10^{-7} \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$.

Estes resultados de permeabilidade corroboram com os resultados de Parris et al. (1995), que avaliaram a permeabilidade ao vapor de água de filmes de alginato e reportam valores de $5,4 \times 10^{-7}$ a $2,7 \times 10^{-6} \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$, porém são inferiores aos reportados por Rhim (2004), que avaliaram a permeabilidade ao vapor de água de filmes de alginato reticulados e relatam valores de $3,35 \times 10^{-6}$ a $5,33 \times 10^{-6} \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$. Esta diferença na permeabilidade dos filmes pode estar associada, entre outros fatores, ao gradiente de umidade relativa utilizados na determinação deste parâmetro, uma vez que, neste estudo usou-se 2-75 %, enquanto Rhim (2004), utilizaram 0-100 %. Segundo Müller, Laurindo e Yamashita, (2009a) alterações no gradiente de UR (deslocamento para UR próximas à saturação) modificam a permeabilidade ao vapor de água devido às mudanças que ocorrem no coeficiente de solubilidade e no coeficiente efetivo de difusão da água nos filmes. Outro fator que pode interferir na permeabilidade dos filmes

de alginatos se refere à concentração e plastificante empregado, além do método de reticulação e temperatura (BONILLA et al., 2013; GALDEANO et al., 2009; MÜLLER; LAURINDO; YAMASHITA, 2009b; NEŠIĆ et al. 2017; GARCIA et al., 2014).

Tabela 6. Permeabilidade ao vapor de água (K^w) dos filmes com diferentes concentrações do extrato de erva-mate, a 25 °C e 75 % de umidade relativa.

Filme	ALG	ALG10	ALG15	ALG20	ALG25
K^w ($\times 10^{-7}$) ($\text{g.m.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$)*	$3,56 \pm 0,03^a$	$3,62 \pm 0,12^{ab}$	$3,85 \pm 0,17^b$	$4,64 \pm 0,05^c$	$4,59 \pm 0,09^c$

*Valores médios±desvio padrão de determinações em triplicata, médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5 % de significância ($p \leq 0,05$) do teste de Tukey.

Onde, ALG, ALG10, ALG15, ALG20 e ALG25 correspondem a adição de 0, 10, 15, 20 e 25 % (v/v) do extrato de erva-mate, respectivamente.

Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

É importante ressaltar que a adição de mais de 15 % de extrato de erva-mate nos filmes aumentou significativamente ($p \leq 0,05$) a permeabilidade ao vapor de água. O comportamento da permeabilidade está em concordância com os resultados obtidos nas isotermas de adsorção de umidade onde os filmes ALG20 e ALG25 apresentaram maior umidade de equilíbrio quando condicionados a 75 % de umidade relativa (mesma umidade relativa usada para avaliar a K^w). Quando se estabelece o gradiente de UR, para a determinação da permeabilidade em filmes higroscópicos, devido à afinidade do polímero pela água a concentração de interface é considerada a umidade de equilíbrio interferindo significativamente na taxa de permeação (MÜLLER; LAURINDO; YAMASHITA, 2009a, SHIRAI et al. 2013; LAROTONDA et al. 2005; KROCHTA; BALDWIN; NISPEROS-CARRIEDO, 1994).

Jaramillo et al. (2015), observaram que a adição do extrato de erva-mate em filmes de amido de mandioca reduziu os valores de K^w com a adição de 15 % do extrato, os valores diminuiram de $8,8 \pm 0,8 \times 10^{-10}$ do filme sem extrato, para $4,5 \pm 0,4 \times 10^{-10} \text{g.s}^{-1}.\text{m}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$. Reis et al. (2015), elaboraram filmes de amido de mandioca com diferentes concentrações de polpa de manga e extrato de erva-mate, os autores relataram valores de K^w entre $5,74 \times 10^{-8}$ e $9,55 \times 10^{-8} \text{g.mm.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{kPa}^{-1}$ e observaram que a adição mínima dos extratos (2,9 % de polpa de manga e 4,4 % de extrato de erva-mate) aumentou a permeação em 11% com relação ao controle.

5.2.4 Ensaio de tração

Os resultados de tensão, alongação na ruptura e módulo de Young dos filmes de alginato com e sem adição do extrato de erva-mate são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Tensão na ruptura (T_{rup}), alongação na ruptura (ϵ_{rup}) e módulo de Young (Y), dos filmes sem e com adição do extrato de erva-mate.

Filme	T_{rup} (MPa)	ϵ_{rup} (%)	Y (MPa)
ALG	62 ± 8 ^a	5,2 ± 2,0 ^a	3066 ± 283 ^a
ALG10	82 ± 5 ^{bc}	5,0 ± 1,1 ^a	3377 ± 274 ^{ab}
ALG15	80 ± 3 ^{bc}	5,4 ± 0,8 ^a	3464 ± 218 ^{ab}
ALG20	77 ± 10 ^c	4,5 ± 1,2 ^a	3132 ± 445 ^a
ALG25	88 ± 4 ^b	5,9 ± 0,7 ^a	3616 ± 333 ^b

Resultados expressos em média ± desvio padrão.

Letras seguidas com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de significância pelo Teste de Tukey.

Onde, ALG, ALG10, ALG15, ALG20 e ALG25 - filmes de alginato de sódio com a adição de 0, 10, 15, 20 e 25 % de extrato da erva-mate, respectivamente.

Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

A tensão na ruptura mede a resistência ao esforço de um material, quando uma força é aplicada e o alongamento representa a capacidade de um filme para esticar antes de romper (PARK; DAESCHEL; ZHAO, 2004). As propriedades mecânicas de filmes incorporados de extratos são modificadas, pelas características intrínsecas do filme tais como polímero empregado e grau de plastificação, além das características do extrato no que se refere à quantidade adicionada, natureza química do extrato e interações entre matriz e extrato.

Os resultados de tensão na ruptura indicam que a incorporação de extrato de erva-mate nos filmes de alginato afetou significativamente ($p \leq 0,05$) a resistência mecânica sem comprometer a extensibilidade dos mesmos. O maior aumento na resistência à tração em relação ao filme sem extrato foi observado nos filmes ALG25 que apresentaram tensão na ruptura 41 % maior que o filmes controle. Esse comportamento já foi observado por Siripatrawan e Harte (2010) que estudaram filmes de quitosana adicionados de 5, 10 e 15 % de extratos de chá verde e reportam um aumento da tensão de ruptura quando comparados aos filmes controle. Os autores atribuem esse comportamento às interações entre a matriz polimérica e os compostos fenólicos provenientes do

extrato que tornam o filme mais resistente. Por outro lado, Giménez et al. (2013) adicionaram extratos de chá verde em filmes de agar e agar/gelatina observaram uma diminuição da tensão de ruptura e aumento da elongação quando comparados aos filmes controle e atribuem esse comportamento ao um efeito plastificante do compostos fenólicos na matriz polimérica.

Conforme os dados da Tabela 7, a incorporação de extrato de erva-mate nos filmes de alginato não alterou significativamente a elongação na ruptura, indicando que este extrato não atua como plastificante na matriz polimérica de alginato, como observado em outros estudos com filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca com extrato de erva-mate (JARAMILLO et al., 2016; JARAMILLO et al., 2015).

Arrieta et al. (2018), estudaram filmes a base de ácido polilactato (PLA) adicionados de 5 % do extrato de erva-mate à 3 % (m/v) liofilizado, e verificaram que a adição do extrato liofilizado aumentou a rigidez dos filmes (~2000 MPa no filme controle, para 2750 MPa no filme PLA com extrato) e a tensão na ruptura (~27 MPa no filme controle para 50 MPa no filme PLA com extrato), e manteve a elongação (~4 %) sem diferenças significativas ($p \leq 0,05$) quando comparada ao filme controle. Neste caso o extrato, por estar liofilizado, atua como carga e as modificações que os autores observaram são características de filmes compósitos onde as partículas atuam aumentando a resistência e a rigidez.

É importante ressaltar que somente com adição de 25 % de extrato nos filmes de alginato foi observado um aumento na rigidez dos mesmos em relação ao controle. Não foram encontrados trabalhos que avaliem o módulo de Young em filmes de alginato adicionados de extratos de erva-mate. Entretanto, estudos de Norajit, Kim e Ryu (2010) com filmes de alginato observaram uma diminuição da rigidez dos filmes incorporados de extrato de ginseng (raiz das plantas de *Panax* da família Araliaceae), quando comparados aos filmes controle (sem adição de extrato). Estes autores atribuem esse comportamento ao efeito plastificante do extrato empregado na elaboração dos filmes o que é corroborado pelas modificações nas outras propriedades mecânicas avaliadas (diminuição de tensão de ruptura e aumento da elongação) contrariamente ao observado no presente estudo.

Sendo assim, a adição de extrato de erva mate a filmes de alginato promoveu um aumento na resistência mecânica dos filmes, sem alterar a elongação e a rigidez dos mesmos.

5.3 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS *IN VITRO*

A fim de se estudar os mecanismos que interferem na liberação dos compostos fenólicos totais nos filmes de alginato de sódio com extrato de erva-mate, foram realizados ensaios cinéticos de liberação *in vitro*, com quatro simulantes de alimentos, durante 48 h a 40 °C para os simulantes A, B, C e 20 °C para o simulante D, devido sua volatilidade.

Para estes ensaios foram utilizados filmes de alginato com 25 % de extrato de erva-mate (ALG25), este foi escolhido por conter maior quantidade do extrato, além de resultados preliminares mostraram que este filme foi o mais higroscópico e permeável ao vapor de água. Processos estes, que são fundamentais para que ocorram os fenômenos de migração e solubilização do extrato no simulante alimentício. Os resultados dos ensaios de liberação dos compostos fenólicos totais nos simulantes A, B, C e D são apresentados em mg de compostos fenólicos totais liberados em função do tempo (h) (Figura 9).

Os simulantes são solventes ou misturas de solvente que são utilizados para representar uma classe de alimento. Assim o simulante A (água) é utilizado para simular alimentos aquosos com pH > 4,5, o simulante B (etanol 10 % v/v) representa os alimentos que contém álcool, o simulante C (ácido acético a 3 % m/v) representa os alimentos que possuem pH < 4,5 e o simulante D (isooctano P.A) é o solvente mais apolar e representa os alimentos gordurosos.

A diferença de polaridade entre os simulantes ocasionou diferenças nas cinéticas de liberação dos compostos fenólicos, devido ao caráter polar dos compostos fenólicos e a afinidade com o solvente utilizado. O caráter hidrofílico dos simulantes A, B e C ocasionou uma maior liberação dos compostos fenólicos totais, apresentando comportamento de curvas assíntotas (Figura 9). O simulante D de caráter mais hidrofóbico teve um comportamento diferente em relação aos demais, uma vez que, não apresentou curva assíntota característica dos simulantes A, B e C.

O filme ALG25 colocado nos simulantes A, B, C e D apresentaram 58 ± 11 %, 50 ± 11 %, 81 ± 6 % e $19,09 \pm 3$ % de compostos fenólicos totais liberados na primeira hora de ensaio, em relação ao teor total de compostos fenólicos adicionados no filme (2,97 mg), respectivamente. Estes valores também estão relacionados com a natureza hidrofílica da matriz polimérica de alginato de sódio e dos compostos fenólicos totais contidos no extrato de erva-mate. Segundo Ramos et al. (2014), a alta afinidade entre o simulante e o polímero

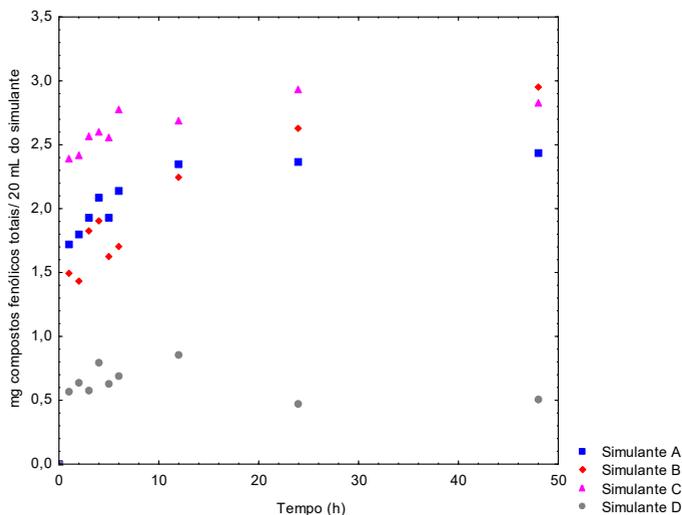
aumenta as taxas de migração dos compostos antioxidantes. Isto ocorre devido ao fenômeno de intumescimento da matriz polimérica que modifica os processos de difusão. Neste processo, o simulante (solvente) é absorvido pela matriz polimérica aumentando a mobilidade, promovendo o intumescimento, e assim, aumentando a taxa de migração do composto bioativo para a fase líquida (simulante).

O filme ALG25 apresentou maior taxa inicial de migração dos compostos fenólicos totais até 24 h de liberação quando utilizou-se o simulante C (solução de ácido acético a 3 % m/v). Este comportamento pode estar associado ao caráter ácido (caráter catiônico) deste simulante, que pode ter favorecido a relaxação das cadeias poliméricas do alginato e desta forma promovido a liberação dos compostos fenólicos. Este comportamento já foi relatado por Ching et al. (2008), onde verificaram que a modificação do pH da solução de liberação em matrizes de alginato de sódio, pode ocasionar a relaxação ou a contração da cadeia polimérica e causam mudanças nos mecanismos de liberação dos compostos ativos. Tendo em vista que, no presente estudo, o alginato passou por uma geleificação iônica, possivelmente quando o filme foi colocado em contato com o excesso de cátions monovalentes (H^+) do simulante C, pode ser que haja interações com os grupamentos $-COO^-$ e $-OH$ do alginato, que causaram um rápido intumescimento da matriz polimérica acarretando uma maior migração de compostos fenólicos totais. Sriamornsak e Kennedy (2006), verificaram que mudanças no pH de 6,8 para 1,2 influenciam no processo de hidratação do alginato de sódio, devido a conversão dos ânions carboxilato (COO^-) em grupos carboxílicos livres ($COOH$) na medida que aumenta a concentração de íons de hidrogênio na solução de liberação. Este efeito pode ser observado já na primeira hora de análise quando, 80,62 % dos compostos fenólicos totais do filme migraram para a solução de ácido acético (pH= 2,5), o que indica que o filme no simulante C tem baixo controle de liberação.

Nos simulantes A e B observa-se uma taxa de liberação intermediária e crescente com relação aos demais simulantes. Porém, o simulante B, ao final da cinética, apresentou a maior liberação de compostos fenólicos totais (98,9 %), em 48 h. Apesar da solução de etanol a 10 % ser considerada um solvente polar, simulante de alimentos alcoólicos e/ou bebidas segundo a norma Européia EN 13130-1:2004, o mesmo possui polaridade intermediária entre a água (simulante A) e o isooctado (simulante D) (JAMSHIDIAN; TEHRANY; DESOBRY, 2012). Estas características de polaridade do simulante influenciam no processo de liberação dos compostos fenólicos contidos na matriz

polimérica para o solvente. Alguns estudos que avaliaram processos de extração de compostos fenólicos de matrizes vegetais indicam que as soluções binárias de etanol e água, combinadas com temperaturas médias promovem maior eficiência de extração de compostos fenólicos totais (RODRÍGUEZ-CABO et al., 2018; DO et al., 2014). Esse comportamento foi observado por Turkmen, Sari e Velioglu (2006), que extraíndo compostos fenólicos de erva-mate reportam os melhores resultados quando utilizaram soluções de etanol-água a 25°C quando comparado à extração com água na mesma temperatura.

Figura 9. Cinética de liberação dos compostos fenólicos totais presentes no filme ALG25 em sistemas acelerados com os simulantes A, B, C e D.



Onde, simulante A, B, C e D, correspondem a água, etanol a 10 %, ácido acético a 3 % e isooctano P.A.

Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

Devido à natureza mais apolar do isooctano utilizado como simulante de alimentos gordurosos (simulante D), neste solvente a liberação dos compostos fenólicos, além de mais lenta, após 48h, a quantidade liberada foi menor quando comparada as liberações realizadas nos outros simulantes avaliados.

Finalmente, é importante ressaltar que os filmes com 25 % de extrato de erva-mate apresentaram maiores taxas de liberação em meios aquosos indicando que podem ser utilizados como embalagens ativas em alimentos hidrofílicos ácidos ou não, com a finalidade de atuar como

antioxidantes naturais, evitando ou retardando as reações de oxidação de compostos presentes nestes alimentos. Além disso, mesmo com baixas taxas de liberação em sistemas apolares, estes filmes poderão ser utilizados em alimentos lipídicos com a mesma finalidade. Como exemplo prático, esta embalagem poderia ser aplicada em queijos, embutidos cárneos, castanhas e nozes, entre outros produtos alimentícios que são susceptíveis a degradação oxidativa.

5.3.1 Modelagem matemática

Com a finalidade de determinar as taxas e influência relativa dos mecanismos de transferência de massa na liberação dos compostos fenólicos contidos nos filmes de alginato, foram ajustados os modelos empíricos de Higuchi, Korsmeyer e Peppas e Sahlin aos dados experimentais cinéticos de liberação para os simulantes A (Figura 10), B (Figura 11), C (Figuras 12) e D (Figuras 13). A qualidade dos ajustes foi avaliada através da análise dos resíduos dos modelos (Anexos D, E, F e G), do coeficiente de determinação (R^2), do desvio médio quadrático (DMQ) e o Teste Qui-Quadrado (X^2) para cada modelo, cujos resultados são apresentados na Tabela 8.

Observa-se que o modelo que melhor se ajustou aos resultados experimentais foi o modelo de Peppas e Sahlin, para todos os simulantes estudados, uma vez que, este modelo apresentou resíduos não tendenciosos, os maiores coeficientes de determinação (R^2) e os menores valores de DMQ e X^2 , quando comparado aos demais modelos avaliados. Porém, ao avaliar o modelo de Peppas e Sahlin entre os simulantes estudados, observa-se que o simulante D teve o menor ajuste. Esta diferença de ajuste está associada ao comportamento da liberação dos compostos fenólicos do simulante D, que teve as menores taxas de liberação e não apresentou curva característica (assíntota) quando comparado aos demais simulantes.

O modelo de Higuchi não se ajustou aos resultados experimentais para todas as condições avaliadas, o que pode estar relacionado à que este modelo descreve o mecanismo difusional sem considerar as formas de transporte ocasionadas pela relaxação/erosão da matriz polimérica. Por outro lado, o modelo de Korsmeyer (1981) que se ajustou melhor aos dados experimentais que o modelo de Higuchi, considera as duas formas de transporte de massa. Porém, o modelo não se ajustou aos dados experimentais do simulante D, que apresentou as menores taxas de liberação. Portanto, os melhores ajustes em ordem decrescente foram Peppas e Sahlin > Korsmeyer > Higuchi, logo, podemos considerar um

forte indício de que os processos de liberação dos compostos fenólicos contidos em filmes de alginato ocorrem tanto pelos mecanismos difusivos quanto por mecanismos de relaxação/erosão.

O modelo de Peppas e Sahlin (1989) foi proposto com a finalidade de quantificar as contribuições dos processos de difusão Fickiana e dos processos de erosão/relaxação na liberação de fármacos contidos em matrizes poliméricas. Neste modelo, os parâmetros K1 e K2 estão associados à contribuição difusional e relaxação, respectivamente. Os maiores valores de K1 quando comparados aos valores de K2, observados em todos os simulantes indicam que, embora ocorram processos de transferência de massa associados à relaxação/erosão das cadeias poliméricas, o processo que domina o transporte de massa através da matriz é difusional.

No que se refere aos valores dos parâmetros estimados observa-se que, por ser uma taxa com expoente m é difícil comparar com outras referências a não ser em termos de grandeza e no mesmo sistema. Se considerarmos os sistemas avaliados neste estudo observa-se que o maior valor de K1 foi observado no sistema de liberação com o simulante C, conforme observado nos resultados experimentais indicando que o modelo representou adequadamente estes sistemas. Além disso, este sistema apresentou o maior valor de K2 indicando que neste sistema houve uma contribuição relativa maior dos processos de relaxação/erosão no transporte de massa dos compostos fenólicos através da matriz de alginato. Este comportamento, conforme discutido anteriormente pode estar associado ao efeito do meio de liberação (ácido) sobre as cadeias macromoleculares do alginato conforme observado por Chan e Neufeld (2009), e Sriamornsak e Kennedy (2006).

Tabela 8. Ajuste dos modelos aplicados aos dados experimentais e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2), desvios quadráticos médios (DMQ) e teste Qui-Quadrado (X^2).

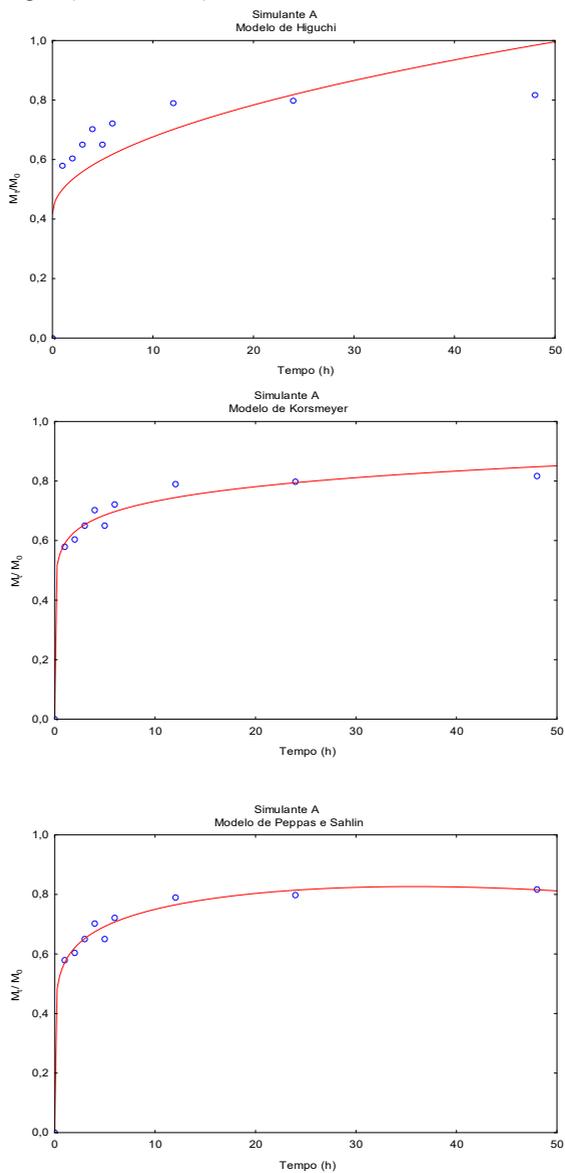
Simulantes	Modelos	Parâmetros ¹						R^2	DMQ	X^2
		K	b	N	K1	K2	m			
A	Higuchi	0,0818	0,4177	-	-	-	-	0,6987	0,1600	0,0288
	Korsmeyer	0,5903	0,0008	0,0938	-	-	-	0,9935	0,0250	0,0007
	Peppas e Sahlin	-	-	-	0,5711	-0,0003	0,1208	0,9960	0,0212	0,0005
B	Higuchi	0,1178	0,2919	-	-	-	-	0,8870	0,1179	0,0156
	Korsmeyer	0,4456	0,0045	0,2047	-	-	-	0,9837	0,0483	0,0026
	Peppas e Sahlin	-	-	-	0,4589	0,0001	0,1882	0,9841	0,0476	0,0026
C	Higuchi	0,0842	0,5804	-	-	-	-	0,5927	0,2204	0,0546
	Korsmeyer	0,8117	-0,0002	0,0502	-	-	-	0,9960	0,0231	0,0006
	Peppas e Sahlin	-	-	-	0,7954	0,0005	0,0680	0,9973	0,0212	0,0005
D	Higuchi	0,0089	0,1695	-	-	-	-	0,2277	0,0740	0,0062
	Korsmeyer	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Peppas e Sahlin	-	-	-	0,2065	-0,0008	0,0567	0,9010	0,0339	0,0013

¹Correspondem aos coeficientes dos ajustes dos modelos matemáticos.

Onde, A: liberação no simulante A (água); B: liberação no simulante B (etanol); C: liberação no simulante C (ácido acético); e D: liberação no simulante D (isooctano).

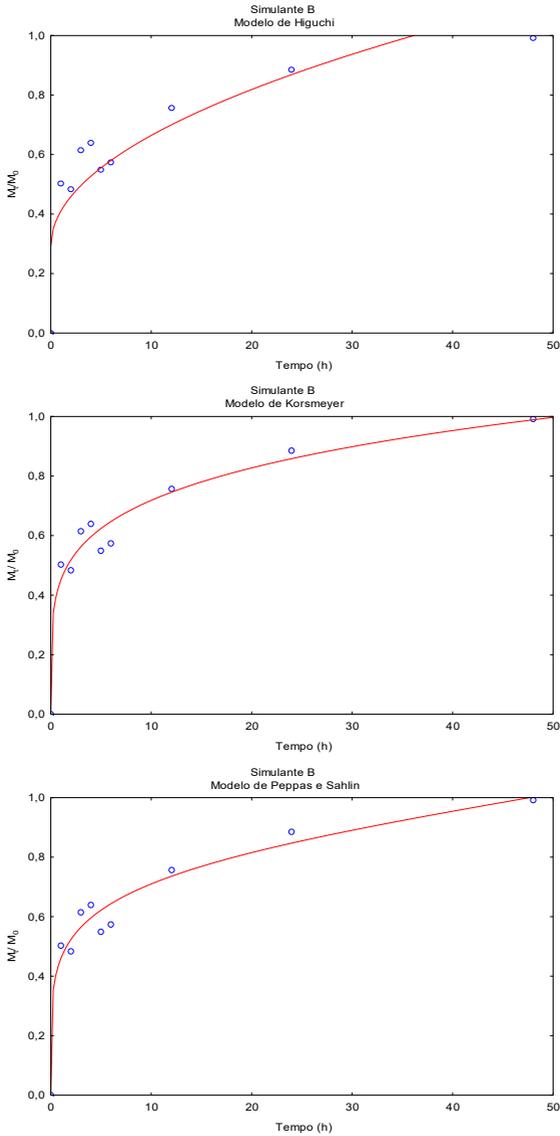
Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

Figura 10. Ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais da liberação em água (Simulante A).



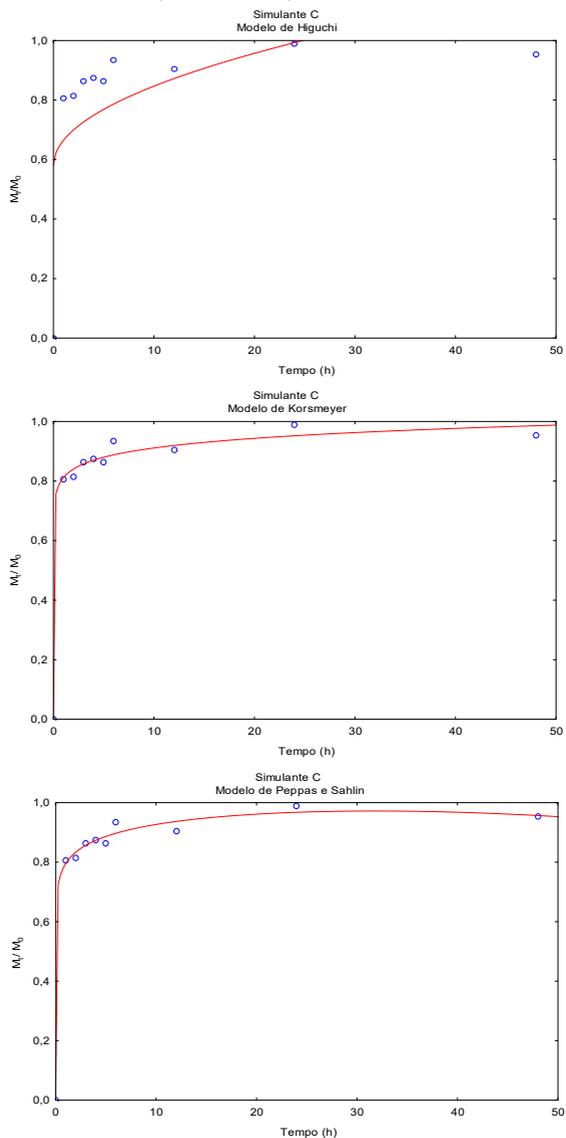
Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

Figura 11. Ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais da liberação em etanol (Simulante B).



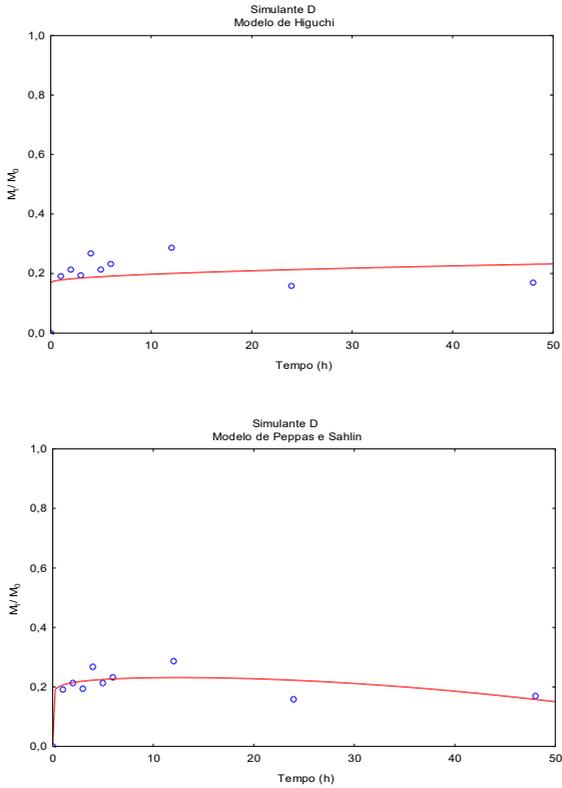
Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

Figura 12. Ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais da liberação em ácido acético (Simulante C).



Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

Figura 13. Ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais da liberação em isoctano (Simulante D).



Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

6 CONCLUSÕES

O método utilizado para elaboração do extrato de erva-mate (90 °C/ 3 min) foi eficiente para extração dos compostos fenólicos totais presentes nas folhas de *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire e apresentaram elevada atividade antioxidante determinada pelos métodos do DPPH e FRAP.

Os filmes de alginato de sódio, com e sem extrato de erva-mate apresentaram características subjetivas de filmes homogêneos, flexíveis, e sem rachaduras. Nas micrografias (obtidas por MEV), observou-se que a incorporação do extrato de erva-mate nos filmes aumentou a formação de poros e o filme ALG25 apresentou a superfície mais rugosa quando comparado aos demais.

Observou-se nas isotermas de adsorção que os filmes ALG20 e ALG25 apresentaram maiores valores para X_{eq} (g de água/ g de sólido seco) em todas as atividades de água analisadas. As isotermas foram classificadas como sigmoide tipo II. O modelo de GAB teve um melhor ajuste aos dados experimentais quando comparado com o modelo de BET. A incorporação de até 20 % de extrato reduziu a umidade na monocamada X_m quando comparados com o filme controle. A permeabilidade ao vapor de água aumentou com o aumento da concentração de extrato no filme. A adição de mais de 15 % de extrato na matriz polimérica teve diferença significativa quando comparado ao filme controle.

As propriedades mecânicas avaliadas pelo ensaio de tração mostraram que o parâmetro da tensão na ruptura teve um efeito significativo ($p \leq 0,05$) com a incorporação do extrato de erva-mate, o que tornou os filmes mais resistentes. Porém, a adição do extrato não comprometeu a elongação da ruptura, e apenas a adição de 25 % do extrato de erva-mate promoveu um aumento significativo na rigidez ($p \leq 0,05$), observada pelo módulo de Young.

Quanto à cinética de liberação dos compostos fenólicos totais da matriz polimérica, verificou-se que o filme ALG25 apresentou maior taxa de liberação nos simulantes mais hidrofílicos. O simulante C apresentou maior taxa de liberação na primeira hora e ao final das 48 horas de ensaio, o simulante B liberou 98,9 % do total de compostos fenólicos adicionados no filme. O simulante D de caráter mais apolar obteve as menores taxas de liberação durante todo ensaio. O modelo de Peppas e Sahlin foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais da cinética e descreveu o processo de transferência de massa do filme como difusivo e de relaxação/erosão da matriz polimérica, mas segundo os

valores dos parâmetros de K_1 e K_2 estimados pelo modelo, o mecanismo predominante é o difusivo.

Contudo, as embalagens desenvolvidas neste estudo apresentam potencial para uso como embalagem bioativa. Em virtude das suas propriedades de barreira e mecânicas, e ainda, por apresentar elevada taxa liberação dos compostos fenólicos totais em sistemas hidrofílicos, o filme ALG25 seria indicado para uso como embalagem biodegradável ativa, podendo atuar como sistema de liberação controlada de antioxidante natural em alimentos, como por exemplo, em queijos, embutidos cárneos, nozes, castanhas ou qualquer outro alimento que seja susceptível a degradação oxidativa.

REFERÊNCIAS

ACHAKZAI, A. K. ; ACHAKZAI, P.; MASOOD, A.; KAYANI, S. A.; TAREEN, R. B. Response of plant parts and age on the distribution of secondary metabolites on plants found in quetta. **Pak. J.Bot.**, v. 41, n. 5, p. 2129-2135, 2009.

ACOSTA, S.; CHIRALT, A.; SANTAMARINA, P.; ROSELLO, J.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHÁFER, M. Antifungal films based on starch-gelatin blend, containing essential oils. **Food Hydrocolloids**, v.61, p. 233-240, 2016.

ADILAH, Z. A. M.; JAMILAH, B.; HANANI, Z. A. N. Functional and antioxidant properties of protein-based films incorporated with mango kernel extract for active packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 207-218, 2018.

AGUIRRE-LOREDO, R. Y.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, A.I.; MORALES-SÁNCHEZ, E.; GÓMEZ-ALDAPA, C. A.; VELAZQUEZ, G. Effect of equilibrium moisture content on barrier, mechanical and thermal properties of chitosan films. **Food Chemistry**, v. 196, p. 560–566, 2016.

AKCAN, T.; ESTÉVEZ, M.; SERDAROĞLU, M. Antioxidant protection of cooked meatballs during frozen storage by whey protein edible films with phytochemicals from *Laurus nobilis* L. and *Salvia officinalis*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 323-331, 2017.

ALBERTOS, I.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MARTÍN-DIANA, A. B.; DU, W. X.; RICO, D.; MCHUGH, T. H. Antimicrobial Olive Leaf Gelatin films for enhancing the quality of cold smoked Salmon. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 13, p. 49–55, 2017.

ALDANA, D. S.; ANDRADE-OCHOA, S.; AGUILAR, C. N.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C.; NEVÁREZ-MOORILLÓN, G. V. Antibacterial activity of pectic-based edible films incorporated with Mexican lime essential oil. **Food Control**, v. 50, p. 907-912, 2015.

AL-MUHTASEB, A.H.; MCMINN, W.A.M.; MAGEE, T.R.A. Moisture sorption isotherm characteristics of food products: a review. **Trans IChem E.**, v. 80, p. 118-128, 2002.

AL-MUHTASEB, A.H.; MCMINN, W.A.M.; MAGEE, T.R.A. Water sorption isotherms of starch powders Part 1: mathematical description of experimental data. **Journal of Food Engineering**, v.61, p. 297–307, 2004.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). **D6400**: Standard Specification for Labeling of Plastics Designed to be Aerobically Composted in Municipal or Industrial Facilities, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012.

_____. **D882-12**: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012.

_____. **E96-00**: Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2000.

ANDERSEN, T.; FOGH, J. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v.14, p. 243-250, 2001.

ANDRADE-MOLINA, T.P.C., SHIRAI, M.A., GROSSMANN, M.V.E., YAMASHITA, F. Activebiodegradable packaging for fresh pasta. **LWT Food Sci. Technol.**v. 54, p. 25–29, 2013.

ANESINI, C.; TURNER, S.; COGOI, L.; FILIP, R. Study of the participation of caffeine and polyphenols on the overall antioxidant activity of mate (*Ilex paraguariensis*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 45, p. 299-304, 2012.

APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 3, p. 113-126, 2002.

ARNOUS, A.; MAKRIS, D.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 655 – 665, 2002.

ARRIETA, M.P.; PEPONI, L.; LÓPEZ, D.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, M. Recovery of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) residue for the development of PLA-based bionanocomposite films. **Industrial Crops & Products**, v.111, p. 317–328, 2018.

ARRUDA, D.C.; D'ALEXANDRI, F.L.; KATZIN, A.M.; ULIANA, S.R. Antileishmanial activity of the terpenenerolidol. **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 49, p. 1679–1687, 2005.

ASHOKKUMAR, K.; SELVARAJ, K.; DEVI, K. M. S. Reverse phase-high performance liquid chromatography-diode array detector (RP-HPLC-DAD) analysis of flavonoids profile from curry leaf (*Murraya koenigii*. L). **Journal of Medicinal Plants Research**. v. 7, n. 47, p. 3393-3399, 2013.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC). **Official Methodos os Analytical Chemist Internacional**, Washington (DC), 2005.

AVEROUS, L.; BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p. 111–122, 2004.

BANERJEE, R.; VERMA, A. K.; SIDDIQUI, M. W. **Natural Antioxidants: Applications in Foods of Animal Origin**. 1 ed. New York: Apple Academic Press, 2017.

BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; SHIMIDT, S.; FONTANA, A. **Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2008.

BEKIN, S.; SARMA, S.; GÜRKAN, K.; YENICI, G.; KEÇELI, G.; GÜRDAG, G. Dielectric, Thermal, and Swelling Properties of Calcium Ion-Crosslinked Sodium Alginate Film. **Polymer Engineering and Science**. v. 54, n. 6, p. 1372–1382, 2014.

BENAVIDES, S.; VILLALOBOS-CARVAJAL, R.; REYES, J. E. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. **Journal of Food Engineering**, v.110, n. 2, p. 232-239, 2012.

BENERJEE, R.; VERMA, A. K.; SIDDDIQUI, M. W. **Natural Antioxidants: Applications in Food of Animal Origin**. Ed. Apple Academic Press Inc., 2017.

BENNETT, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defence Mechanisms. **Vm Phytol.**, v.127, p. 617-633, 1994.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN. J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70–76, 1996.

BERTÉ, K. A. S.; BEUX, M. R.; SPADA, P. K. W. D. S.; SALVADOR, M.; HOFFMANN-RIBANI, R. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Yerba-Mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil., Aquifoliaceae) Extract as Obtained by Spray Drying. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, p. 5523–5527, 2011.

BIERHALZ, A. C. K.; SILVA, M. A.; BRAGA, M.E.M.; SOUSA, H. J.C. KIECKBUSCH, T. G. Effect of calcium and/or barium crosslinking on the physical and antimicrobial properties of natamycin-loaded alginate films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, p. 494-501, 2014

BIZZOTTO, C. S.; MEINHART, A. D.; RYBKA, A. C. P.; SOBRINHO, M. R.; BOGUSZ JUNIOR, S.; BALLUS, C.A.; GODOY, H.T. Quantification of phenolic compounds by capillary zone electrophoresis in extracts of four commercial types of mate herb before and after acid hydrolysis. **Food Research International**, v.48, p. 763–768, 2012.

BLUM-SILVA, C. H.; CHAVES, V.C.; SCHENKEL, E. P.; COELHO, G. C.; REGINATTO, F. H. The influence of leaf age on methylxanthines, total phenolic content, and free radical scavenging capacity of *Ilex paraguariensis* aqueous extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 1–6, 2015.

BOAVENTURA, B. C. B.; MURAKAMI, A. N. N.; PRUDÊNCIO, E. S.; MARASCHIN, M.; MURAKAMI, F. S.; AMANTE, E. R.; AMBONI, R. D. M. C. Enhancement of bioactive compounds content and antioxidant activity of aqueous extract of mate (*Ilex paraguariensis*

A. St. Hil.) through freeze concentration technology. **Food Research International**, v. 53, p. 686–692, 2013.

BOAVENTURA, B. C. B.; AMBONI, R. D. M. C.; SILVA, E. L.; PRUDENCIO, E. S.; PIETRO, P. F.D.; MALTA, L. G.; POLINATI, R. M.; LIU, R. H. Effect of in vitro digestion of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) extract on the cellular antioxidant activity, antiproliferative activity and cytotoxicity toward HepG2 cells. **Food Research International**, v. 77, p. 257–263, 2015.

BONILLA, J.; TALÓN, E.; ATARÉS, L.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch–chitosan films. **Journal of Food Engineering**, v. 118 p. 271–278, 2013.

BONILLA, J.; FORTUNATI, E.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A.; KENNY, J.M. Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinylalcohol-chitosan biodegradable films. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 463-470, 2014.

BONILLA, J.; SOBRAL, P.J.A. Investigation of the physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan edible film mixed with plant ethanolic extracts. **Food Bioscience**, v. 16, p. 17–25, 2016.

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, p. 393–405, 2007.

BRASIL. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 15448**: Embalagens plásticas degradáveis e/ou de fontes renováveis. Parte 2: Biodegradação e compostagem - requisitos e métodos de ensaio. 1 ed. Rio de Janeiro: Brasil, 2008.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E. M. ; MÉLO, T. J. A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.6, n. 2, p. 127-139, 2011.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. **J.Chem. SOL**, v.60, p. 309-319, 1936.

BUTIUK, A. P.; MARTOS, M. A.; ADACHI, O.; HOURS, R. A. Study of the chlorogenic acid content in yerba mate (*Ilexparaguariensis* St. Hil.): Effect of plant fraction, processing step andharvesting season. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v.3, p. 27–33, 2016.

CALATAYUD, M.; LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; LÓPEZ-CARBALLO, G.; VÉLEZ, D. MUÑOZ, P. H.; GAVARA, R. Active films based on cocoa extract with antioxidant, antimicrobial and biological applications. **Food Chemistry**, v. 139, p. 51–58, 2013.

CAMPOS, M.I. **Polihidroxicanoatos (PHAS) obtidos a partir da glicerina bruta residual do biodiesel (GBRB): produção, otimização, cinética e propriedades**. Tese apresentada ao Programa de Pos-Graduacao em Engenharia Química da Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2013.

CARDOZO JR, E. L.; FERRARESE FILHO, O.; CARDOZO FILHO, L.; FERRARESE, M. L. L.; DONADUZZI, C. M.; STURION, J. A. Methylxanthines and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) progenies grown in Brazil. **Journal of Food Composition andAnalysis**, v. 20, p. 553-558, 2007.

CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍREZ, J. A.; VÁZQUEZ, M. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, p. 136-148, 2017.

CHAN, A.W.; NEUFELD, R. J. Modeling the controllable pH-responsive swelling and pore size of networked alginate based biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, p. 6119–6129, 2009.

CHANG-BRAVO, L.; LOPEZ-CORDOBA, A.; MARTINO, M. Biopolymeric matrices made of carrageenan and corn starch for the antioxidant extracts delivery of Cuban red propolis and yerba mate. **Reactive & Functional Polymers**, v. 85, p.11–19, 2014.

CHAURASIA, V.; BAJPAI, S. K. Moisture Uptake Behavior, Antibacterial Property, and Heat of Sorption of Nano Silver-Loaded

Calcium Alginate Films. **International Journal of Polymeric Materials**, v. 62, p. 119–127, 2013.

CHING, A. L.; LIEW, C. V.; CHAN, L. W.; HENG, P. W. S. Modifying matrix micro-environmental pH to achieve sustained drug release from highly laminating alginate matrices. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 33, p. 361–370, 2008.

CHIRINOS, R.; ROGEZ, H.; CAMPOS, D.; PEDRESCHI, R.; LARONDELLE, Y. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. **Separation and Purification Technology**, v. 55, p. 217–225, 2007.

COLPO, A. C.; ROSA, H.; LIMA, M. E.; PAZZINI, C. E. F.; CAMARGO, V. B.; BASSANTE, F. E.M.; PUNTEL, R.; ÁVILA, D. S.; MENDEZ, A.; FOLMER, V. 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, 2016.

COSTA, P.; SOUSA LOBO, J.M. Modelling and comparison of dissolution profiles. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 13, n. 2, p. 123-133, 2001.

COUPLAND, J. N.; SHAW, N. B.; MONAHAN, F. J.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. **Journal of Food Engineering**, v.43, p. 25-30, 2000.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**.4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DIAS, A.B.; MÜLLER, C. M.O.; LAROTONDA, F.D.S.; LAURINDO, J. B. Mechanical and barrier properties of composite films based on rice flour and cellulose fibers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 535-542, 2011.

DO, Q.D.; ANGKAWIJAYA, A. E.; TRAN-NGUYEN, P. L.; HUYNH, L. H.; SOETAREDJO, F. E.; ISMADJI, S.; JU, Y.H. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and

antioxidant activity of *Limnophila aromática*. **Journal of food and drug analysis**, v. 22, p. 296 -302, 2014.

DRAGET, K. I.; SKJÅK BRÆK, G., SMIDSRØD, O. Alginic acid gels: the effect of alginate chemical composition and molecular weight. **Carbohydrate Polymers**, v. 25, p. 31-38, 1994.

DUDONNÉ, S.; VITRAC, X.; COUTIÈRE, P.; WOILLEZ, M.; MÉRILLON, J.M. Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. **J. Agric. Food Chem.** v. 57, p. 1768–1774, 2009.

DUGO, P.; CACCIOLA, F.; DONATO, P.; JACQUES, R.A.; CARAMAO, E. B.; MONDELLO, L. High efficiency liquid chromatography techniques coupled to mass spectrometry for the characterization of mate extracts. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 7213–7221, 2009.

ESPITIA, P. J. P.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; DU, W. X.; TEÓFILO, R. F.; SOARES, N. F.F.; MCHUGH, T. H. Optimal antimicrobial formulation and physical–mechanical properties of edible films based on ac,ai´ and pectin for food preservation. **Food packaging and shelf life**. v. 2, p. 38 – 49, 2014 .

ERTESVÅG, H.; VALLA, S. Biosynthesis and applications of alginates. **Polymer Degradation and Stabilit**, v. 59, p. 85-91, 1998.

FABRA, M.J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Water sorption isotherms and phase transitions of sodium caseinate–lipid films as affected by lipid interactions. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 384–391, 2010.

FECHINE, G. J. M. **Polímeros biodegradáveis: tipos, mecanismos, normas e mercado mundial**.118p., Editora Mackenzie, 2013. ISBN: 9788582930243.

FERREIRA, F.; VÁZQUEZ, A.; GÜNTNER,C.; P. MOYNA. Inhibition of the Passive Diffusion of Cholic Acid by the *Ilex paraguariensis* St. Hil.Saponins.**Phytotherapy Research**, v. 11, p. 79–81, 1997.

FILIP, R.; LOTITO, S.B.; FERRARO, G.; FRAGA, C.G. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v. 20, n. 10, p. 1437-1446, 2000.

FILIP, R.; LÓPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, p. 774-778, 2001.

FILIP, R.; SEBASTIAN, T.; FERRARO, G.; ANESINI, C. Effect of *Ilex* extracts and isolated compounds on peroxidase secretion of rat submandibular glands. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 649-655, 2007.

FRANKLIN, M.J.; DOUTHIT, S.A.; McCLURE, M.A. Evidence that the algI/algJ gene cassette, required for O acetylation of *Pseudomonas aeruginosa* alginate, evolved by lateral gene transfer. **J Bacteriol**, v. 186, p. 4759-73, 2004.

FRIZON, C. N.T.; OLIVEIRA, G. A.; PERUSSELLO, C. A.; PERALTA-ZAMORA, P. G.; CAMLOFSKI, A.M.O.; ROSSA, Ü.B.; HOFFMANN-RIBANI, R. Determination of total phenolic compounds in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) combining near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate analysis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, p. 795-801, 2015.

GALDEANO, M. C.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F.; GARCÍA, M.A. Effects of plasticizers on the properties of oat starch films. **Materials Science and Engineering C**, v. 29, p. 532–538, 2009.

GALUS, S.; KADZINSKA, J. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, p. 273-283, 2015.

GAO, C.; POLLET, E.; AVÉROUS L. Properties of glycerol-plasticized alginate films obtained by thermomechanical mixing. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 414 – 42, 2017.

GARCIA-CRUZ, C. H.; FOGGETTI, U.; SILVA, A. N. Alginato bacteriano: Aspectos tecnológicos, características e produção. **Quim. Nova**, v. 31, n. 7, p. 1800-1806, 2008.

GARCIA, P. S.; GROSSMANNA, M. V. E.; SHIRAI, M. A.; LAZARETTI, M. M.; YAMASHITA, F.; MÜLLER, C. M.O.; MALI, S. Improving action of citric acid as compatibiliser in starch/polyester blown films. **Industrial Crops and Products**, v.52, p. 305– 312, 2014.

GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ DE LACEY, A.; PÉREZ-SANTÍN, E.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; MONTERO, P. Release of active compounds from agar and agaregelatin films with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 264-271, 2013.

GNOATTO, S. C. B.; BASSANI, V. L.; COELHO, G. C.; SCHENKEL, E.P. Influência do método de extração nos teores de metilxantinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. ST. HIL., AQUIFOLIACEAE). **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 304-307, 2007.

GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; IHL, M.; BIFANI, V.; SILVA, A.; MONTERO, P. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz). **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1133–1143, 2007.

GÓMEZ-JUARISTI, M., MARTÍNEZ-LÓPEZ, S., SARRIA, B., BRAVO, L., MATEOS, R. Absorption and metabolism of yerba mate phenolic compounds in humans, **Food Chemistry**, v. 240, p. 1028-1038, 2018.

GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; CATALÁ, R.; GAVARA, R. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, p. 42-51, 2014.

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

GONZÁLEZ, N.; ELISSETCHE, J.; PEREIRA, M.; FERNÁNDEZ, K. Extraction of polyphenols from *Eucalyptus nitens* and *Eucalyptus globulus*: Experimental kinetics, modeling and evaluation of their antioxidant and antifungal activities. **Industrial Crops & Products**, v. 109, p. 737–745, 2017.

GORZALCZANY, S.; FILIP, R.; ALONSO, M. R. Choleric effect and intestinal propulsion of 'mate' (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 75, p. 291-294, 2001.

GUGLIUCCI, A.; MENINI, T. The botanical extracts of *Achyrocline satureoides* and *Ilex paraguariensis* prevent methylglyoxal-induced inhibition of plasminogen and antithrombin III. **Life Science**, v. 72, p. 279-292, 2002.

GÜLÇİN, İ. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. **Life Sci.**, v. 78, n. 8, p. 803-11, 2006.

HAN, J.H., Antimicrobial food packaging. In: AHVENAINEN, R. **Novel Food Packaging Technologies**. 1 ed. Cambridge: CRC Press LLC, 2003. p. 50–70.

HAN, J. **Innovations in Food Packaging**. 1 ed. Cambridge: Copyright, 2005. 503 p.

HAN, Y.; YU, M.; WANG, L. Physical and antimicrobial properties of sodium alginate/carboxymethyl cellulose films incorporated with cinnamon essential oil. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 15, p. 35-42, 2018.

HARBONE, J. B. **Biochemistry of phenolic compounds**. London: Academic Press, 1964. 618 p.

HAZIRAH, M.A.S.P. N.; ISA, M.I.N.; SARBON, N.M. Effect of xanthan gum on the physical and mechanical properties of gelatin-carboxymethyl cellulose film blends. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 9, p. 55–63, 2016.

HECK, C. I.; MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, p. 138–151, 2007.

HECK, C. I.; SCHMALKO, M.; MEJIA, E. G. Effect of Growing and Drying Conditions on the Phenolic Composition of Mate Teas (*Ilex paraguariensis*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 8394–8403, 2008.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 231-240, 2008.

HOSSEINI, S. F.; JAVIDI, Z.; REZAEI, M. Efficient gas barrier properties of multi-layer films based on poly(lactic acid) and fish gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 1205–1214, 2016.

HUTZLER, P.; FISCHBACH, R.; HELLER, W.; JUNGBLUT, T. P.; REUBER, S.; SCHMITZ, R.; VEIT, M.; WEISSENBOCK, G.; SCHNITZLER, J. P. Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, n. 323, p. 953–965, 1998.

IMESON, A. **Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents**. 1 ed. Inglaterra: BioPolymer, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. Sao Paulo: IMESP, 1985. p. 27.

ISOLABELLA, S.; COGOL, 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, p. 695–699, 2010.

IVANOVIC, J.; DIMITRIJEVIC-BRANKOVIC, S.; MISIC, D.; RISTIC, M.; ZIZOVIC, I. Evaluation and improvement of antioxidant and antibacterial activities of supercritical extracts from clove buds. **Journal of functional foods**, v. 5, p. 416 – 423, 2013.

JACQUES, R. A.; ARRUDA, E. J.; OLIVEIRA, L. C. S.; OLIVEIRA, A. P.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, J. V.; CARAMÃO, E. B. Influence of Agronomic Variables on the Macronutrient and Micronutrient Contents

and Thermal Behavior of Mate Tea Leaves (*Ilex paraguariensis*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 7510-7516, 2007.

JARAMILLO, C. M.; SELIGRA, P. G.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Biofilms based on cassava starch containing extract of yerba mate as antioxidant and plasticizer. **Starch journal**, v. 67, p. 780–789, 2015.

JARAMILLO, C. M.; GUTIÉRREZ, T. J.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 150–159, 2016.

JAMSHIDIAN, M.; TEHRANY, E. A.; DESOBRY, S. Release of synthetic phenolic antioxidants from extruded poly lactic acid (PLA) film. **Food Control**, v. 28 p. 445-455, 2012.

JOST, V.; KOBOSIK, K.; SCHMID, M.; NOLLER, K. Influence of plasticiser on the barrier, mechanical and greaseresistance properties of alginate cast films. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 309–319, 2014.

JUÁREZ, G. A. P.; SPASOJEVIC, M.; FAAS, M. M.; VOS, P. Immunological and technical considerations in application of alginate-based microencapsulation systems. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 2, p. 1-15, 2014.

KANG, Y. R.; LEE, H. Y.; KIM, J. H.; MOON, D. I.; SEO, M. Y.; PARK, S. H.; CHOI, K. H.; KIM, C. R.; KIM, S. H.; OH, J. H.; CHO, S. W.; KIM, S. Y.; KIM, M. G.; CHAE, S. W.; KIM, O.; OH, H. G. Anti-obesity and anti-diabetic effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. **Lab Anim Res**, v. 28, n. 1, p. 23-29, 2012.

KANMANI, P.; RHIM, J. W. Antimicrobial and physical-mechanical properties of agar-based films incorporated with grapefruit seed extract. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 708– 716, 2014.

KIM, Y. K.; GUO, Q.; PACKER, L. Free radical scavenging activity of red ginseng aqueous extracts. **Toxicology**, v. 172, p. 149-156, 2002.

KROCHTA, J. M.; BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. O. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**. ISBN: 1-56676-113-1. CRC Press LLC. 1994.

KROCHTA, J. M., DE MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, v.51, n.2, p.61–74, 1997.

KORSMEYER, R.W.; GURNY, R.; DOELKER, E.; BURI, P.; PEPPAS, N.A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **Int. J. Pharm.**, v. 15, n. 1, p. 25-35, 1983.

LAROTONDA, F.D.S.; MATSUI, K.N.; SOBRAL, P.J.A.; LAURINDO, J.B. Hygroscopicity and water vapor permeability of Kraft paper impregnated with starch acetate. **Journal of Food Engineering**, v. 71, p. 394–402, 2005.

LECETA, I.; ARANA, P.; GUERRERO, P.; DE LA CABA, K. Structure–moisture sorption relation in chitosan thin films. **Materials Letters**, v.128, p. 125–127, 2014.

LEE, D. S. Antioxidative Packaging System. In: HAN, J. H. **Innovations in Food Packaging**. 2 ed. Londres, 2014. p. 111-131.

LI, J.; HE, J.; HUANG, Y.; LI, D.; CHEN, X. Improving surface and mechanical properties of alginate films by using ethanol as a co-solvent during external gelation. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 208–216, 2015.

LIMA, N. S.; OLIVEIRA, E.; SILVA, A. P. S.; MAIA, L. A.; MOURA, E. G.; LISBOA, P.C. Effects of *Ilex paraguariensis* (yerba mate) treatment on leptin resistance and inflammatory parameters in obese rats primed by early weaning. **Life Sciences**, v. 115, p. 29–35, 2014.

LOPES, C.M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005.

LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; GÓMEZ-ESTACA, J.; CATALÁ, R.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Active antioxidant

packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**, v. 131, p. 1376–1384, 2012.

LÓPEZ, D.; MÁRQUEZ, A.; GUTIÉRREZ-CUTIÑO, M.; VENEGAS-YAZIGI, D.; BUSTOS, R.; MATIACEVICH, S. Edible film with antioxidant capacity based on salmon gelatin and boldine. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 160-169, 2017.

LUNCEFORD, N.; GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. **Fitoterapia**, v. 76, p. 419-427, 2005.

LUZ, A. B. G.; SILVA, C. H. B.; NASCIMENTO, M. V. P. S.; FACCHIN, B. M. C.; BARATTO, B.; FRÖDE, T. S.; REGINATTO, F. H.; DALMARCO, E. M. The anti-inflammatory effect of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil (Mate) in a murine model of pleurisy. **International Immunopharmacology**, v. 36, p. 165–172, 2016.

MADERUELO, C.; ZARZUELO, A.; LANA O, J. M. Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. **Journal of Controlled Release**, v. 154, p. 2–19, 2011.

MADSEN, H. L.; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, p. 271-277, 1995.

MARQUES, J. L.; FUNCK, G. D.; DANNENBERG, G. S.; CRUXEN, C. E. S.; HALAL, S. L. M. E.; DIAS, A. R. G.; FIORENTINI, A. M.; SILVA, W.P. Bacteriocin-like substances of *Lactobacillus curvatus* P99: characterization and application in biodegradable films for control of *Listeria monocytogenes* in cheese. **Food Microbiology**, v. 63, p. 159-163, 2017.

MARTINSEN, A., STORRØ, I., SKJÅRK-BRÆK, G. Alginate as immobilization material: III. Diffusional properties. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 39. n. 2, p. 186-194, 1992.

MALATHI A. N.; SANTHOSH K. S.; NIDONI, U. Recent trends of Biodegradable polymer: Biodegradable films for Food Packaging and application of Nanotechnology in Biodegradable Food Packaging. **Current Trends in Technology and Science**, v. 3, n. 2, 2014.

MALEKI, S.; MÆRK, M.; HRUDIKOVA, R.; VALLA, S.; ERTESVÅG, H. New insights into *Pseudomonas fluorescens* alginate biosynthesis relevant for the establishment of an efficient production process for microbial alginates. **New Biotechnology**, v. xx, p. xx-xx, 2016.

MALI, S.; SAKANAKA, L.S.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M.V.E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 283–289, 2005.

MARCELO, M.C.A.; MARTINS, C. A.; POZEBON, D.; DRESSLER, V. L.; FERRÃO, M. F. Classification of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) according to the country of origin based on element concentrations. **Microchemical Journal**, v. 117, p. 164–171, 2014.

MARTELLI, S. M.; MOORE, G.; PAES, S. S.; GANDOLFO, C.; LAURINDO, J. B. Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 39, p. 292–301, 2006.

MATEOS, R.; BAEZA, G.; SARRIÁ, B.; BRAVO, L. Improved LC-MSn characterization of hydroxycinnamic acid derivatives and flavonols in different commercial mate (*Ilex paraguariensis*) brands. Quantification of polyphenols, methylxanthines, and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 241, p. 232–241, 2018.

McGARVEY D.J.; CROTEAU, R. Terpenoid metabolism. **Plant Cell**, v. 7, p. 1015–1026, 1995.

MELO, M. R. P. **Bioconversão do exoesqueleto do camarão para elaboração de filme biodegradável**. João Pessoa, 2014. 88 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba.

MOKRANI, A.; MADANI, K. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. **Separation and Purification Technology**, v.162, p. 68–76, 2016.

MOREIRA, R.; CHENLO, F.; SINEIRO, J.; SÁNCHEZ, M.; ARUFE, S. Water sorption isotherms and air drying kinetics modelling of the brown seaweed *Bifurcaria bifurcata*. **J Appl Phycol**, v. 28, p. 609–618, 2016.

MÜLLER, C. M. O.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J. B. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, p. 82–87, 2008.

MÜLLER, C. M. O.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA, F. Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1328-1333, 2009a.

MÜLLER, C.M.O.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA, F. Effect of cellulose fibers on the crystallinity and mechanical properties of starch-based films at different relative humidity values. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 293-299, 2009b.

MÜLLER, C. M. O.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA, F. Effect of nanoclay incorporation method on mechanical and water vapor barrier properties of starch-based films. **Industrial Crops and Products**, v. 33; p. 605–610, 2011.

MÜLLER, J.M.; SANTOS, R.L.; BRIGIDO, R.V. Produção de Alginato por Micro-organismos. **Polímeros**, v. 21, n. 4, p. 305-310, 2011.

MURAKAMI, A.N.N.; AMBONI, R.; PRUDÊNCIO, E.S.; AMANTE, E.R. ZANOTTA, L.D.; MARASHHIN, 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, p. 2211 - 2216, 2011.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 1523-1542, 2006.

NEŠIĆ, A.; ONJIA, A.; DAVIDOVIĆ, S.; DIMITRIJEVIĆ, S.; ERRICO, M. E.; SANTAGATA, G.; MALINCONICO, M. Design of pectin-sodium alginate based films for potential healthcare application:

Study of chemico-physical interactions between the components of films and assessment of their antimicrobial activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 981–990, 2017.

NORAJIT, K.; KIM, K.M.; RYU, G. H. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. **Journal of Food Engineering**, v. 98 p. 377–384, 2010.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SALMIERI, S.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Antimicrobial Effects of Alginate-Based Film Containing Essential Oils for the Preservation of Whole Beef Muscle. **Journal of Food Protection**, v. 69, n. 10, p. 2364–2369, 2006.

PAGLIOSA, C. M.; VIEIRA, M. A.; PODESTÁ, R.; MARASCHIN, M.; ZENI, A.L. B.; AMANTE, E. R.; AMBONI, R. D. 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, p. 173–178, 2010.

PARK, S. I.; DAESCHEL, M. A.; ZHAO, Y. Functional Properties of Antimicrobial Lysozyme–Chitosan Composite Films. **Journal of Food Science**, v. 69, p. 215-221, 2004.

PARRIS, N.; COFFIN, D. R.; JOUBRAN, R. F.; PESSEN, H. Composition Factors Affecting the Water Vapor Permeability and Tensile Properties of Hydrophilic Films. **J. Agric. Food Chem.** v. 43, p. 1432-1435, 1995.

PEPPAS, N.A.; SAHLIN, J.J. A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. **Int J. Pharm.**, v. 57, n. 2, p. 169-172, 1989.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H.G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.4, p. 491-502, 2007.

PIÑEROS-HERNANDEZ, D.; MEDINA-JARAMILLO, C.; LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; GOYANES, S. Edible cassava starch films carrying

rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 488–495, 2017.

PRANOTO, Y.; SALOKHE, V. M.; RAKSHIT, S. K. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. **Food Research International**, v. 38, n. 3, p. 267–272, 2005.

QAZANFARZADEH, Z.; KADIVAR, M. Properties of whey protein isolate nanocomposite films reinforced with nanocellulose isolated from oat husk. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 91, p. 1134–1140, 2016.

QUINTAVALLA, S.; VICINI, L. Antimicrobial food packaging in meat industry. **Meat Science**, v. 62, p. 373–380, 2002.

RAMOS, M.; BELTRÁN, A.; PELTZER, M.; VALENTE, A. J.M.; GARRIGÓS, M. C. Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from polypropylene active packaging films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, p. 470–477, 2014.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A. 6 ed, 2001. 906p.

REIS, L. C. B.; SOUZA, C. O.; SILVA, J. B. A.; MARTINS, A. C.; NUNES, I. L.; DRUZIAN, J. I. Active biocomposites of cassava starch: The effect of yerba mate extract and mango pulp as antioxidant additives on the properties and the stability of a packaged product. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 382–391, 2015.

REN, L.; YAN, X.; ZHOU, J.; TONG, J.; SU, X. Influence of chitosan concentration on mechanical and barrier properties of corn starch/chitosan films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1636–1643, 2017.

RIQUELME, N.; HERRERA, M. L.; MATIACEVICH, S. Active films based on alginate containing lemongrass essential oil encapsulated: Effect of process and storage conditions. **Food and Bioproducts Processing**, v. 104, p. 94–103, 2017.

RHIM, J. W. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.** v. 37, p. 323–330, 2004.

RODRÍGUEZ-CABO, T.; RODRÍGUEZ, I.; RAMIL, M.; CELA, R. Assessment of alcoholic distillates for the extraction of bioactive polyphenols from grapevine canes. **Industrial Crops & Products**, v. 111, p. 99–106, 2018.

ROONEY, M.L. **Overview of active food packaging**. In: ROONEY, M.L. Active food packaging. Glasgow: Chapman & Hall, 1995 b.

SABERI, B.; VUONG, Q. V.; CHOCKCHASAWASDEE, S.; GOLDING, J. B. SCARLETT, C. J.; STATHOPOULOS, C.E. Water Sorption Isotherm of Pea Starch Edible Films and Prediction Models. **Foods**, v. 5, p. 1-18, 2016.

SALMIERI, S.; LACROIX, M. Physicochemical Properties of Alginate/Polycaprolactone-Based Films Containing Essential Oils. **J. Agric. Food Chem.** v. 54, p. 10205-10214, 2006.

SANTOS, S. S.; RODRIGUES, L. M.; COSTA, S. C.; MADRONA, G. S. Antioxidant compounds from blackberry (*Rubus fruticosus*) pomace: Microencapsulation by spray-dryer and pH stability evaluation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. XX, p. XX-XX, 2017.

SAUCEAU, M.; FAGES, J.; COMMON, A.; NIKITINE, C.; RODIER, E. New challenges in polymer foaming: A review of extrusion processes assisted by supercritical carbon dioxide. **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 749–766, 2011.

SAURABH, C. K.; GUPTA, S.; BAHADUR, J.; MAZUMDER, S.; VARIYAR, P. S.; SHARMA, A. Mechanical and barrier properties of guar gum based nano-composite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 124, p. 77–84, 2015.

SCHUBERT, A.; ZANIN, F. F.; PEREIRA D.F.; ATHAYDE.M. L. Variação anual de metilxantinas totais em amostras de *Ilex paraguariensis* a. St. - Hil. (erva-mate) em Ijuí e Santa Maria, estado do Rio Grande do Sul. **Quim.Nova**, v. 29, n. 6, p. 1233-1236, 2006.

SHARIF, Z. I. M.; MUSTAPHA, F.A.; JAI, J.; MOHD.YUSOF , N.; ZAKI, N. A. M. Review on methods for preservation and natural preservatives for extending the food longevity. **Chemical Engineering Research Bulletin**, v. 19, p. 145-153, 2017.

SHEN, Z.; KAMDEM, D. P. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 74, p.289–296, 2015.

SHIH, F.F.; DAIGLE, K.W.; CHAMPAGNE, E.T. Effect of rice wax on water vapour permeability and sorption properties of edible pullulan films. **Food Chemistry**, v. 127, p. 118–121, 2011.

SHIRAI, M. A.; OLIVATO, J.B.; GARCIA, P. S.; MÜLLER, C. M.O.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Thermoplastic starch/polyester films: Effects of extrusion process and poly (lactic acid) addition. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, p. 4112–4117, 2013.

SHUYUAN, L.; ZEYI, A.; FENGFENG, Q.; YUQIONG, C.; DEJIANG, N. Effect of steeping temperature on antioxidant and inhibitory activities of green tea extracts against α -amylase, α -glucosidase and intestinal glucose uptake. **Food Chemistry**, v. 234, p. 168–173, 2017.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n.1, p. 94-103, 1999.

SIMÓN, B. F.; PÉREZ-ILZARBE, J.; HERNLNDEZ, T.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; ESTRELLA, I. Importance of Phenolic Compounds for the Characterization of Fruit Juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**.v. 40, p. 1531-1535, 1992.

SINGH, S.; GAIKWAD, K. K.; LEE, Y.S. Antimicrobial and antioxidant properties of polyvinyl alcohol biocomposite films containing seaweed extracted cellulose nano-crystal and basil leaves

extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p.1879-1887, 2018.

SINGLETON, V. L.; JOSEPH, A.; ROSSI, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144–149, 1965.

SIRACUSA, V.; ROCCULI, P.; ROMANI, S.; ROSA, M. D. Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science & Technology**.v. 19, p.634-643, 2008.

SIRIPATRAWAN, U.; HARTE, B. R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 770-775, 2010.

SIRVIÖ, J. A.; KOLEHMAINEN, A.; LIIMATAINEN, H.; NIINIMÄKI, J.; HORMI, O. E. O. Biocomposite cellulose-alginate films: promising packaging materials. **Food Chemistry**, v. 151, p. 343–351, 2014.

SKURTYS, O.; ACEVEDO, C.; PEDRESCHI, F.; ENRIONE, J.; OSORIO, F.; AGUILERA, J. M. Food hydrocolloid edible films and coatings. **Food Hydrocolloids: Characteristics, Properties**, Nova Science Publishers, Inc, 2010.

SMIDSRØD, O.; HAUG, A. Dependence upon Uronic Acid Composition of Some Ion-Exchange Properties of Alginates. **Acta Chemica Scandinavica**, v. 22, p. 1989 – 1997, 1968.

SMIDSRØD, O.; SKJAK-BRAEK, G. Alginate as immobilization matrix for cells. **Tibtech**, v. 8, p. 71–78, 1990.

SOARES, N.F. F.; SILVA, W.A.;PIRES, A. C. S.; CAMILLOTO, G. P.; SILVA, P. S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**, v. 56, n. 4, p. 370-378, 2009.

SONG, X.; ZUO, G.; CHEN, F. Effect of essential oil and surfactant on the physical and antimicrobial properties of corn and wheat starch films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1302-1309, 2018.

SOUZA, A. H.P.; CORRÊA, R. C.G.; BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; SANTOS-BUELGA, C.; PERALTA, R. M.; BRACHT, A.; MATSUSHITA, M.; FERREIRA, I.C.F.R. Phytochemicals and bioactive properties of *Ilex paraguariensis*: An in-vitro comparative study between the whole plant, leaves and stems. **Food Research International**, v.78, p. 286–294, 2015.

SRIAMORNSAK, P.; KENNEDY, R.A. Development of polysaccharide gel coated pellets for oral administration. 2. Calcium alginate, **Eur. J. Pharm. Sci.** v. 29, p. 139–147, 2006.

STATSOFT, I. STATISTICA (data analysis software system), 2011.

STEIN, F. L. P.; SCHIMIDT, B.; FURLONG, E. B. Vascular responses to extractable fractions of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high-cholesterol diets. **Biological Research for Nursing**, v. 7, p. 146–156, 2005.

SUPPAKUL, P.; CHALERNSOOK, B.; RATISUTHAWAT, B.; PRAPASITTHI, S.; MUNCHUKANGWAN, N. Empirical modeling of moisture sorption characteristics and mechanical and barrier properties of cassava flour film and their relation to plasticizing e antiplasticizing effects. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 290–297, 2013.

TAIZ.L., ZEIGER, E. **Secondary Metabolites and Plant Defense**. Plant Physiol, Fourth ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 2006.

TAVASSOLI-KAFRANI, E., SHEKARCHIZADEH, H., MASOUDPOUR-BEHABADI, M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**. v. 137, p. 360–374, 2015.

TEODORO, A. P.; MALI, S.; ROMERO, N.; CARVALHO, G.M. Cassava starch films containing acetylated starch nanoparticles as reinforcement: Physical and mechanical characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 126 p. 9–16, 2015.

THARANATHAN, R.N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**. v. 14, p.71–78, 2003.

TSCHAN, M. J.-L.; BRULÉ, E.; HAQUETTE, P.; THOMAS, C. M. Synthesis of biodegradable polymers from renewable resources. **Polym.Chem.**, v. 3, p. 836-851, 2011.

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, p. 835–841, 2006.

UNE-EN. **UNE-EN 13130-1:2005**. Materials and articles in contact with foodstuffs. Plastics substances subject to limitation. Guide to test methods for the specific migration of substances from plastics to foods and food simulants and the determination of substances in plastics and the selection of conditions of exposure to food simulants. 2005.

_____. **UNE-EN 13432:2000-12** Packaging: Requirements for packaging recoverable through composting and biodegradation - Test scheme and evaluation criteria for the final acceptance of packaging; German version, 2000.

VALERGA, J.; RETA, M.; LANARI, M. C. Polyphenol input to the antioxidant activity of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extracts. **LWT - Food Science and Technology**, v. 45, p. 28-35, 2012.

VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, p. 105–113, 2015.

VIEIRA, M. A.; MARASCHIN, M.; ROVARIS, A.A.; AMBONI, R. D. M. C.; PAGLIOSA, C. M.; XAVIER, J. J. M.; AMANTE, E. R. Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons throughout the processing stages of erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Food Additives & Contaminants: Part A**, v.27, n. 6, p. 776-782, 2010.

VIEITEZ, I.; MACEIRAS, L.; JACHMANIÁN, I.; ALBORÉS, S. Antioxidant and antibacterial activity of different extracts from herbs obtained by maceration or supercritical technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 133, p. 58–64, 2018.

VISHWAKARMA, R.K.; SHIVHARE, U.S.; NANDA, S.K. Moisture adsorption isotherms of guar (*Cyamopsis tetragonoloba*) grain and guar gum splits. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 969-975, 2011.

VU, H. P. N.; LUMDUBWONG, N. Starch behaviors and mechanical properties of starch blend films with different plasticizers. **Carbohydrate Polymers**. v. 154, p. 112–120, 2016.

WANG, L.F.; RHIM, J.W. Preparation and application of agar/alginate/collagen ternary blend functional food packaging films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 80, p. 460–468, 2015.

WESSENLINGH, J. A. Controlling diffusion. **Journal of Controlled Release**, v. 24, p. 47–60. 1993.

WORAPRAYOTE, W.; PUMPUANG, L.; TOSUKHOWONG, A.; ZENDO, T.; SONOMOTO, K.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W. Antimicrobial biodegradable food packaging impregnated with Bacteriocin 7293 for control of pathogenic bacteria in pangasius fish fillets. **LWT - Food Science and Technology**.v. xx, p. xx-xx, 2017.

WU, J.; GE, S.; LIU, H.; WANG, S.; CHEN, S.; WANG, J.; LI, J.; ZHANG, Q. Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. **Food packaging and shelf life**, v. 2, p. 7 – 16, 2014.

WU, Y.; LUO, X.; LI, W.; SONG, R.; LI, J.; LI, Y.; LI, B.; LIU, S. Green and biodegradable composite films with novel antimicrobial performance based on cellulose. **Food Chemistry**, v. 197, p. 250–256, 2016.

XIAO, Q.; TONG, Q. Thermodynamic properties of moisture sorption in pullulan–sodium alginate based edible films. **Food Research International**, v. 54, p. 1605–1612, 2013.

YU, S.; YUE, S. W.; LIU, Z.; ZHANG, T.; XIANG, N.; FU, H. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) improves microcirculation of volunteers with

high blood viscosity: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Experimental Gerontology**, v.62, p. 14–22, 2015.

ZACTITI, E. M. **Desenvolvimento e Caracterização de filmes biodegradáveis de alginato de cálcio sem e com sorbato de potássio**. 150f. Tese de doutorado em Engenharia Química (Faculdade de Engenharia Química). Campinas, 2004.

ZHANG, Y.; HAN, J.H. Sorption Isotherm and Plasticization Effect of Moisture and Plasticizers in Pea Starch Film. **Journal of food science**, v. 73, n. 7, p. 313- 325, 2008.

ZHANG, Q.; RIJSSEL, E. R.; WALVOORT, M. T. C.; OVERKLEEF, H. S.; MAREL, G. A.; CODÉE, J. D. C. Acceptor Reactivity in the Total Synthesis of Alginate Fragments Containing α -L-Guluronic Acid and β -D-Mannuronic Acid. **Angew. Chem. Int.**, v. 54, p. 7670 –7673, 2015.

ANEXO A – Formulações elaboradas nos testes preliminares

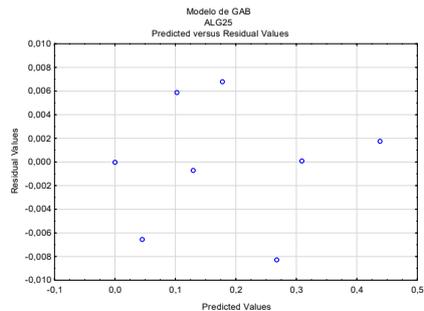
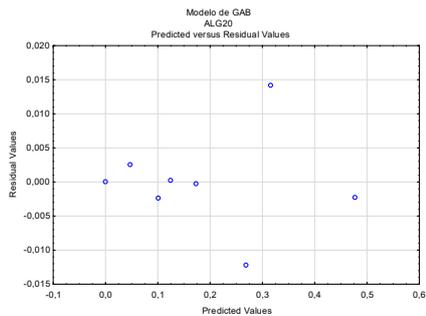
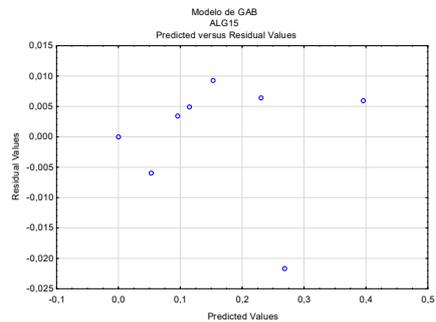
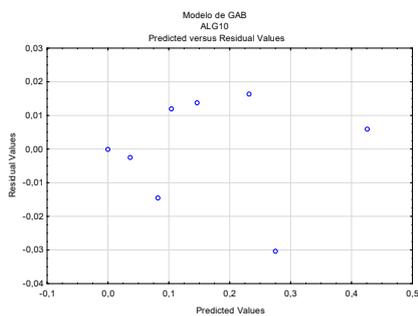
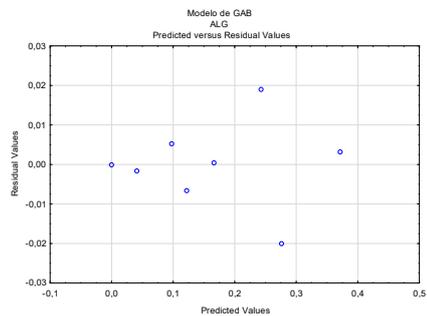
Tabela 9. Formulações dos filmes elaborados nos ensaios preliminares de reticulação.

Formulações	Água destilada (mL)	Alginato (g)	Glicerol (g/ g de alginato)	Método de reticulação*	Solução de reticulação	Tempo de reticulação (min)
F1	100	1,5	0,6	Solubilização	15 ml de CaCl ₂ à 0,8% (m/v)	-
F2	100	1,5	0,6	Solubilização	10 ml de CaCl ₂ à 0,8% (m/v)	-
F3	100	2	0,5	Imersão	100 mL de CaCl ₂ à 5 % (m/v)	60
F4	100	1,5	0,3	Imersão	100 mL de CaCl ₂ à 3 % (m/v)	15
F5	100	1,5	0,3	Imersão	100 mL de CaCl ₂ à 3 % (m/v)	5
F6	100	1,5	0,3	Imersão	100 mL de CaCl ₂ à 1,5 % (m/v)	15
F7	100	1,5	0,3	Imersão	100 mL de CaCl ₂ à 1,5 % (m/v)	5
F8	100	1,5	0,3	Imersão	100 mL de CaCl ₂ à 3 % (m/v) + 30 % (v/v) de etanol	15
F9	100	1,5	0,3	Imersão	100 mL de CaCl ₂ à 3 % (m/v) + 30 % (v/v) de etanol	5

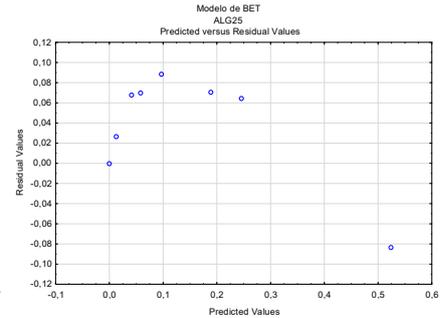
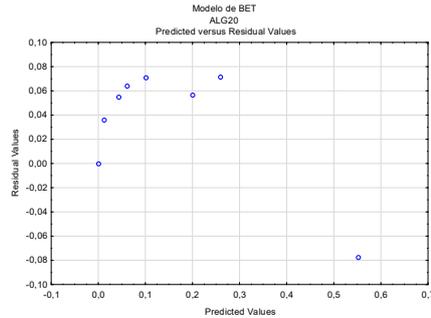
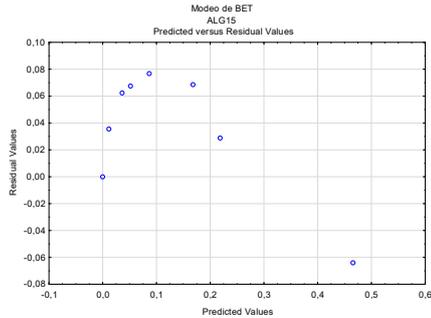
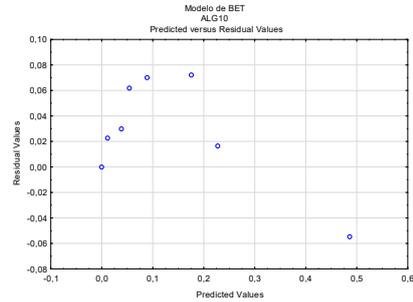
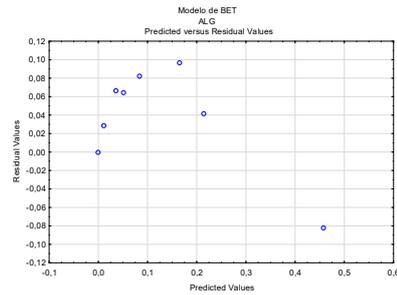
*Solubilização: o agente reticulante (CaCl₂) foi adicionado junto a solução filmogênica. Imersão: A solução filmogênica (água, alginato e glicerol) foi colocada em placas de acrílico e secas, e posteriormente, os filmes foram imersos na solução reticulante.

Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

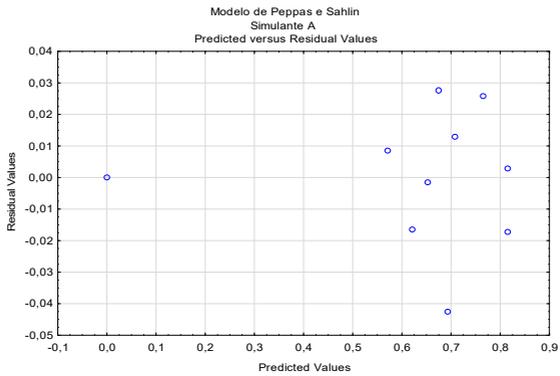
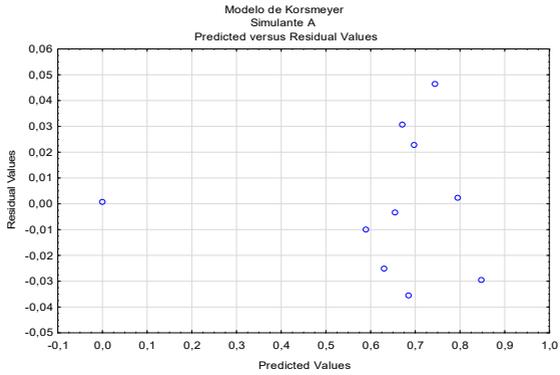
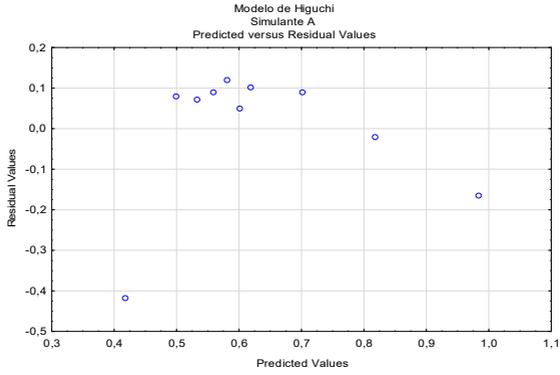
ANEXO B – Resíduos gerados pelo ajuste do modelo de GAB



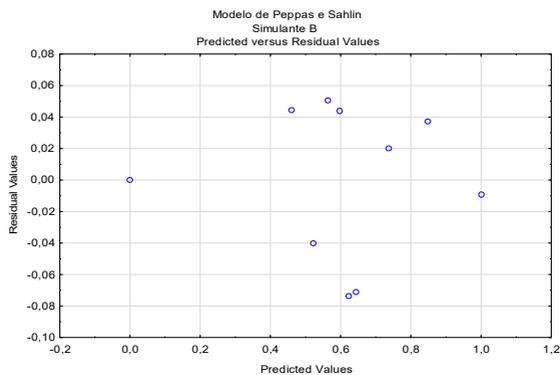
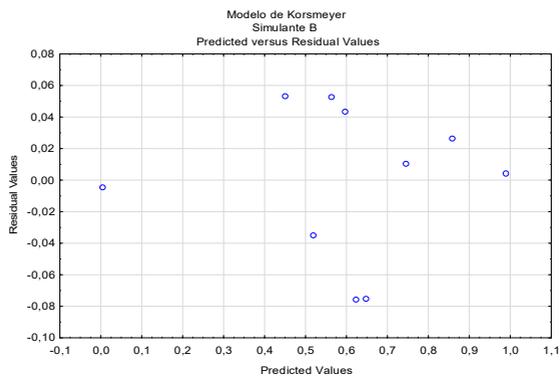
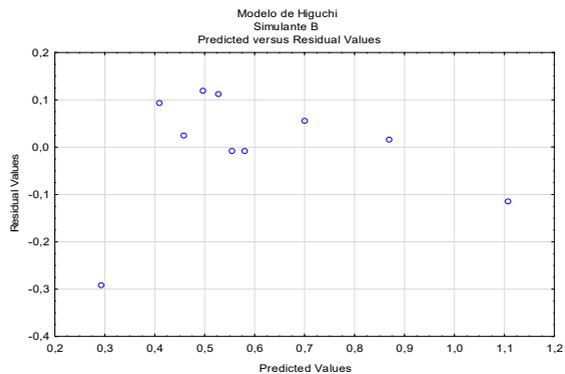
ANEXO C – Resíduos gerados pelo ajuste do modelo de BET



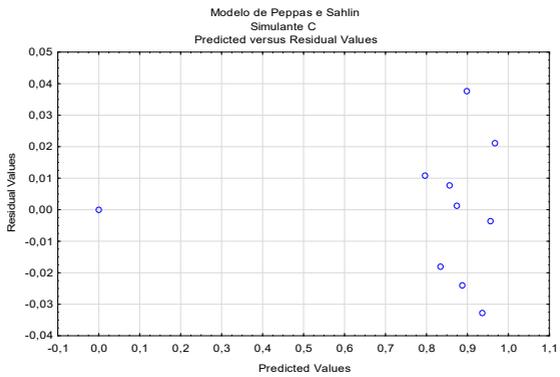
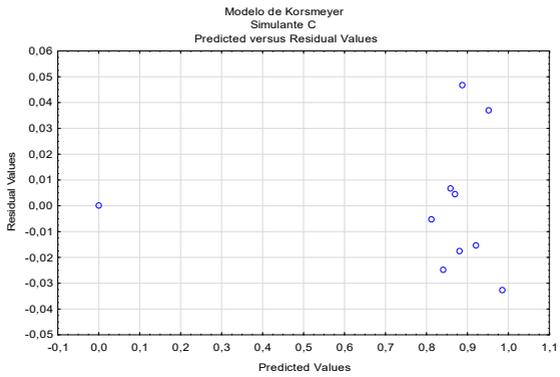
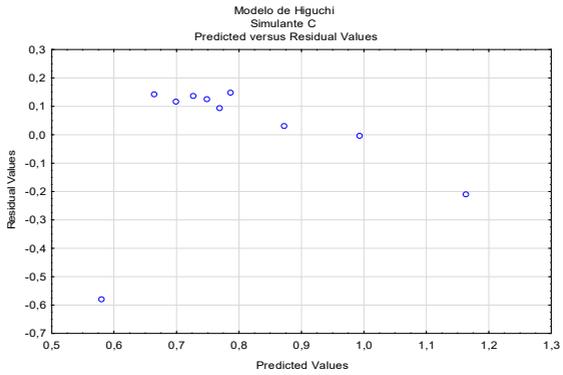
ANEXO D - Resíduos gerados pelo de ajuste dos modelos cinéticos para o simulante A



ANEXO E–Resíduos gerados pelo de ajuste dos modelos cinéticos para o simulante B



ANEXO F – Resíduos gerados pelo de ajuste dos modelos cinéticos para o simulante C



ANEXO G – Resíduos gerados pelo de ajuste dos modelos cinéticos para o simulante D

