







# INFLUÊNCIA DO TAMANHO DE PARTÍCULA E CONCENTRAÇÃO NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS DO EXTRATO DE PITANGA (Eugenia uniflora L.)

Júlia Pedó Gutkoski\*, Samuel Teixeira Lopes, Kátia Bittencourt Sartor, Lára Franco dos Santos, Telma Elita Bertolin

Laboratório de Bioquimica e Bioprocessos, Curso de Enhenharia Química, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS \*E-mail: 136213@upf.br

RESUMO - Objetivou-se quantificar a extração dos compostos fenólicos e atividade antioxidante variando a concentração do extrato e o tamanho de partícula das folhas de Eugenia uniflora. Para tal, foram realizadas concentrações de 5, 10, 15 e 20% m/v, e tamanhos de partícula de 600, 420 e 250 µm. O extrato foi preparado pela infusão das folhas a 90±2 °C durante 10 minutos. A quantificação dos fenólicos e do potencial antioxidante foram realizadas pelos métodos espectrofotométricos de Folin-Ciocalteau e redutor férrico FRAP. Para os fenólicos, a maior concentração destes compostos foi obtida na condição de menor tamanho de partícula e menor concentração de massa (45,35 mg EAG/g), em contraste com o extrato de 15% e maior tamanho de partícula (12,19 mg EAG/g). O potencial antioxidante apresentou comportamento similiar, com maior resultado na menor concentração e no menor tamanho de partícula (194,53 µmol Trolox/g), enquanto o menor valor foi no ensaio de 15% e 600 µm (50,97 µmol Trolox/g). A extração aquosa do extrato é dependente de diversas variáveis, como o tipo de solvente utilizado, tempo e temperatura de extração, e é atrelado à transferência de massa, princialmente na etapa de difusão do soluto para o solvente. A menor concentração de massa e o menor tamanho de partícula favorecem a maior extração dos compostos de interesse pois ocorre redução na distância de difusão entre o soluto e solvente e aumenta o gradiente de concentração. Assim, essas condições são considerados as melhores para obter a maior concentração dos compostos fenólicos e atividade antioxidante no extrato das folhas de pitanga.

Palavras-chave: compostos fenólicos, antioxidantes, propriedades biológicas, aditivos naturais.

# 1 INTRODUÇÃO

A pitanga ou pitangueira (Eugenia uniflora L.) é uma árvore frutífera nativa do Brasil mas pode ser encontrada em diversas regiões, como Caribe, Estados Unidos, França e em alguns países asiáticos devido a sua alta adaptabilidade às diferentes condições climáticas e de solo. As suas características fisico-químicas podem alterar-se dependendo do local de cultivo, como tamanho da árvore, frutas e concentração de compostos bioativos (FRANZON, 2013; GARMUS et al., 2014). As frutas possuem diferentes colorações de acordo com o grau de maturação, variando desde o amarelo até o roxo (RAMALHO et al., 2019). Em razão do alto rendimento de polpa, de 66 a 88%, esse fruto desperta interesse da indústria de alimentos para produção de produtos com valor agregado. Por possuir um sabor exótico intenso, ácido e doce, agrada o paladar do consumidor e oferece propriedades funcionais (LIRA et al., 2007).

Tanto a fruta quanto as folhas são ricas em carotenóides, antocianinas, taninos, flavonóides, entre outros compostos fenólicos que possuem propriedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas e anti-inflamatórias (OGUNWANDE et al., 2005; COSTA et al., 2010; SOBEH et al., 2019). Assim, tem atraído pesquisas devido aos benefícios para a saúde humana que essa planta pode promover. Os antioxidantes possuem um papel importante no corpo ao combater os radicais livres por inibição de reações oxidativas, como a peroxidação lipídica (MARTINEZ-CORREA et al., 2011; DENARDIN et al., 2015).

A pitanga é uma matéria-prima que possibilita o uso no campo medicinal e alimentício. A infusão das folhas é usada para tratamento de febres, inflamações, dores reumáticas e como agente redutor da glicose no sangue na medicina popular (AMORIM et al., 2009) e há estudos que a utilizaram como um aditivo antioxidante em carnes (VARGAS et al., 2016; LORENZO et al., 2018). Os antioxidantes possuem baixa estabilidade, assim, para aplicação em matrizes alimentares, é necessário estudar as melhores condições de processamento sem diminuir ou perder os compostos bioativos. Uma das alternativas é otimizar a extração, na qual o tamanho de partícula das folhas pode interferir assim como a concentração do extrato.

O objetivo do presente trabalho foi quantificar a extração dos compostos fenólicos e atividade antioxidante ao variar a concentração do extrato e o tamanho de partícula das folhas de E. uniflora.

# 2 MATERIAL E MÉTODOS









### 2.1 Matéria-prima

As folhas *in natura* da pitanga foram secas em estufa a  $45\pm2$  °C por 24 horas e moídas em moinho refrigerado. Após, separou-se por peneiras as folhas moídas em três tamanhos de partícula, de 600, 420 e 250  $\mu$ m (28, 35 e 60 mesh). As amostras foram então acondicionadas em embalagens fechadas a vácuo e armazenadas na temperatura de - $18\pm2$  °C.

## 2.2 Preparo do extrato aquoso

A partir das folhas trituradas foi realizada infusão com água a 90±2 °C por 10 minutos de acordo com Dos Santos (2019), com modificações. Foram produzidos extratos aquosos em diferentes concentrações, onde pesou-se 5, 10, 15 e 20 g de folhas de cada tamanho de partícula para 100 mL de água e então realizada infusão com as folhas. O extrato foi filtrado em filtro de nylon com auxílio de uma bomba de vácuo.

### 2.3 Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado utilizando o método colorimétrico de Folin-Ciocalteau segundo metodologia de Correia et al. (2004), com modificações de Sousa e Correia (2012). Em tubos de ensaio foram adicionados 1 mL de amostra, 1 mL de etanol 95%, 5 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteau 50% (v/v). Os tubos foram agitados em vórtex por 30 segundos e após adicionado 1 mL da solução de carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 5% e agitados por mais 3 segundos. Os tubos foram deixados em repouso na ausência de luz por 60 minutos. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 765 nm. Os resultados estão apresentados em mg equivalentes de ácido gálico por grama de amostra (mg EAG/g) de acordo com uma curva padrão de Trolox previamente construída.

#### 2.4 Atividade antioxidante

Para quantificação da atividade antioxidante dos extratos, foi utilizado o potencial antioxidante redutor férrico (FRAP) realizado de acordo com Benzie e Strain (1996) com modificações de Arnous et. al (2002). Uma alíquota de 200  $\mu$ L de amostra foi adicionada ao tubo juntamente com 200  $\mu$ L de solução de cloreto férrico 3 mM. Os tubos foram deixados em repouso durante 30 min em banho-maria a 37 $\pm$ 2 °C. Em seguida, foi adicionado 3600  $\mu$ L da solução TPTZ e deixado em ambiente escuro durante 10 min. A absorbância foi medida em um comprimento de onda de 620 nm. A quantificação foi feita com base em uma curva padrão de Trolox e os resultados expressos em  $\mu$ mol Trolox/g de amostra.

#### 2.5 Tratamento dos dados

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA), seguido pelo teste de comparação de médias de Tukey, a 95% de significância.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela I apresenta a quantificação dos compostos fenólicos dos extratos.

Tabela I. Teor de compostos fenólicos totais do extrato de pitanga em diferentes tamanhos de partícula e concentrações

|                              | Concentração (%)    |                     |                         |                     |  |
|------------------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|--|
| Tamanho de<br>partícula (µm) | 5                   | 10                  | 15                      | 20                  |  |
| 600                          | 24,38±2,86*bc       | $17,91\pm2,40^{ab}$ | 12,19±1,43 <sup>a</sup> | 13,43±1,80°         |  |
| 420                          | $25,28\pm4,66^{bc}$ | $38,18\pm0,74^{df}$ | $12,64\pm2,33^{a}$      | $28,64\pm0,56^{ce}$ |  |
| 250                          | $45,35\pm5,41^{d}$  | $45,63\pm1,24^{d}$  | $22,68\pm2,71^{bc}$     | $34,22\pm0,93^{ef}$ |  |

Valores seguidos de letras iguais na linha não apresentam diferença significativa entre si num intervalo de confiança de 95% pelo teste de Tukey. (média±desvio padrão). \*Resultados expressos em mg EAG/g.

A extração mais eficaz observa-se na concentração de 5% (45,35 mg EAG/g) e 10% (45,63 mg EAG/g) no menor tamanho de partícula. De acordo com a análise estatística, as duas amostras não possuem diferença significativa entre si (p>0,05), sendo favorável utilizar a amostra de 5% devido a utilização de uma menor quantidade de matéria-



UPF

prima. Já no tamanho de partícula de 600 μm, o extrato com 5% obteve a maior quantificação de fenólicos (24,38 mg EAG/g) e, no tamanho intermediário, o extrato com concentração de 10% possuiu o melhor resultado (38,18 mg EAG/g).

A eficiência na extração dos fenólicos depende de muitos fatores, como temperatura, polaridade do solvente, tempo, entre outras (MURAKAMI et al., 2011). Nesse estudo, a extração aquosa foi utilizada para extração dos compostos bioativos, a qual é baseada na difusão da água na matriz sólida e os compostos fenólicos são extraídos de dentro das células para a água disponível por solubilização (BALLARD et al., 2010; BALYAN et al., 2019). Isso pode ser explicado porque a concentração dos compostos presentes nos tecidos vegetais mantém um equilibrio com a concentração dissolvida na água e esse equilíbrio é determinado por um coeficiente de partição, ou seja, quanto maior for seu valor, maior será a solubilização do componente no solvente utilizado. Ademais, são diferentes variáveis que influenciam na extração, como o tipo de solvente utilizado, o componente de interesse a ser extraído e a temperatura. A extração também depende da rapidez com que o composto atingirá o equilíbrio no líquido, contudo, um fator limitante de taxa é atrelado à transferência de massa, princialmente na etapa de difusão do soluto para o solvente (GERTENBACH, 2002; PINELO et al., 2006).

Já foi muito explorado a influência de diferentes tipos de solventes para extração dos fenólicos e a água é observada como um bom solvente por possuir afinidade com esses compostos (KUMAR et al., 2012; SOUSA et al., 2016; BALYAN et al., 2019). Ainda, quando se objetiva estudar a disponibilidade dos bioativos para consumo humano, é imprensindível de que se utilize um solvente não químico e seguro para ingestão. No presente trabalho, seguiu-se a metodologia aplicada por Dos Santos (2019), que estudou as variáveis de tempo e temperatura na extração de compostos fenólicos das folhas da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). A autora obteve altos valores de concentração de compostos fenólicos utilizando a água como solvente extrator.

Pode-se considerar que a taxa de extração aumenta com o aumento do coeficiente de difusão ou pela redução do tamanho de partícula. Menores tamanhos de partícula reduzem a distância de difusão entre o soluto e solvente e aumentam o gradiente de concentração, que consequentemente aumenta a taxa de extração (CACACE; MAZZA, 2003). Rajha et al. (2014) obtiveram maior extração de fenólicos de subprodutros oriundos da uva com menores tamanhos de partícula, assim como os resultados encontrados nesse trabalho.

Além do menor tamanho de partícula, deve-se observar que as amostras com a menor concentração possuíram a maior quantificação de compostos fenólicos. É possível que, como havia uma menor quantidade de massa, os compostos fenólicos ficaram mais disponíveis para serem lixiviados para o meio aquoso e, como consequência, foram mais extraídos. Outra hipótese é de que pode ter ocorrido a saturação da amostra nos outros ensaios, não ocorrendo mais a extração dos fenólicos. Em estudo de Cacace e Mazza (2003), os autores verificaram que ocorreu maior extração dos compostos fenólicos na amostra com maior proporção de solvente para soluto, ou seja, com a menor concentração de soluto. Esse resultado corrobora com os encontrados nesse trabalho, onde a maior extração foi observada nas menores concentrações de amostra (5% e 10%). Dos Santos et al. (2020) utilizaram uma concentração de 3% na preparação do extrato de *Ilex paraguariensis* e obtiveram em torno de 200 mg EAG/g de compostos fenólicos.

O potencial antioxidante dos extratos está apresentado na Tabela II.

Tabela II. Potencial antioxidante do extrato de pitanga em diferentes tamanhos de partícula e concentrações

|                              | Concentração (%)           |                     |                         |                              |  |
|------------------------------|----------------------------|---------------------|-------------------------|------------------------------|--|
| Tamanho de<br>partícula (µm) | 5                          | 10                  | 15                      | 20                           |  |
| 600                          | 101,94±4,43* <sup>de</sup> | 84,52±2,97°         | 50,97±2,22 <sup>a</sup> | 63,39±2,22 <sup>b</sup>      |  |
| 420                          | $157,50\pm2,03^{h}$        | $139,53\pm3,02^{g}$ | $78,75\pm1,01^{c}$      | $104,65\pm2,27^{e}$          |  |
| 250                          | $194,53\pm2,32^{j}$        | $165,57\pm2,24^{i}$ | $97,27\pm1,68^{d}$      | $124,17\pm1,68^{\mathrm{f}}$ |  |

Valores seguidos de letras iguais na linha não apresentam diferença significativa entre si num intervalo de confiança de 95% pelo teste de Tukey. (média ± desvio padrão). \*Resultados expressos em µmol Trolox/g.

A concentração de 5% obteve os maiores resultados para todos os tamanhos de partícula, sendo que o de 250 μm apresentou a maior quantificação (194,53 μmol Trolox/g), seguindo o mesmo comportamento dos compostos fenólicos. A relação entre fenólicos e atividade antioxidante em matrizes vegetais já foi explorada por outros autores (BARBI, 2016; VARGAS, 2019). É importante ressaltar que o potencial antioxidante de extratos fenólicos dependem da estrutura química dos compostos presentes, os quais podem apresentar interações sinergéticas que tem influência no perfil antioxidante (LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013). Da mesma forma que os compostos fenólicos, a extração dos antioxidantes também dependem das condições do processo na extração líquido-sólido, como o solvente utilizado, temperatura e tempo (PINELO et al., 2006). Em estudo de Garmus et al. (2014), no qual foi comparado a extração de antioxidantes da pitanga por três solventes diferentes (água, etanol e CO<sub>2</sub> supercrítico), o solvente que possiblitou a maior extração de antioxidantes foi o etanol. Entretanto, como objetiva-se utilizar posteriormente esse extrato para enriquecimento de produtos alimentícios, o uso de etanol como solvente não é recomendado pois não representa a









extração real dos antioxidantes quando forem aplicados. Wang et al. (2019) aplicaram o extrato de alecrim em um produto de carne fortificado com ômega 3 e verificaram que o uso dos antioxidantes e polifenóis dessa matriz podem reduzir a peroxidação lipídica e prolongar a vida útil no armazenamento.

## 4 CONCLUSÃO

A condição experimental que possuiu maior quantificação tanto de compostos fenólicos quanto de potencial antioxidante foi a concentração de 5% e tamanho de partícula de 250 µm. Esse resultado demonstra que uma maior concentração nem sempre representa uma maior extração de bioativos. Aumentar a área de contato da amostra com o solvente promoveu, como esperado, a maior quantificação dos compostos de interesse, sendo esta a condição eficiente para otimizar a extração dos compostos antioxidantes das folhas da pitanga.

# **5 REFERÊNCIAS**

AMORIM, A. C. L.; LIMA, C. K. F.; HOVELL, A. M. C.; MIRANDA, A. L. P.; REZENDE, C. M. Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga). **Phytomedicine**, v. 16, p. 923-928, 2009.

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.

BALLARD, T. S.; MALLIKARJUNAN, P.; ZHOU, K.; O'KEEFE, S. Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. **Food chemistry**, v. 120, p. 1185-1192, 2010.

BALYAN, U.; VERMA, S. P.; SARKAR, B. Phenolic compounds from *Syzygium cumini* (L.) Skeels leaves: Extraction and membrane purification. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 12, p. 43-58, 2019.

BARBI, R. C. T. Extração e quantificação de compostos fenólicos e antioxidantes da chia (salvia hispânica l) usando diferentes concentrações de solventes. Trabalho de Conclusão de Curso, Curso Superior de Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2016.

BENZIE, I.; STRAIN, 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.

CACACE, J. E.; MAZZA, G. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. **Journal of Food Engineering**, v. 59, p. 379-389, 2003.

CORREIA, R. T.; MCCUE, P.; MAGALHÃES, M. M.; MACÊDO, G.; SHETTY, K., Production of phenolic antioxidants by the solid-state bioconversion of pineapple was temixed with soy flourusing Rhizopus Oligosporus. **Process. Biochemistry**, v. 39, p. 2167-2172, 2004.

COSTA, D. P.; FILHO, E. G. A.; SILVA, L. M. A.; SANTOS, S. C.; PASSOS, X. S.; SILVA, M. R. R.; SERAPHINC, J. C.; FERRI, P. H. Influence of Fruit Biotypes on the Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oils of *Eugenia uniflora* Leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 851-858, 2010.

DENARDIN, C. C.; HIRSCH, G. E.; ROCHA, R. F.; VIZZOTTO, M.; HENRIQUES, A. T.; MOREIRA, J. C. F.; GUMA, F. T.C.R.; EMANUELLI, T. Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. **Journal of food and drug analysis**, v. 23, p. 387-398, 2015.

DOS SANTOS, L. F. **Microfiltração e ultrafiltração de extrato de erva-mate** (*Ilex paraguariensis*). Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo, 2019.

DOS SANTOS, L. F.; VARGAS, B. K.; BERTOL, C. D.; BIDUSKI, B.; BERTOLIN, T. E.; DOS SANTOS, L. R.; BRIÃO, V. B. Clarification and concentration of yerba mate extract by membrane technology to increase shelf life. **Food and Bioproducts Processing**, v. 122, p. 22-30, 2020.

FRANZON, R. C. Pitanga: fruta de sabor agradável e de usos diversos. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA,** 2013. Disponível em:< https://www.portaldoagronegocio.com.br/artigo/pitanga-fruta-de-sabor-agradavel-e-de-usos-diversos-3579>. Acesso em: 16/01/2020.

GARMUS, T. T.; PAVIANI A, L. C.; QUEIROGA, C. L.; MAGALHÃES, P. M.; CABRAL, F. A. Extraction of phenolic compounds from pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaves by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO<sub>2</sub>, ethanol and water as solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 86, p. 4–14, 2014.

GERTENBACH, D. D. Solid-liquid extraction technologies for manufacturing nutraceuticals. **Functional foods:** biochemical and processing aspects, v. 2, p. 331-366, 2002.

KUMAR, A.; THAKUR, B. K.; DE, S. Selective extraction of (-)epigallocatechin gallate from green tea leaves using two-stage infusion coupled with membrane separation. **Food Bioprocess Technology**, v. 5, p. 2568–2577, 2012.

LIRA, J. S.; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; SILVA, J. F. **Pitangueira.** Recife : Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária-IPA, p. 34-36, 2007.

LÓPEZ-ALARCÓN, C.; DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 763, p. 1–10, 2013.

LORENZO, J. M.; VARGAS, F. C.; STROZZI, F.; PATEIRO, M.; FURTADO, M. M.; SANT'ANA, A. S.; ROCCHETTI, G.; BARBAE, F. J.; DOMINGUEZ, R.; LUCINI, L.; SOBRAL, P. J. A. Influence of pitanga leaf









extracts on lipid and protein oxidation of pork burger during shelf-life. **Food Research International**, v. 114, p. 47–54 2018.

MARTINEZ-CORREA, H. A.; MAGALHÃES, P. M.; QUEIROGA, C. L.; PEIXOTO, C. A.; OLIVEIRA, A. L., CABRAL, F. A. Extracts from pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaves: Influence of extraction process on antioxidant properties and yield of phenolic compounds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, p. 998–1006, 2011.

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

OGUNWANDE, I. A.; OLAWORE, N. O.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T. M.; SCHMIDT, J.M.; SETZER, W. N. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 15, p. 147–152, 2005.

PINELO, M.; SINEIRO, J.; NÚÑEZ, M. J.. Mass transfer during continuous solid—liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 57-63, 2006.

RAJHA, H. N.; EL DARRA, N.; HOBAIKA, Z.; BOUSSETTA, N.; VOROBIEV, E.; MAROUN, R. G.; LOUKA, N. Extraction of total phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and tannins from grape byproducts by response surface methodology. Influence of solid-liquid ratio, particle size, time, temperature and solvent mixtures on the optimization process. **Food and Nutrition Sciences**, v. 5, p. 397-409 2014.

RAMALHO, R. R. F.; BARBOSA, J. M. G.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C. Variability of polyphenols and volatiles during fruit development of three pitanga (*Eugenia uniflora* L.) biotypes. **Food Research International**, v. 119, p. 850–858, 2019.

SOBEH, M.; EL-RAEY, M.; REZQ, S.; ABDELFATTAH, M. A.; PETRUK, G.; OSMAN, S.; EL-SHAZLY, A. M.; EL-BESHBISHY, H. A.; MAHMOUD, M. F.; WINK, M. Chemical profiling of secondary metabolites of *Eugenia uniflora* and their antioxidant, anti-inflammatory, pain killing and anti-diabetic activities: A comprehensive approach. **Journal of ethnopharmacology**, v. 240, p. 111939, 2019.

SOUSA, B. A.; CORREIA, R. T. P. Phenolic content, antioxidant activity and antiamylolytic activity of extracts obtained from bioprocessed pineapple and guava wastes. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 29, p. 25-30, 2012.

SOUSA, L. S.; CABRAL, B. V.; MADRONA, G. S., CARDOSO, V. L.; REIS, M. H. M. Purification of polyphenols from green tea leaves by ultrasound assisted ultrafiltration process. **Separation and Purification Technology**, v. 168, p. 188–198, 2016.

VARGAS, B. K. Ação antioxidante in vivo de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) livre e microencapsulados. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo, 2019.

VARGAS, F. C.; ARANTES-PEREIRA, L.; COSTA, P. A.; MELO, M. P.; SOBRAL, P. J. A. Rosemary and Pitanga Aqueous Leaf Extracts On Beef Patties Stability under Cold Storage. **Brazilian Archives Of Biology and Technology**, v. 59, 2016.

WANG, Y. Z.; WANG, S. Y.; FU, S. G.; YANG, D. J.; YU, Y. S.; CHEN, J. W.; CHEN, Y. C. Effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts and dry ice on the physicochemical stability of omega-3 fatty-acid-fortified surimilike meat products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, p. 3843-3851, 2019.

