



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA QUÍMICA



ESTUDO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E
GRANULAÇÃO DE UM BLEND DE CHÁS

ANA PAULA BORGES REHDER

Uberlândia - MG - Brasil

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA QUÍMICA



ESTUDO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E
GRANULAÇÃO DE UM BLEND DE CHÁS

Ana Paula Borges Rehder

Orientador:

Prof. Dr. Marcos Antonio de Souza Barrozo

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química

Uberlândia– MG – Brasil

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- R345e
2019
- Rehder, Ana Paula Borges, 1993-
Estudo do processo de extração e granulação de um blend de chás
[recurso eletrônico] / Ana Paula Borges Rehder. - 2019.
- Orientador: Marcos Antonio de Souza Barrozo.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.65>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.
1. Engenharia química. 2. Granulação. 3. Compostos bioativos. 4.
Extração (Química). 5. Camellia sinensis. I. Barrozo, Marcos Antonio
de Souza, 1961-, (Orient.) II. Universidade Federal de Uberlândia.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. III. Título.

CDU: 66.0



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Engenharia Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado, 20/2019, PPGEQ				
Data:	Vinte e três de agosto de 2019	Hora de início:	08h	Hora de encerramento:	10h
Matrícula do Discente:	11722EQU003				
Nome do Discente:	Ana Paula Borges Rehder				
Título do Trabalho:	Estudo dos processos de extração e granulação de um blend de chá				
Área de concentração:	Desenvolvimento de processos químicos				
Linha de pesquisa:	Processos de Separação				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Estudo de otimização de granulação de fertilizantes				

Reuniu-se na sala 1K228, Campus Santa Mônica, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, assim composta: Professores Doutores: Alcina Maria Fonseca Xavier; Thiago Taham - IFTM/Campus Uberlândia; Ricardo Corrêa de Santana - FEQUI/UFU e Marcos Antonio de Souza Barrozo - PPGEQ/UFU orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Prof. Dr. Marcos Antonio de Souza Barrozo, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Marcos Antonio de Souza Barrozo, Presidente**, em 23/08/2019, às 10:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alcina Maria Fonseca Xavier, Usuário Externo**, em 23/08/2019, às 10:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Correa de Santana, Membro de Comissão**, em 23/08/2019, às 10:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **THIAGO TAHAM, Usuário Externo**, em 23/08/2019, às 10:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1486325** e o código CRC **A3525518**.

Dedico este trabalho aos meus pais, aos meus irmãos, aos meus amigos e ao Vinícius pelo apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, que nunca mediram esforços para me ajudarem, incentivarem, e para que todos os meus objetivos fossem alcançados. Com certeza sem vocês a caminhada seria muito mais pesada e difícil. Obrigada por me mostrarem os caminhos mais fáceis, e por principalmente me ensinarem que o conhecimento é nosso maior bem, algo que ninguém nos tira. Aos meus tios e avós por também torcerem e me ampararem ao longo de toda a minha vida.

Agradeço à Deus por me permitir ter uma família sempre presente, ter amigos e oportunidades que me fizeram chegar até aqui. Agradeço à Ele por também ser meu apoio em muitos momentos.

Agradeço também às minhas irmãs por partilharem o dia a dia comigo, por celebrarem as vitórias mas, principalmente, por estarem comigo nas dificuldades também. Vocês são, sem dúvida, grande parte do meu apoio, amparo e sucesso.

Ao Vinícius agradeço o amor e carinho de todos os dias, por estar sempre disponível para me auxiliar e durante todos esses anos dividir todos os momentos comigo. Sem o seu apoio esta caminhada não teria sido tão feliz.

Ao CNPq e à FAPEMIG pelos recursos financeiros que possibilitaram a realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Marcos Antonio de Souza Barrozo pela orientação e pela consideração durante este período. Muito obrigada pelos ensinamentos transmitidos, pela paciência e por sempre me incentivar.

Agradeço a Alcina, por também me incentivar e principalmente pela confiança. Agradeço à todas as ideias e oportunidades que me ofereceu, você foi essencial para que esta etapa fosse concluída.

À Lima & Pergher e à Provanza, por me permitirem desenvolver este trabalho e confiarem seus produtos em minhas mãos. Agradeço à eles também pelo blend de chás fornecido para que este projeto fosse concluído.

À Cecília, Silvino, Humberto, Ulisses, Roberta, Francielle, Helen e Ione pela boa vontade em auxiliar.

À Thabata, aluna de iniciação científica, por toda a ajuda e pela participação ativa para execução deste trabalho.

Aos colegas de laboratório Geraldo, Marcela, Rodolfo, Larissa, Gláucia, Angélica, Argileu, Raphael, Grazi, Jennifer, Janaína, Marcus Paulo, Natália, Gregori e Raíssa por todo apoio nos momentos em que eu estive no laboratório, e principalmente à Priscila, ao Neiton e ao Rondinelli por dedicarem um pouco do tempo de vocês para me ensinarem e auxiliarem durante todas as etapas de execução deste trabalho.

Aos colegas de laboratório e professores do NUCBIO pelos auxílios na realização de experimentos. Agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão desse trabalho.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	i
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE SÍMBOLOS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
1.1 Introdução	1
1.2 Objetivos.....	3
CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 Blend de chás.....	5
2.2 <i>Camellia sinensis</i>	6
2.3 Compostos bioativos e capacidade antioxidante.....	8
2.4 Avaliação da atividade antioxidante.....	12
2.5 Extração dos compostos bioativos.....	15
2.6 Identificação e quantificação dos compostos fenólicos.....	19
2.7 Granulação	21
2.8 Disco rotativo	25
2.9 Ligante	29
CAPÍTULO 3 - MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 Material	30
3.2 Preparação da amostra	31
3.3 Caracterização do material.....	31

3.3.1 Umidade	31
3.3.2 Atividade de água	31
3.3.3 pH	32
3.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	32
3.3.5 Espectroscopia de energia dispersiva (EDS).....	32
3.4 Análise dos compostos bioativos.....	32
3.4.1 Determinação de compostos fenólicos totais (TPC)	32
3.4.2 Determinação de compostos flavonoides totais (TFC)	33
3.4.3 Determinação da capacidade atividade antioxidante total	33
3.4.4 Determinação dos ácidos fenólicos e flavonoides em CLAE	33
3.5 Extração micro-ondas	34
3.5.1 Metodologia experimental extração	35
3.5.2 Otimização da extração de compostos fenólicos utilizando micro-ondas.	35
3.6 Granulação em disco rotativo.....	37
3.6.1 Metodologia experimental granulação	38
3.6.2 Granulometria.....	39
3.6.3 Dureza	40
3.6.4 Esfericidade	41
3.6.5 Otimização do processo de granulação em disco rotativo	41
3.6.6 Otimização utilizando a função desejabilidade	44
CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.1 Caracterização do blend de chás.....	45
4.2 Extração assistida por micro-ondas de compostos bioativos.....	47
4.2.1 Otimização utilizando a função desejabilidadee validação dos experimentos nas condições otimizadas.....	51
4.2.2 Análises cromatográficas na condição de maior desejabilidade	56
4.3 Granulação	58
4.3.1 Planejamento 1	58
4.3.2 Análise de desejabiliade planejamento 1 granulação	62
4.3.3 Planejamento 2	63
4.3.4 Análise de desejabilidade planejamento 2 da granulação	67

4.3.5 Compostos bioativos na condição de maior desejabilidade	70
CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES	73
CAPÍTULO 6 - SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
Apêndice A – Teste para medir a potência nominal dos níveis do forno micro-ondas utilizado na secagem em micro-ondas e micro-ondas a vácuo: teste impi (international microwave power institute).....	86
Apêndice B – Gráficos de pareto e significância dos fatores para um nível de confiança de 90% para as extrações assistidas por micro-ondas de compostos bioativos.	87
Apêndice C – Coeficientes de regressão estimados e a análise de variância para as extrações assistidas por micro-ondas de compostos bioativos.	89
Apêndice D – Gráficos de pareto e significância dos fatores para um nível de confiança de 90%para o primeiro pcc de granulação no disco rotativo.	90
Apêndice E – Coeficientes de regressão estimados e a análise de variância para o primeiro pcc de granulação no disco rotativo.....	91
Apêndice F – Gráficos de pareto e significância dos fatores para um nível de confiança de 90%para o segundo pcc de granulação no disco rotativo.	92
Apêndice G – Coeficientes de regressão estimados e a análise de variânci para o segundo pcc de granulação no disco rotativo.....	93
Apêndice H – Curvas de calibração dos padrões utilizados para leitura das amostras em HPLC.	94

LISTA DE FIGURAS

Figura 2. 1: Flores da <i>Camellia sinensis</i>	6
Figura 2. 2: Estrutura química dos flavonóides.....	10
Figura 2. 3: Estrutura química de alguns ácidos fenólicos.....	11
Figura 2. 4: Estrutura molecular de algumas catequinas.....	11
Figura 2. 5: Reação genérica entre o radical livre DPPH e um antioxidante.....	13
Figura 2. 6: Desprotonação do ácido gálico.....	14
Figura 2. 7: Reação do ânion fenolado com molibdênio.....	14
Figura 2. 8: Diferentes colorações das soluções pelo método de Folin-Ciocalteu.....	14
Figura 2. 9: Colorações das soluções na determinação de flavonóides totais.....	15
Figura 2. 10: Efeitos dos solventes na extração de polifenóis e cafeína.....	17
Figura 2. 11: Principais etapas na aglomeração por umidificação.....	22
Figura 2. 12: Mecanismos de ligação mais importantes em aglomerados.....	23
Figura 2. 13: Diferentes estados de saturação das pontes líquidas.....	23
Figura 2. 14: Fluxo de material dentro de um disco granulador.....	25
Figura 2. 15: Disco profundo com alimentação traseira.....	26
Figura 2. 16: Movimento das partículas no interior do disco rotativo em diferentes condições de velocidade de rotação.....	27
Figura 3. 1: Embalagem de armazenamento blend de chás.....	30
Figura 3. 2: Blend de chás <i>in natura</i> (a), triturado (b) e peneirado (c).....	31
Figura 3. 3: Aparato para extração assistida por micro-ondas.....	34
Figura 3. 4: Desenho do equipamento disco rotativo.....	37
Figura 3. 5: Bomba peristáltica Masterflex.....	38
Figura 3. 6: Descrição do processo de granulação.....	39
Figura 4. 1: Pontos para análise por EDS.....	46
Figura 4. 2: Superfícies de respostas para os bioativos da extração assistida por micro-ondas.....	50
Figura 4. 3: Análise de desejabilidade para o planejamento de extração.....	51
Figura 4. 4: Comparação dos resultados de TPC do planejamento de extração (barras) com o resultado da condição de desejabilidade (linha).....	54

Figura 4. 5: Comparação dos resultados de TFC do planejamento de extração (barras) com o resultado da condição de desejabilidade (linha).	54
Figura 4. 6: Comparação dos resultados de IC ₅₀ do planejamento de extração (barras) com o resultado da condição de desejabilidade (linha).	55
Figura 4. 7: MEV do blend de chás antes (a) e após (b) a extração em micro-ondas.	56
Figura 4. 8: Cromatograma obtido em HPLC.	57
Figura 4. 9: Superfícies de resposta para o PCC 1 dos ensaios de granulação.....	61
Figura 4. 10: Condição de desejabilidade para o PCC 1 granulação.....	62
Figura 4. 11: Superfícies de respostas para o PCC 2 dos ensaios de granulação.	65
Figura 4. 12: Comparação dos resultados de esfericidade do planejamento de extração (barras) com a média dos resultados (linha).	66
Figura 4. 13: Condição de desejabilidade para o PCC 2 da granulação.....	67
Figura 4. 14: Comparação dos resultados de dureza do PCC com a condição ótima.	69
Figura 4. 15: Comparação dos resultados de % de grânulos ideais do PCC com a condição ótima.	69
Figura 4. 16: Blend de chás <i>in natura</i> triturado e peneirado (a) e o grânulo do (b).	70
Figura 4. 17: Cromatograma obtido em HPLC do material <i>in natura</i> (a), do material após o processo de granulação (b) e os dois cromatogramas sobrepostos (c).	72
Figura B. 1: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados TPC).....	87
Figura B. 2: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados TFC).....	87
Figura B. 3: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados IC ₅₀).....	88
Figura D. 1: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados D)	90
Figura D. 2: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados <i>mg</i>)	90
Figura F. 1: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados D).....	92
Figura F. 2: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados <i>mg</i>).....	92
Figura H. 1: Curva de calibração para o padrão Galato de (-) – epigalocatequina (EGCG)....	94
Figura H. 2: Curva de calibração para o padrão Cafeína.....	94
Figura H. 3: Curva de calibração para o padrão Epicatequina (EC)	94
Figura H. 4: Curva de calibração para o padrão Catequina (C)	95
Figura H. 5: Curva de calibração para o padrão Epigalocatequina (EGC).....	95
Figura H. 6: Curva de calibração para o padrão Ácido Gálico (GAE).....	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 3. 1: Planejamento composto central para extração de antioxidantes em micro-ondas.	36
Tabela 3. 2: Planejamento composto central 1 para as granulações em disco rotativo.....	42
Tabela 3. 3: Planejamento composto central 2 para as granulações em disco rotativo.....	43
Tabela 4. 1: Resultados das análises de atividade de água, umidade e pH.	45
Tabela 4. 2: Resultados para as análises no EDS.	46
Tabela 4. 3: Resultados do planejamento para extração assistida por micro-ondas.....	47
Tabela 4. 4: Variáveis independentes no ponto definido pela análise de desejabilidade para o planejamento de extração.	52
Tabela 4. 5: Resultados experimentais e preditos na condição otimizada.....	52
Tabela 4. 6: Quantificação de ácido gálico no blend de chás e em uma dieta de 2.000kcal.	53
Tabela 4. 7: Comparação entre a extração no ponto da desejabilidade e apenas com água.	55
Tabela 4. 8: Concentração de catequinas, cafeína e ácido gálico no extrato obtido na condição otimizada	57
Tabela 4. 9: Resultados do PCC 1 para a granulação em disco rotativo.	58
Tabela 4. 10: Variáveis independentes no ponto ótimo de otimização PCC 1 granulação.	62
Tabela 4. 11: Resultados de dureza e % de grânulos ideais do PCC 2 para a granulação em disco rotativo.....	63
Tabela 4. 12: Resultados de esfericidade para o PCC 2 de granulação em disco rotativo.	66
Tabela 4. 13: Variáveis independentes no ponto ótimo de otimização PCC 2 granulação.	68
Tabela 4. 14: Resultados experimentais e preditos na condição otimizada.....	68
Tabela 4. 15: Resultados das análises de bioativos antes e após a granulação.....	71
Tabela A. 1: Determinação da potência de cada nível do forno micro-ondas.....	86
Tabela C.1: Coeficientes de regressão estimados e a análise de variância (MAE).	89
Tabela E.1: Coeficientes de regressão estimados e a análise de variância (PCC 1 granulação).	91
Tabela G.1: Coeficientes de regressão estimados e a análise de variância (PCC 2 granulação).	93

LISTA DE SÍMBOLOS

α_d (°)	Ângulo de inclinação do disco
C (%)	Concentração mássica de etanol (%)
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
EC	(-)-Epicatequina
EDS	Espectroscopia de Energia Dispersiva
EGC	(-)-Epigalo catequina
EGCG	Galato de (-) epigalocatequina
GAE	Ácido Gálico
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IC ₅₀	Atividade antioxidante (µg/mL)
m_g	Porcentagem de grânulos ideais (%)
m_l	Concentração mássica de ligante (%)
m_s	Massa de sólidos (g)
MAE	Microwave Assisted Extraction
MEV	Microscopia de Varredura Eletrônica
R	Razão de líquido e sólido (mL/g)
t	Tempo de extração (min)
TFC	Compostos flavonoides totais (mg _{rutina} /100 g amostra base seca)
TPC	Compostos fenólicos totais (mg _{GAE} /100g amostra base seca)
v	Velocidade de rotação do disco (rpm)

RESUMO

A *Camellia sinensis* é uma planta originária da Ásia que vem sendo recentemente difundida no ocidente. Os chás originados desta planta são populares em todo o mundo e são uma bebida muito consumida devido ao seu sabor e aos seus efeitos benéficos à saúde, que incluem compostos como polifenóis, flavonóides, cafeínas, entre outros. Seus chás possuem um efeito estimulante, antioxidante combatendo os radicais livres, sendo referidos como uma das melhores fontes de compostos fenólicos, entre outras funções que tem sido cada vez mais exploradas.

Seu interesse se deve principalmente pelo efeito antioxidante e pela presença de catequinas, que por sua vez são flavonóides que apresentam propriedades biológicas como atividade antioxidante, sequestradora de radicais livres. Com a demanda crescente por alimentos saudáveis, a pesquisa e desenvolvimento de novas categorias de produtos têm sido estimulados também na indústria de alimentos de todo o mundo. Nos últimos anos, estes alimentos têm despertado o interesse da comunidade científica e das indústrias de alimentos.

Diante disso foi desenvolvido na FEQUI/UFU uma pesquisa inovadora com o intuito de criar um novo produto a partir destas plantas da *Camellia sinensis*, mais especificamente um blend de chás, composto por 40% de chá branco, 40% de chá verde, 10% de menta e 10% de hortelã. Visando a criação deste novo produto foi necessário a caracterização do material e a determinação de um método de extração eficaz para quantificar os compostos bioativos presentes no blend.

As extrações dos compostos antioxidantes foram eficazes, com a utilização de solventes não tóxicos e os níveis ótimos determinados para a extração em micro-ondas foram 38,8% de concentração em peso de etanol em solução hidroetanólica como solvente extrator, 3 min de extração e 184,1 mL/g de razão líquido-sólido. Esta condição apresentou TPC máximo ($2164,75 \pm 97,61$ mg_{GAE}/100 g), TFC ($12,71 \pm 0,18$ mg_{rutina}/100 g) e IC₅₀ mínimo ($0,773 \pm 0,006$ µg/mL).

Com os compostos bioativos quantificados foi utilizado um disco rotativo para a criação de um novo formato de produto, sendo ele um grânulo, esférico. Com esta nova forma os chás passam a ser conhecidos não apenas como uma bebida, mas também como um alimento, onde suas propriedades são diretamente ingeridas, por não passar por etapas de infusão. No disco rotativo, equipamento utilizado, as partículas do blend de chás juntamente com um fluido ligante são mantidos em contato, onde suas partículas ao rolaem umas sobre as outras no equipamento se chocam formando grânulos. O processo de granulação foi otimizado resultando em % de grânulos entre 4 mm e 6,35 mm em $43,54 \pm 0,49\%$ e a dureza dos grânulos em $10,56 \pm 0,94$ N. Esta condição também apresentou TPC ($1690,03 \pm 7,02$ mg_{GAE}/100 g), TFC ($6,70 \pm 0,13$ mg_{rutina}/100 g) e IC₅₀ ($1,191 \pm 0,012$ µg/mL). Desta forma o método de granulação em disco rotativo é uma alternativa para criar esta nova forma de consumo do blend de chás.

Palavras-chave: granulação, disco rotativo, extração, blend de chás, compostos bioativos.

ABSTRACT

The *Camellia sinensis* is a plant native to Asia that has recently spread in the West. Teas originated from this plant are popular all over the world and are a widely consumed drink due to its taste and its beneficial effects to health, which includes compounds like polyphenols, flavonoids, caffeine, among others. Its teas have a stimulating, antioxidant-fighting effect on free radicals, being referred to as one of the best sources of phenolic compounds, among other functions that have been increasingly explored.

The interest in this product happens mainly by the antioxidant effect and the presence of catechins, which are flavonoids that have biological properties as antioxidant activity, free radical scavenger. With the growing demand for healthy foods, the research and development of new product categories have also been stimulated in the food industry around the world. In recent years, these foods have aroused the interest of the scientific community and food industries.

So, an innovative research was developed at FEQUI / UFU to create a new product from these *Camellia sinensis* plants, specifically the blend of teas, composed by 40% white tea, 40% green tea, 10 % peppermint and 10% mint. In order to create this new product, it was necessary to characterize the material and to determine an effective extraction method to quantify the bioactive compounds present in this blend.

The extractions of the antioxidant compounds were effective with the use of non-toxic solvents and the optimum levels determined for the extraction in microwaves were 38.8% concentration by weight of ethanol in hydroethanol solution as extraction solvent, 3 minutes of extraction and 184.1 mL / g liquid-solid ratio. This condition presented maximum TPC ($2164,75 \pm 97,61$ mg_{GAE} /100 g), TFC ($12,71 \pm 0,18$ mg_{rutina} /100 g) e minimum IC₅₀ ($0,773 \pm 0,006$ µg/mL).

With the quantified bioactive compounds a rotating disc was used to create a new product format, like a spherical granule. With this new form the teas become known not only as a drink, but also as a food, where its properties are directly ingested, for not going through stages of infusion. In the rotating disc, equipment used, the particles of the blend of teas together with a binding fluid are kept in contact, where when their particles rolling over each other in the equipment they collide and produce granules. The granulation process was optimized resulting in a % of granules between 4 mm and 6.35 mm in $43.54 \pm 0.49\%$ and the hardness of the granules in 10.56 ± 0.94 N. This condition also showed TPC ($1690,03 \pm 7,02$ mg_{GAE} /100 g), TFC ($6,70 \pm 0,13$ mg_{rutina} /100 g) and IC₅₀ ($1,191 \pm 0,012$ µg/mL). In this way the granulation method in rotary disc is an alternative to create this new form of consumption of the blend of teas.

Keywords: granulation, rotative disc, extraction, blend of teas, bioactive compounds.

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 Introdução

A *Camellia sinensis* é uma planta originária da China, muito conhecida pelo seu elevado teor de compostos antioxidantes, que têm capacidade de sequestrar os radicais livres do organismo. Estas características se destacam e são muito estudadas, principalmente no ocidente onde há um elevado consumo dos chás que são provenientes desta planta. O consumo destes compostos está associado à redução do risco de doenças crônicas comuns, incluindo câncer, doenças cardiovasculares e doenças inflamatórias (KRIS-ETHERTON *et al.*, 2002; GARCÍA-VILLALÓN *et al.*, 2016; UDDIN *et al.*, 2016).

As folhas da *Camellia sinensis* após a colheita passam por vários tipos de processos de acordo com o chá que será produzido através da mesma, por exemplo, pode ou não passar por processo de oxidação. Se trata de uma planta seca, que possui uma baixa atividade de água ela se mantém preservada por um longo período de tempo, o que facilita o comércio e exportação deste produto, uma vez que esta planta precisa de condições ambientais específicas para seu desenvolvimento.

Atualmente os chás são amplamente comercializados para serem consumidos como bebida, a partir da infusão das folhas em água quente. Existe hoje, uma crescente busca por alimentos saudáveis devido à um grande aumento de doenças vinculadas à fast-foods e ao estresse da população, que cada vez mais não possui tempo hábil para exercícios, hobbies e outras atividades que tornam a rotina mais saudável. Doenças como obesidade, colesterol alto, entre outras, trazem para a população um desejo de um novo estilo de vida, principalmente devido à influência digital, que traz à tona modelos ideais de corpos, que é outro assunto que cresce e aumenta significativamente o consumo de alimentos saudáveis.

Os chás são muito consumidos no oriente e a população oriental sempre foi um exemplo quando se trata de saúde e bem-estar. No cenário de uma mudança global de hábitos alimentares vê-se uma possibilidade de novos crescimentos de mercado, em busca de diferenciais na questão de bem-estar e saúde. A crescente busca em torno de tantas qualidades oferecidas pelos chás fez com que este alimento passasse a ser uma das bebidas mais consumidas também pela população ocidental.

Muitos estudos já comprovam a alta concentração de compostos bioativos em folhas da *Camellia sinensis*, mas o processo de extração utilizado altera de maneira significativa a

composição e a bioatividade dos extratos. Desta maneira, técnicas com solventes seguros e que reduzem o consumo de energia têm sido frequentemente buscadas pelos pesquisadores. Dentre os solventes extratores destaca-se o etanol, o qual é recomendado pela agência americana US Food and Drug Administration (FDA) para fins de extração por causa de sua baixa toxicidade. Dentre as técnicas alternativas de extração, destacam-se a extração assistida por ultrassom e por micro-ondas, pela elevada produtividade, rendimento e seletividade, bem como por reduzir o tempo de processamento, melhorar a qualidade, reduzir os riscos físicos e químicos e por serem ecologicamente corretas.

Na extração por micro-ondas a energia é rapidamente utilizada para o aquecimento de solventes e suspensões com base no efeito direto sobre moléculas por condução iônica e rotação do dipolo, que causam fricção e colisões entre íons e dipolos (ZHANG *et al.*, 2011). As micro-ondas podem proporcionar uma elevada quantidade de movimento e de energia para a ruptura celular, favorecendo a penetração do solvente, o que resulta na lixiviação do analito alvo através da rápida entrada do solvente de extração na matriz do material (CHANG *et al.*, 2011).

Alguns estudos (UDDIN *et al.*, 2016) também mostram que uma grande quantidade dos compostos bioativos não são extraídos ao efetuar uma simples infusão da erva com água quente, não sendo, portanto, ingeridos e acabam consequentemente descartados junto ao material. Além da necessidade de extração dos compostos bioativos presentes no chá, tem-se a problemática relacionada a baixa estabilidade do produto pronto para beber.

Industrialmente, o chá gelado que é vendido em latas e garrafas é produzido pelo uso do extrato do chá com adição de açúcar, suco de limão, ácido e corantes, para modificar seu aroma, sabor e cor. Além de vários aditivos usados como agentes estabilizantes. Porém, tal tipo de bebida não atende à demanda dos consumidores que estão procurando produtos livres de aditivos. Um dos principais problemas encontrados na produção do chá frio pronto para beber, livre de aditivo, é a sua instabilidade devido à formação do “*tea cream*”. O processo de formação do “*tea cream*” faz com que o chá apresente uma aparência cremosa, quando deixado sob refrigeração. Além de afetar o visual, o sabor e as propriedades do chá também são alterados. (CHANDINI *et al.*, 2013).

A busca por novos produtos a partir dos chás, nos quais seus compostos bioativos sejam ingeridos e não simplesmente descartados, é ainda um grande desafio. O produto utilizado neste trabalho é um blend de chás e se trata de uma mistura de chás composta em peso por 40% chá branco, 40% chá verde, 10% menta e 10% hortelã. Por se tratar de um campeão de vendas em todas as franquias em que é comercializado, surge a ideia de trazer este chá tão

comercializado de uma maneira diferente ao consumidor, estudando mais a fundo suas propriedades.

Além disso, no que diz respeito à estrutura deste novo produto, se destacam os processos de recobrimentos e granulações, que são amplamente utilizados no setor alimentício, pois podem melhorar a atratividade do produto, com relação a qualidade nutricional, segurança e aumento no tempo de conservação.

A granulação é um processo que apresenta como objetivo converter pós finos em materiais granulares, com propriedades físicas controladas. Muitas indústrias químicas, cerâmicas, metalúrgicas, nucleares e farmacêuticas, lidam com o processamento de sólidos finamente divididos e muitas vezes é necessário realizar o aumento de tamanho das partículas pelo método de granulação. As propriedades desejadas são densificação, homogeneização, resistência, fluidez e uniformidade (KAPUR, 1978).

O processo de granulação é complexo e ocorre com vários fenômenos físicos e químicos concorrentes no equipamento de granulação, e que conduzem à formação dos grânulos. Portanto, diversas características do fluido ligante, das matérias-primas e do equipamento granulador têm influência nas condições de granulação, nos mecanismos de granulação e na qualidade do produto granulado e, por isso, cada material a ser granulado possui uma determinada condição para que este processo seja concluído com sucesso.

Já o processo de recobrimento de materiais consiste em revestir totalmente a superfície da partícula com substâncias aderentes, que podem apresentar-se puras ou em mistura com materiais ativos e/ou inertes, pois possui muitas funções, entre elas, retardar as perdas de umidade, retardar as trocas gasosas, aumentar a integridade estrutural, promovendo alguma proteção física contra injúrias, reter componentes voláteis, constituintes do odor e do sabor, ou mesmo conter aditivos alimentícios.

1.2 Objetivos

Esse trabalho pretende destacar como o alto potencial do blend de chás pode ser explorado de forma a disponibilizar à população produtos com uma grande quantidade de compostos bioativos e que será também atrativo ao mercado dado o crescente interesse por alimentação saudável.

Considerando os aspectos supramencionados, o objetivo geral deste trabalho foi de estudar o desempenho do disco rotativo como equipamento de granulação do blend de chás, tendo em vista a preservação das propriedades do produto final. Os objetivos específicos foram:

- Avaliar a extração de compostos antioxidantes por meio de soluções hidroetanólicas em micro-ondas, determinando a condição ótima de extração.
- Avaliar o conteúdo de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, catequinas, cafeína e ácido gálico do blend de chás *in natura*.
- Analisar o desempenho da granulação do blend de chás avaliando os efeitos da concentração de ligante, massa de sólidos, rotação e inclinação do disco.
- Avaliar o impacto da operação de granulação e secagem na estufa do blend de chás sobre o teor de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, catequinas, cafeína e ácido gálico e comparar com o composto *in natura*.

CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo, apresenta-se uma síntese da revisão bibliográfica realizada para embasar os estudos realizados neste trabalho. Dessa forma, foi apresentado o material utilizado, sua composição e relevância e posteriormente, foram discutidos os métodos de caracterização, conservação e granulação deste material.

2.1 Blend de chás

O chá é a segunda bebida mais consumida no mundo, ficando atrás somente da água. Ele é considerado por muitos, uma bebida funcional capaz de prevenir e até mesmo curar algumas doenças (JANKUN *et al.* 1997). O blend de chás utilizado neste trabalho é um produto atualmente já comercializado pela Lima & Pergher Indústria e Comércio S/A, diretamente pelas lojas da marca Provanza. A Lima & Pergher é uma holding com atuação em diversos segmentos.

A Provanza é umadas marcas de cosméticos pertencentes ao grupo, a qual funciona no modelo de franquias, com cosméticos de alto valor agregado e produtos de excelência. Desta maneira a Provanza trabalha ainda com o conceito do bem-estar. E, a partir deste conceito e das diversas formas em que a vida saudável tem sido buscada pela população, a empresa traz como parte de toda a sua história e de seus produtos a cultura dos chás. A grande maioria dos produtos comercializados pela marca possuem ativos e ingredientes que exploram de forma significativa as propriedades dos compostos presentes nos chás. Além dos produtos possuírem em sua formulação ingredientes provenientes dos chás, nas lojas também são comercializados diversos tipos de chás, no formato de bebida, chás quentes ou gelados que podem ser consumidos imediatamente, imprimindo ao consumidor o marketing sobre como os chás são benéficos à saúde. A empresa traz, portanto, este conceito na prática, do bem-estar de dentro para fora ao tomar o chá cuidando também do interior do corpo.

Um dos chás mais comercializados pela empresa é o blend de chás. Este produto se trata de uma mistura de chás composta em peso por 40% chá branco, 40% chá verde, 10% menta e 10% hortelã. Ainda na busca de alimentos saudáveis e ricos em compostos que fazem bem à saúde trazer o blend de chás, por ser muito rico em diversos compostos bioativos, como uma nova forma de levar componentes benéficos à saúde para as pessoas, se torna um grande atrativo para a empresa.

2.2 *Camellia sinensis*

As únicas ervas existentes que são denominadas como chás são as bebidas obtidas da infusão das folhas provenientes da *Camellia sinensis*, que possui como habitat natural a China. Pode ser um arbusto ou árvore de até 16 metros de altura (FERRARA *et al.*, 2001). As flores são pequenas e brancas e o fruto é uma capsula de aproximadamente dois ou três centímetros de diâmetro, como pode ser observado na Figura 2.1.

Figura 2. 1: Flores da *Camellia sinensis*



Fonte: <http://migre.me/qHIwj>.

A denominação “chá” no mundo refere-se a infusões obtidas apenas da planta *Camellia sinensis*, sendo que para outros tipos de planta usa-se a denominação “infusão”. Entretanto, o Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de Chás define “chá” como produto constituído de uma ou mais partes de espécie(s) vegetal(is) inteira(s), fragmentada(s) ou moída(s), podendo ser ou não fermentado, tostada(s) e considera 54 espécies vegetais como matéria-prima para essa bebida, entre as quais estão a banana (*Musa romática*), acerola (*Malpighia glabra*), abacaxi (*Bromelia ananas*), baunilha (*Vanilla romática*), marmelo (*Pyrus cydonia* ou *Cydonia vulgaris*), mirtilo (*Vaccinium myrtillus*); raízes como beterraba (*Beta vulgaris*), cenoura (*Daucus carota*) e sementes como guaraná (*Paullinia cupana*), entre outros (BRASIL, 2005; BRASIL, 2006).

Os chás da *Camellia sinensis* podem ser classificados em 8 tipos básicos e são diferenciados pelo beneficiamento das folhas, sendo eles: chá branco, chá verde, chá amarelo, chá vermelho, chá preto, oolong, matcha e banchá. Todos são extraídos da mesma erva, e por isso, possuem os mesmos compostos em sua composição, porém com composição diferenciada.

O chá branco é obtido a partir dos brotos e flores jovens da planta, sendo colhidas cerca de 2 vezes ao ano antes de se oxidarem, por isso sua cor mais clara, e sabor mais suave. Já o chá verde é feito a partir das folhas e botões da planta, que após colhidos recebem uma vaporização e uma secagem natural, preservando os polifenóis naturais, este chá possui um sabor mais amargo devido ao maior teor de catequinas. O chá amarelo, possui um tempo maior de secagem fazendo com que suas folhas fiquem em um tom mais amarelado, isso faz com que seja apreciado por seu sabor suave e refrescante. Para a obtenção do chá vermelho as folhas são armazenadas geralmente em barris, para que passem pelo processo de fermentação e secagem, gerando assim uma cor mais terrosa.

O chá preto é um dos chás mais consumidos em todo o mundo, é derivado das folhas envelhecidas pela oxidação tornando-as negras, apresentando um sabor mais acentuado. O chá oolong é o tipo intermediário entre o chá verde e o chá preto. É obtido após as folhas sofrerem uma secagem rápida e, então, serem submetidas a um processo de fermentação. Este processo é interrompido rapidamente, o que confere a este chá quantidade considerável de catequinas, apresentando sabor menos amargo quando comparado ao chá preto. Ultimamente o matcha caiu no gosto da população, tornando-se muito conhecido. As folhas para obtenção deste chá são protegidas da luz solar antes que elas apareçam nas plantações. Este processo força as plantas a lutarem por seu crescimento, resultando em folhas alongadas, finas e macias, ricas em aminoácidos e clorofila. Já o banchá é feito a partir de folhas maduras, sendo rico em catequinas, apresentando um sabor mais suave quando comparado ao chá verde.

Segundo Weisburger (1997), a história do chá como bebida data do ano de 2.700 A.C., na China. No Japão o consumo de chá foi introduzido por volta do século VI. Por um longo período, o chá apenas era consumido pelas camadas mais altas da sociedade, tornando-se popular somente 700 anos depois. O consumo então se difundiu por toda a Ásia e das colônias para as metrópoles (por exemplo, da Indonésia para a Holanda e da Índia para o Reino Unido), onde em meados do século XVII os ingleses divulgaram e popularizaram o chá por todo o mundo.

Os primeiros arbustos de *Camellia sinensis* chegaram ao Brasil no início do século XIX por meio de um comerciante chamado Luiz de Abreu. Nesta época, os arbustos foram

plantados em terras coloniais, a mando de D. João VI e, a partir disso, suas propriedades começaram a ser notadas e difundida por todo o país (PAGANI-COSTA e CARVALHO DA SILVA, 2011).

A planta *Camellia sinensis* logo espalhou-se por outros estados como Minas Gerais, São Paulo e Paraná. Atualmente o Vale da Ribeira em São Paulo (SP) é a principal região que se realiza o plantio desta planta (FIRMINO, 2011).

Os chás provenientes das folhas de *Camellia sinensis* são muito estudados em todo o mundo devido à sua popularidade e também alto teor de compostos bioativos. Dentre os chás provenientes da *Camellia sinensis*, os mais consumidos e mais conhecidos são o chá verde, o chá preto e o chá branco. Desses três tipos de chás, o chá verde é o que possui maior quantidade de compostos funcionais (CHENG, 2006). Os compostos funcionais que estão presentes na *Camellia sinensis* são as catequinas, dentre elas pode-se citar as principais: EGCG, EGC, ECG, e EC. Dentre elas, a EGCG está em maior quantidade e é a principal catequina utilizada para tratamento de doenças como o câncer. Sabe-se que este fenólico inibe a enzima responsável pelo crescimento do tumor (BAZINET *et al.* 2007; JANKUN *et al.*, 1997).

Os benefícios do chá verde associados a saúde do homem, tem sido atribuídos a altas concentrações de antioxidantes e de compostos fenólicos. Graças a isso, o chá verde passou a fazer parte do grupo de bebidas que possuem propriedades funcionais (KUMAR *et al.*, 2011; FIRMINO 2011).

Além das catequinas, existem outros compostos fundamentais que são responsáveis pelas características sensoriais do chá, como as proteínas, aminoácidos, açúcares, polissacarídeos, lipídios, cafeína e minerais (JIANG *et al.*, 2015).

2.3 Compostos bioativos e capacidade antioxidante

Antioxidante é qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz, que possuem o potencial de neutralizar os radicais livres, retardando ou inibindo a sua ação de oxidação. Os antioxidantes estão em constante atividade nos organismos vivos, necessitando estar em quantidades suficientes para neutralizar os efeitos tóxicos dos radicais livres que são constantemente produzidos. Quando esta neutralização não existe, ocorre o estresse oxidativo (BECKER *et al.*, 2004).

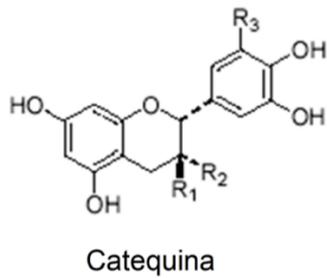
A dieta humana contém uma série de diferentes compostos que possuem atividades antioxidantes. Frutas, vegetais, cereais e chás representam excelentes fontes de compostos bioativos e seu consumo é associado à redução do risco de doenças crônicas comuns, incluindo câncer, doenças cardiovasculares e doenças inflamatórias crônicas (KRIS-ETHERTON *et al.*, 2002; GARCÍA-VILLALÓN *et al.*, 2016; UDDIN *et al.*, 2016). Este efeito protetor se deve à capacidade que os compostos antioxidantes possuem de neutralizar os radicais livres que acarretam disfunções da membrana celular e danos ao DNA.

Os compostos bioativos são metabólitos secundários provenientes do desenvolvimento normal de plantas e em resposta a condições de estresse. Esses compostos contribuem para qualidades sensoriais, como cor e sabor de frutas e vegetais frescos e seus produtos. Os compostos bioativos podem ser classificados em compostos inorgânicos (minerais) e orgânicos tais como os isoprenoides (carotenoides, saponinas, tocoferol etc), compostos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonóides, taninos e ligninas), lipídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (PÉREZ, 2016). Um dos principais grupos de antioxidantes encontrados nas plantas, em especial nos chás, são os compostos fenólicos, com destaque para a classe dos flavonóides.

Os compostos fenólicos englobam uma ampla classe de fitoquímicos, os quais se dividem em flavonoides e ácidos fenólicos. A atividade antioxidante dos compostos fenólicos está relacionada com o número e a posição dos grupos hidroxílicos e conjugações, além da presença de elétrons doadores no anel aromático que possui capacidade de suportar o despareamento de elétrons deslocalizados do sistema de elétrons (RAMIREZ-TORTOZA *et al.*, 2001).

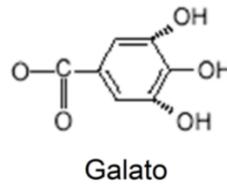
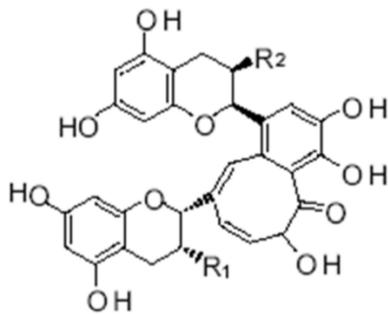
Os flavonoides são formados por dois anéis aromáticos ligados a um heterociclo oxigenado (Figura 2.2). Encontram-se, geralmente, ligados a açúcares formando glicosídeos. Os ácidos fenólicos se caracterizam pela presença de um anel aromático com uma ou mais hidroxilas (Figura 2.3).

Figura 2. 2: Estrutura química dos flavonóides

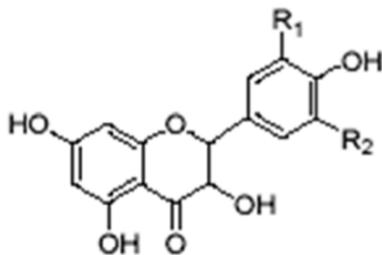


	R1	R2	R3
(+)-Catequina	OH	H	H
(-)-Epigalocatequina	H	OH	OH
(-)-Epigalocatequina galato	H	Galato	OH
(-)-Epicatequina	H	OH	H
(-)-Epicatequina galato	H	Galato	H

Teaflavina



	R1	R2
Teaflavina 3-galato	Galato	OH
Teaflavina	OH	OH
Teaflavina 3'-galato	OH	Galato
Teaflavina 3,3'-digalato	Galato	Galato



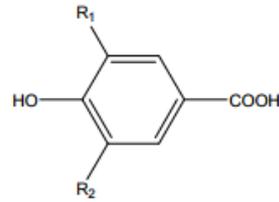
	R1	R2
Miricetina	OH	OH
Quercetina	OH	H
Kaempferol	H	H

Fonte: FANARO, 2013.

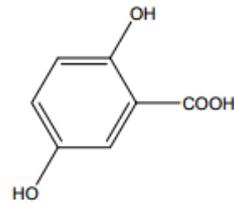
Figura 2. 3: Estrutura química de alguns ácidos fenólicos.

Ácidos hidroxibenzoicos C₆-C₁:

- Ácido *p*-hidroxibenzoico: R₁=R₂=H
- Ácido protocatéuico: R₁=OH, R₂=H
- Ácido vanílico: R₁=OCH₃, R₂=H
- Ácido gálico: R₁=R₂=OH
- Ácido siríngico: R₁=R₂=OCH₃

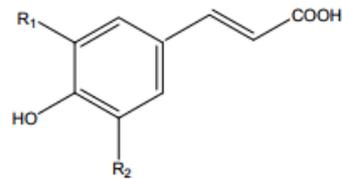


- Ácido gentísico



Ácidos cinâmicos C₆-C₃:

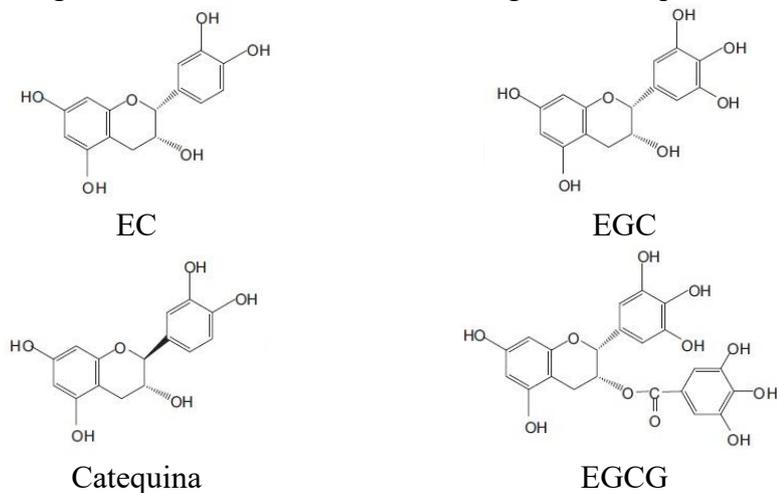
- Ácido *p*-cumárico: R₁=R₂=H
- Ácido caféico: R₁=OH, R₂=H
- Ácido ferúlico: R₁=OCH₃, R₂=H
- Ácido sinápico: R₁=R₂=OCH₃



Fonte: LIMA, 2008.

Os fenólicos totais representam de 10 a 20% do peso seco do chá, dentre eles se destacam: galato de epigalocatequina (EGCG) de 1,2 a 18,8%, epigalocatequina (EGC) de 0,1 a 5,5% , epicatequina (EC) de 0,9 a 2% e traços (<0,08%) de catequina (SAITO, 2007). A estrutura dessas e outras catequinas podem ser vistas na Figura 2.4.

Figura 2. 4: Estrutura molecular de algumas catequinas



Fonte: YE *et al.*, 2014.

A natureza polifenólica das catequinas confere à maioria dos polifenóis propriedades como: elevado poder redutor e capacidade de neutralizar radicais livres de oxigênio. Estas propriedades, são responsáveis pelos efeitos benéficos a saúde, tais como, sua ação antibacteriana, inibidora de enzimas e sua atividade antioxidante (PORTO, 2002; JANKUN, SELMAN e SWIERCZ 1997).

Estudos epidemiológicos associam o consumo de *Camellia sinensis* com baixo risco de diversos tipos de câncer (SATO; MYATA, 2000; TOIT *et al.*, 2001) e seus polifenóis têm demonstrado ser um efetivo agente quimiopreventivo (CABRERA *et al.*, 2003; GOSSLAU; CHEN, 2004). Outras propriedades estão relacionadas à prevenção de Alzheimer (FANG *et al.*, 2016) e diabetes (HEMALATHA *et al.*, 2016), ao aumento da atividade insulínica (ANDERSON; POLANSKY, 2002), capacidades antimicrobiana, imuno-estimulatória e anti-inflamatórias (SAITO *et al.*, 2006), proteção contra doenças cardiovasculares (SANO *et al.*, 2004) e cerebrais (SUZUKI *et al.*, 2004), inibição do crescimento de cáries (SAKANAKA *et al.*, 1989), inibição de alergias (YEO *et al.*, 1995), redução da pressão arterial sistêmica e prevenção de gota (NA *et al.*, 1996) e estudos demonstram que estes compostos possuem atividades microbianas notáveis e podem substituir os antioxidantes sintéticos em alimentos (GOLI *et al.*, 2005).

2.4 Avaliação da atividade antioxidante

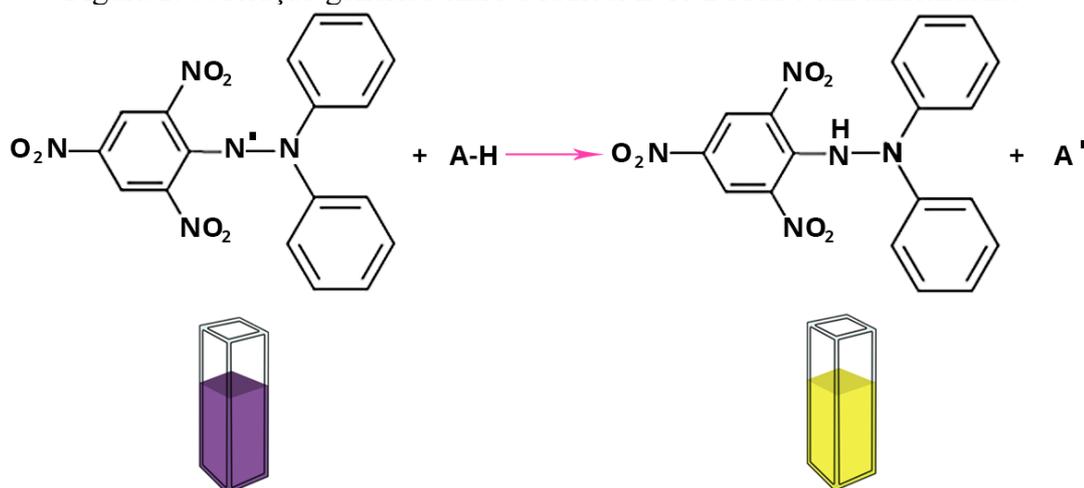
A medida da capacidade antioxidante engloba a ação cumulativa de todos antioxidantes presentes na amostra. Um método ideal para avaliação da capacidade antioxidante deve ser rápido, reprodutível, requerer pequenas quantidades de reagente e não ser influenciado pelas propriedades físicas dos compostos (MARCO, 1968). Essa avaliação *in vitro* é importante para verificar se há correlação entre os antioxidantes potentes e os níveis de estresse oxidativo (HUANG *et al.*, 2005).

Os métodos para avaliação podem se basear na transferência de elétrons, tais como método Folin-Ciocalteu, sequestros de radicais livres, tais como o DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) ou ainda a metodologia descrita por Zhishen *et al.* (1999).

O método do DPPH é simples e altamente sensível, o que o torna amplamente utilizado nos estudos de antioxidantes naturais. O DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) é um radical de nitrogênio orgânico, solúvel em meio orgânico, estável e possui absorvância máxima na faixa

de 515-520nm. O DPPH é formado diretamente em solução e possui coloração violeta, porém na presença de doadores de hidrogênio [A-H] (antioxidantes sequestrantes de radicais livres) se reduz a hidrazina a qual possui coloração amarela (Figura 2.5). A redução do DPPH é acompanhada pelo monitoramento do decréscimo da absorvância (SILVA, 2018).

Figura 2. 5: Reação genérica entre o radical livre DPPH e um antioxidante.



Fonte: SILVA, 2018.

A determinação de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu também é simples, de fácil reprodutibilidade e bem aceita na literatura. A Figura 2.6 apresenta a desprotonação do ácido gálico (exemplo de composto fenólico) em meio básico, gerando ânions de fenolato. Em seguida, conforme a Figura 2.7, ocorre a reação de oxirredução entre este ânion com o reagente de Folin (mistura dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdídico) na qual o molibdênio e o tungstênio sofrem redução, formando o molibdênio azul e o tungstênio azul, e consequentemente mudando a coloração da solução para azul, sendo que quanto maior a presença do composto fenólico mais azul se torna a coloração da solução (Figura 2.8). A intensidade dependerá da concentração de substâncias redutoras na amostra (CICCO *et al.*, 2009). Entretanto, essa metodologia possui uma limitação, pois além dos compostos fenólicos quantifica também outros compostos com capacidade redutora, tais como ácido ascórbico e açúcares redutores (ZHAO *et al.*, 2017).

Figura 2. 6: Desprotonação do ácido gálico.

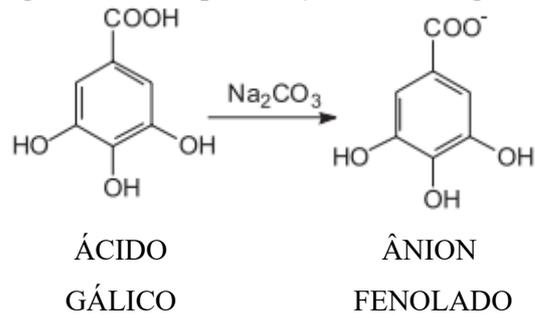


Figura 2. 7: Reação do ânion fenolado com molibdênio.

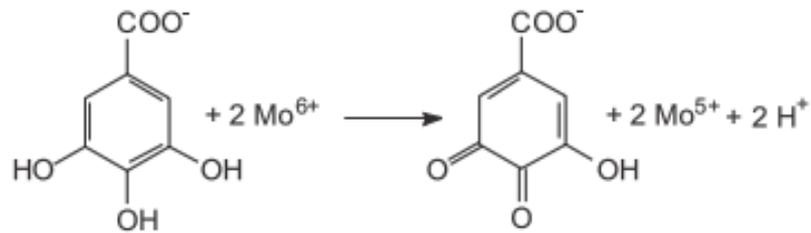
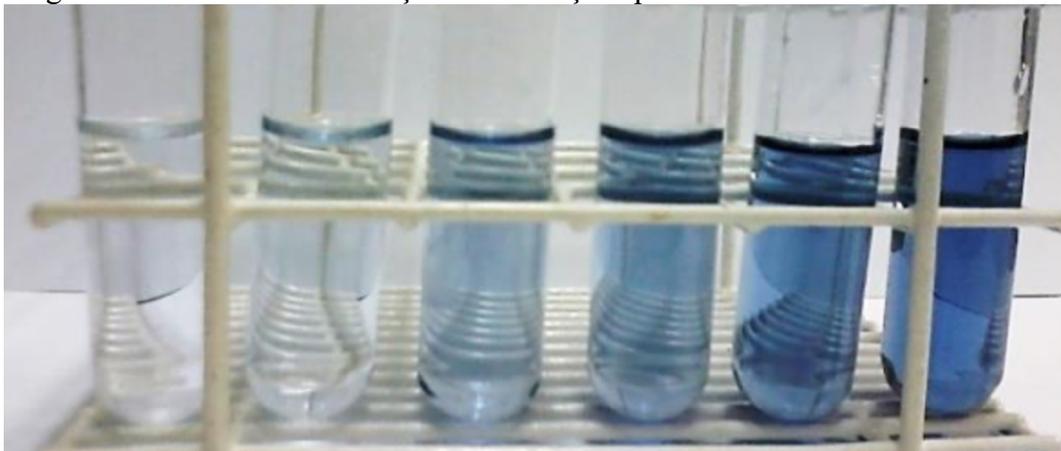


Figura 2. 8: Diferentes colorações das soluções pelo método de Folin-Ciocalteu.



Fonte: SMIDERLE, 2013.

Para a determinação de flavonóides totais a metodologia descrita por Zhishen *et al.* (1999) consiste em um método colorimétrico com leitura de absorbâncias a partir da adição de NO_2 , AlCl_3 e NaOH , em que a coloração final da solução se torna avermelhada à medida em que a concentração de flavonóides aumenta (Figura 2.9).

Figura 2. 9: Colorações das soluções na determinação de flavonóides totais.



2.5 Extração dos compostos bioativos

A extração com solventes é o método mais aplicado para a separação dos compostos bioativos presentes no chá. Porém, esta técnica pode não ser seletiva e ainda o extrato obtido conter solventes que podem ser prejudiciais a saúde.

Diversas variáveis podem afetar o rendimento da extração de antioxidantes provenientes de fontes naturais, tais como: composição, concentração do solvente, tempo de extração, temperatura, pH, tamanho da partícula, umidade, razão líquido-sólido, agitação e tipo de solvente (BERNARDES, 2018).

De acordo com Oliveira (2014) *apud* Azmir *et al.* (2013) o sucesso de uma técnica de extração está diretamente relacionada como o solvente utilizado e a aplicação de calor e/ou maceração. De forma geral, a extração de compostos fenólicos se baseia na difusão dos compostos de uma matriz sólida (amostras do alimento) utilizando uma matriz líquida (solvente). O sucesso de qualquer técnica de extração pode ser apontado então como o método em que a maior quantidade de compostos bioativos seja extraído pelo solvente.

Dentre estas variáveis, se destaca o tipo de solvente, sendo os mais polares capazes de extrair os compostos fenólicos com maior eficiência. Para a escolha do solvente, devem ser considerados alguns fatores como: afinidade molecular entre solvente e soluto, transferência de massa, segurança ambiental, toxicidade para humanos e viabilidade financeira.

Metanol e misturas de metanol/água são os solventes mais utilizados para extração de substâncias fenólicas (OLIVEIRA, 2014 *apud* TSAO, 2010). O grande problema do uso do

metanol está exatamente associado à sua elevada toxicidade. Desta maneira, é essencial o estudo de novos métodos de extração, utilizando solventes com menor toxicidade.

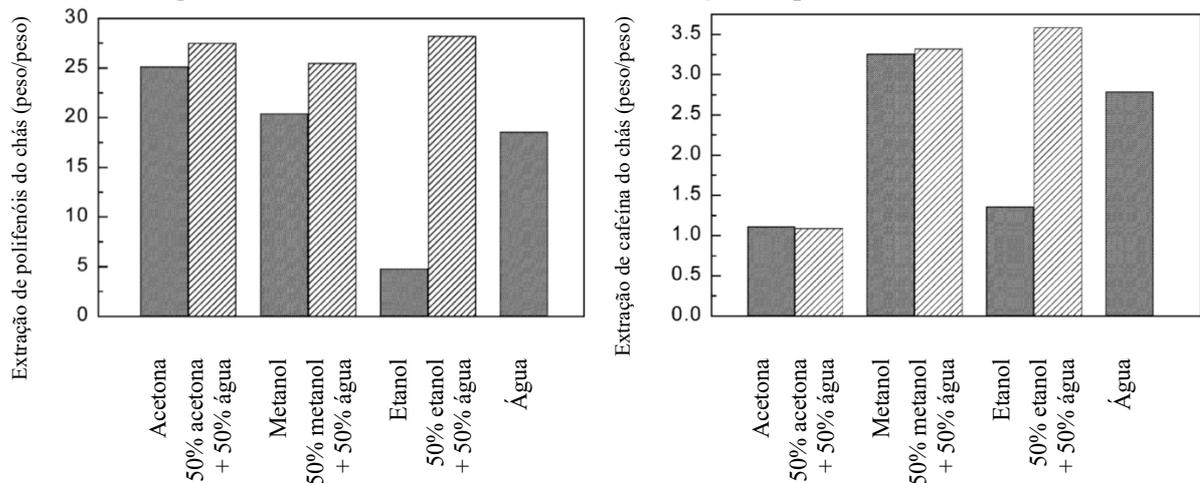
Outro fator citado como primordial para o sucesso de uma extração é a aplicação de calor ou maceração. Muitos trabalhos referentes à extração de compostos bioativos como fenólicos e flavonóides de plantas utilizam métodos de infusão de folhas em solventes preaquecidos ou com aquecimento em balão volumétrico do solvente com a matriz sólida. Mas considerando que a aplicação de calor é um fator que influencia no processo, alguns pesquisadores desenvolveram trabalhos analisando também outras técnicas como extração em ultrassom e micro-ondas (MAE).

O blend de chás estudado nesta dissertação é um produto diferente e exclusivo da Provanza. Desta forma, ao se tratar de um produto inovador, não existem trabalhos que sejam referências bibliográficas para este produto em questão. Porém, considerando que o blend de chás é formado 80% em peso por chá verde e chá branco, provenientes da planta *Camellia sinensis* utilizou-se a vasta quantidade de pesquisas já existentes sobre esta planta para embasamento teórico e referências bibliográficas.

Xuejun *et al.* (2003) realizaram procedimentos de extração de bioativos das folhas de chá verde em seis etapas e foram avaliados os compostos polifenóis e cafeína, pela técnica de análise colorimétrica. A primeira etapa analisou a influência da concentração de etanol em volume, extraído no micro-ondas por 5 min e com 20mL/g de razão líquido/sólido, Xuejun *et al.* (2003) identificaram a concentração ideal como 50%. A segunda etapa foi a influência do tempo de extração, na faixa de 0,5 a 8 min, extraído com solvente hidroetanólico 50% em volume e com 20mL/g de razão líquido/sólido, definido o tempo de extração ideal como 4 minutos. A terceira etapa foi a influência da razão líquido/sólido, variando de 10 a 25mL/g, sendo extraído no micro-ondas por 5 min com solvente hidroetanólico 50% em volume, sendo que os autores determinaram a razão ideal como 20mL/g.

Com os parâmetros definidos em extração em micro-ondas por 4 min com uma solução hidroetanólica com 50% de etanol, por 4 min e uma concentração líquido/sólido de 20mL/g, a quarta etapa do trabalho de Xuejun *et al.* (2003) consistiu na variação dos solventes utilizados entre, etanol, metanol e acetona puros, com 50% v/v de água e também com água pura. Os resultados obtidos pelos autores são mostrados na Figura 2.10, no qual pode se observar que extrações realizadas com 50% água e 50% etanol são as mais eficientes na extração de polifenóis dos chás.

Figura 2. 10: Efeitos dos solventes na extração de polifenóis e cafeína.



Fonte: XUEJUN *et al.* (2003).

A quinta etapa do trabalho de Xuejun *et al.* (2003) avaliou os efeitos de uma pré lixiviação de 0 a 90 min em temperatura ambiente (20 °C) antes da extração em micro-ondas por 4 min com uma solução hidroetanólica com 50% de etanol, por 4 min e uma concentração líquido/sólido de 20mL/g. Este teste levou os pesquisadores à conclusão de que este pré tratamento da amostra aumentou em cerca de 29% a quantidade de polifenóis e cafeína extraídos.

Portanto, para finalizarem este trabalho, Xuejun *et al.* (2003) compararam todos estes resultados ideais definidos nos 5 testes anteriores para comparar as técnicas de extração no micro-ondas por 4 min com pré tratamento de 90 min, ultrassom por 90 min, extração a temperatura ambiente (20 °C) por 20 h e extração por aquecimento (85 °C) com refluxo durante 45 min, todos utilizando solução hidroetanólica com 50% de etanol, por 4 min e uma concentração líquido/sólido de 20mL/g. Os autores concluíram então que a técnica de extração em micro-ondas (MAE) resultou em extratos com maiores concentrações de polifenóis e cafeína e que indústrias alimentícias e medicinais seriam beneficiadas com essa tecnologia emergente do MAE, que é rápida, segura e mais ecológica do que os métodos convencionais de extração.

Perva-Uzunalic' (2006) comparou extrações de bioativos das folhas de chá verde com a razão líquido/sólido de 20mL/g com solventes em diferentes concentrações (de 25% até 100%) de etanol, metanol, acetona, água e acetonitrila, em temperatura constante através do aquecimento da solução contendo solvente e matriz sólida em balão volumétrico com condensador. Em uma segunda etapa a autora analisou a água como solvente, uma razão de 100mL/g e temperaturas constantes de 60 °C, 80 °C e 95 °C, variando o tempo de extração de 1

a 120 min. A melhor condição observada por ela foi a razão líquido/sólido em 100mL/g, com solvente hidroetanólico com 50% de etanol com tempos de extração de 5 a 10 min em elevadas temperaturas. Perva-Uzunalic´(2006) avaliou os compostos EC, ECG, EGC, EGCG, miricetina, quercetina e kaempferolem HPLC.

Liang *et al.* (2007) avaliaram as influências de razões líquido/sólido entre 10mL/g, 15mL/g e 20mL/g , tempos entre 1, 3 e 5 min no processo de extração de bioativos das folhas de chá verde através da técnica de infusão em água quente com temperaturas entre 50 °C, 75 °C e 100 °C. O experimento com melhor resultado foi com 3 min de extração com 20mL/g e a água com temperatura de 100 °C. Liang *et al.* (2007) avaliaram também os compostos flavonóides em HPLC.

Rusak *et al.* (2008) analisaram extrações para folhas de chá verde e chá branco com razão líquido/sólido de 100mL/g pelo método de infusão com soluções a 80°C em diferentes concentrações de etanol em água, v/v (10%, 40% 70%), água pura e água com 2,5% de suco de limão. Os autores identificaram como melhor solução extratora soluções com 40% de etanol e afirmaram que o chá verde possui mais compostos bioativos do que o chá branco. Neste trabalho foram avaliados o teor de fenólicos totais pelo método Folin–Ciocalteu com o padrão do ácido gálico. Para o teor de flavonóides totais foi feita uma reação dos flavonóides com formaldeído que ocasiona a precipitação dos flavonóides, o precipitado era removido e o sobrenadante analisado (compostos que não são flavonóides). Desta forma o teor de flavonóides total foi obtido através da subtração do total de fenólicos pelo resultado da análise dos compostos que não eram flavonóides. Neste estudo também foi analisado a atividade antioxidante através do ensaio de potência redutora/antioxidante férrica e a atividade sequestradora de radicais livres dos extratos de chá foi determinada pelo ensaio de descoloração por cátions radicais ABTS (ABTS * +). Para finalizar os autores também realizaram análises de quantificação de diversas catequinas, flavonoides e flavonas em HPLC.

Hu (2016) analisou extrações de compostos das folhas do chá verde observando a taxa de intumescimento das folhas infundidas, com razão líquido/sólido de 50mL/g em temperatura ambiente através da centrifugação do solvente com a matriz sólida em centrífuga a 150 rpm por 2,5 h, variando-se as concentrações de etanol e água no solvente e avaliou-se várias catequinas e a cafeína em HPLC. O autor afirma que comparado com a extração em água, as catequinas e cafeínas são melhor extraídas do chá verde com soluções hidroetanólicas, especialmente em 50% de etanol, mas dificilmente em etanol absoluto puro, uma vez que esta condição gera um menor intumescimento da folha, evitando que os compostos bioativos sejam extraídos.

A técnica de extração com micro-ondas (MAE) acaba se tornando muito favorável, uma vez que produz extratos com elevado teor de compostos bioativos, reduz significativamente o tempo de extração e, conseqüentemente, a degradação dos compostos antioxidantes (VIEIRA *et al.*, 2017). Quando MAE é aplicada a absorção da energia por moléculas polares leva à ruptura celular o que facilita a extração (BOURAS *et al.*, 2015). A utilização de micro-ondas implica no rápido aquecimento do solvente e aumento da pressão interna dentro do sólido, aumentando a eficiência de extração e também reduz a deterioração dos compostos fenólicos (BHUYAN *et al.*, 2015; VIEIRA *et al.*, 2017).

Considerando os aspectos supramencionados, nesse trabalho foram avaliadas as extrações dos compostos antioxidantes do blend de chás utilizando diferentes soluções hidroalcolólicas como solvente em micro-ondas.

2.6 Identificação e quantificação dos compostos fenólicos

A quantificação dos compostos fenólicos totais pode ser realizada por diversas técnicas espectrofotométricas, entretanto, o método que utiliza o reagente Folin-Ciocalteu é o mais utilizado. Porém, como reportado anteriormente, este método possui uma limitação, pois além dos compostos fenólicos quantifica também outros compostos com capacidade redutora, tais como ácido ascórbico e açúcares redutores. Uma alternativa que permite a quantificação e identificação dos compostos fenólicos presentes na amostra é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Este processo consiste na separação dos componentes de uma mistura entre a fase móvel e a fase estacionária. Ao adicionar a amostra no sistema cromatográfico, há uma distribuição dos componentes da amostra entre as duas fases, e estes componentes se deslocam mais lentamente que a fase móvel devido ao efeito retardante da fase estacionária. A velocidade com que cada componente desloca-se pelo do sistema é determinada pelo equilíbrio de distribuição. Esta cromatografia emprega colunas, recheadas de materiais especialmente preparados e uma fase móvel que é eluída sob altas pressões. É uma técnica amplamente usada para quantificação de compostos fenólicos, açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos e proteínas. Tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande quantidade de compostos presentes em vários tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e sensibilidade (SKOOG *et al.*, 2002).

A fase móvel nas análises em CLAE deve ser líquida, apresentar elevado grau de pureza, dissolver a amostra sem decompor seus componentes, não dissolver a fase estacionária, deve ser compatível com o detector, não tóxica, de baixa viscosidade (efeito sobre a transferência de massa entre as fases móvel e estacionária) e ter polaridade adequada para permitir uma separação satisfatória dos componentes da amostra. A fase móvel poderá ser isocrática, ou seja, um único solvente de composição constante. Entretanto, algumas amostras requerem a variação da composição da fase móvel a qual é denominada gradiente. A separação por gradiente tem as vantagens de reduzir o tempo de análise, aumentar a resolução e reproduzir picos, tornando-os mais finos e mais simétricos. Entretanto, pode aumentar o custo, por requerer uma bomba com misturador, ademais pode danificar a coluna devido à mudança de força da fase móvel ao longo da análise (SKOOG *et al.*, 2002).

A fase estacionária deve apresentar resolução na separação da mistura, ser de fácil introdução na coluna, produzir pequenas quedas de pressão e baixo custo. As partículas devem ser pequenas (3 a 40 μm) e uniformes. Quanto menores as partículas, menores serão as distâncias de contato do soluto com as fases estacionárias e móvel e maior será a eficiência da coluna. Podem ainda ser classificadas como: sólidos rígidos, semi-rígidos ou não rígidos, podem ser porosas ou peliculares (superficialmente porosas), esféricas ou irregulares. O material mais utilizado atualmente é a sílica que pode possuir diversos grupos funcionais ou camadas poliméricas ligadas à sua superfície (CIOLA, 2000).

A cromatografia pode ser classificada em fase normal ou com fase reversa de acordo com a natureza das fases móvel e estacionária. Na fase normal a fase estacionária utilizada é polar e a fase móvel é apolar, em relação à eluição, os solutos mais apolares são eluídos primeiramente, enquanto que os polares são retidos pela fase estacionária e são eluídos depois. Com fase reversa, a fase estacionária é apolar e a fase móvel polar, portanto os compostos polares são eluídos primeiro e os mais apolares eluídos posteriormente (VOGEL, 1981; COLLINS *et al.*, 2006).

A cromatografia líquida de alta eficiência é amplamente utilizada em vários processos, como em indústrias alimentícias, farmacêuticas, refinarias, químicas, dentre outras, na qual há a necessidade de separar, isolar, purificar e quantificar componentes de misturas que apresentam elevada complexidade.

Bindes (2017) e Sousa (2016) avaliaram a composição do extrato de chá verde em HPLC (CLAE) (marca Shimatzu modelo LC- 20A Prominence). Estes autores empregaram a metodologia descrita por Wang (2000). Utilizando a coluna Discovery HS C18, 5 μm de

dimensão 25 cm por 4,6 mm adquirida da Supelco, com uma vazão da fase móvel de 1,0 mL min⁻¹, temperatura de 30 °C, comprimento de onda de 270 nm e um volume de 20 µL de amostra. A fase móvel utilizada foi: metanol/água/ácido ortofosfórico na proporção de 20/79,9/0,1 em volume respectivamente, e foram obtidos os compostos: GA, EGC, EC, EGCG, catequina e cafeína.

2.7 Granulação

Na indústria o termo granulação é utilizado para se referir à aglomeração por agitação. Durante a granulação o material particulado pode ser introduzido no processo, em modo contínuo ou batelada. Dentre os processos que utilizam a aglomeração por agitação destacam-se o leito fluidizado, discos e tambores rotativos, e misturadores. Apesar da grande diversidade de equipamentos e processos, o princípio da granulação baseia-se na atomização de um líquido ligante sobre um leito de partículas em agitação. Portanto, a qualidade do produto final depende da intensidade da agitação e da mistura entre as partículas sólidas e o líquido adicionado.

O objetivo básico de um processo de granulação é obter uma distribuição granulométrica específica para o granulado desejado. Grânulos que não estejam dentro do tamanho padrão desejado para aquela granulação específica, pequenos ou grandes demais, podem ser devolvidos para o processo na forma de reciclo. Várias indústrias utilizam este processo, podendo-se destacar as indústrias farmacêuticas, alimentícias, produtos agrícolas e indústrias metalúrgicas.

A aglomeração é um processo de aumento do tamanho de partículas e pode ocorrer pela formação de pequenos grânulos gerados por meio da colisão e aderência entre partículas unitárias, ou pela formação de uma camada em torno de um núcleo, no qual as partículas colidem. A força de ligação pode ser proveniente das forças de Van der Waals ou eletrostáticas, ou pela formação de pontes sólidas geradas a partir de síntese química, cristalização ou adição de um líquido ligante.

De acordo com Schubert (1993), a aglomeração por umidificação pode ser realizada pelo método dinâmico ou estático (Figura 2.11). O método dinâmico baseia-se na união entre as partículas, devido à solidificação das pontes líquidas originadas pelas forças de coesão (resultantes do choque entre as partículas), que são intensificadas pela umidificação. Já o método estático baseia-se no mesmo princípio do método dinâmico, porém como as partículas

encontram-se paradas, as pontes sólidas (oriundas pela dispersão de um líquido, com subsequente secagem) são formadas pelos pontos de contato. Pode-se citar como exemplos de processos de aglomeração por umidificação que utilizam o método dinâmico: a aglomeração em leito fluidizado, a aglomeração em misturadores, a aglomeração por aplicação de jato de vapor, e a aglomeração realizada pela alimentação do pó juntamente com o líquido pulverizado sobre um disco inclinado, que gira em alta velocidade. Um exemplo de método estático é a distribuição das partículas sobre uma esteira em movimento, que passam pelos processos de umedecimento, secagem e resfriamento.

Figura 2. 11: Principais etapas na aglomeração por umidificação

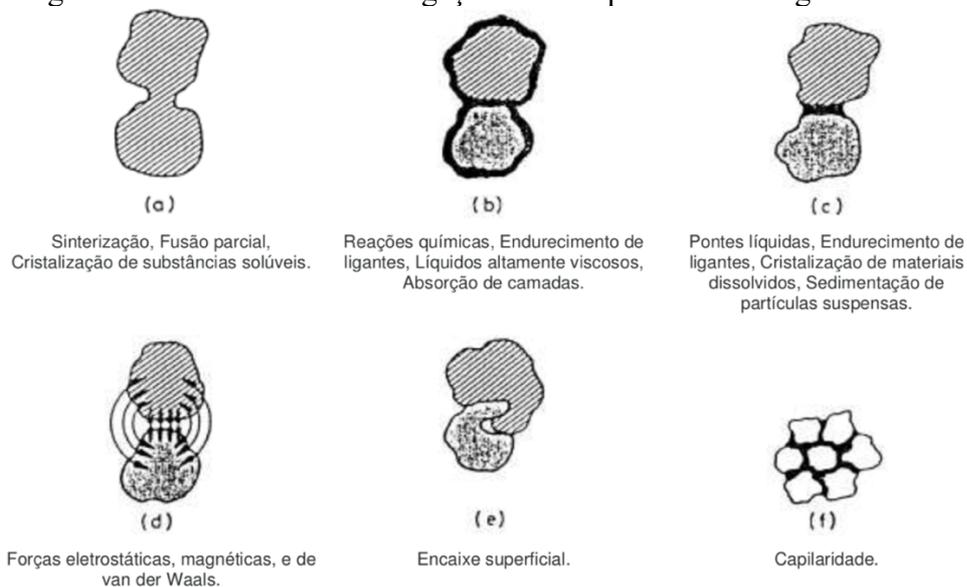
Condição	Tipo de processo	Método dinâmico	Método estático
		Partículas em movimento	Partículas paradas
Partículas secas			
Partículas umedecidas	Atomização de líquido ou condensação de vapor		
	Colisão entre partículas		
Aglomerado úmido	Formação de pontes líquidas		
Aglomerado seco	Secagem, formação de pontes sólidas; resfriamento; classificação.		

Fonte: SCHUBERT, 1993.

O processo de adesão entre partículas e formação de aglomerados é decorrente do aumento do conteúdo de umidade do produto. Deste modo, as condições de processo que acarretam num acréscimo da umidade do leite, favorecem o aumento de tamanho de partícula até um determinado ponto, quando, a partir de então, o aumento excessivo da umidade do leite ocasiona a saturação das partículas, formação de torrões e conseqüente colapso da fluidização. O trabalho pioneiro de Rumpf (1958) apresenta um resumo completo dos vários mecanismos de ligação, que podem ser classificados pela presença ou não de substâncias ligantes.

A união de partículas (Figura 2.12) pode ser realizada pela formação de pontes líquidas ou sólidas. As pontes sólidas podem ser formadas por sinterização, reação química nos pontos de contato, endurecimento do material ligante ou pela cristalização de materiais dissolvidos. As pontes líquidas são formadas pela ação da capilaridade entre a partícula e o fluido, ou por um ligante de alta viscosidade. Na ausência de substâncias ligantes, as forças de Van der Waals são os principais mecanismos de ligação, seguido pela atuação de forças eletrostáticas, que podem ser atrativas ou repulsivas. A ligação entre as partículas também pode ocorrer mecanicamente, pelo encaixe superficial de partículas fibrosas (PIETSCH, 2003).

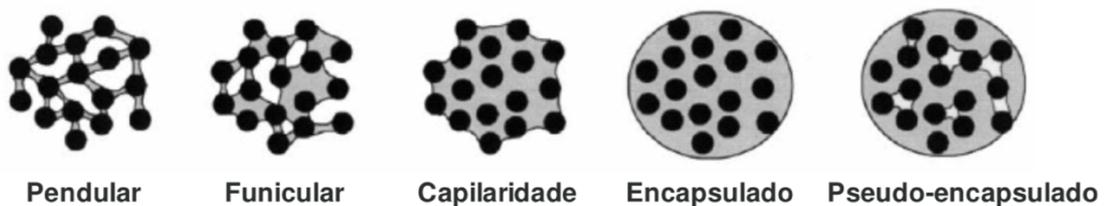
Figura 2. 12: Mecanismos de ligação mais importantes em aglomerados.



Fonte: PIETSCH, 2003.

A aglomeração de partículas por meio de ligações líquidas pode ser realizada a diferentes níveis de saturação de líquido. Na Figura 2.13 são ilustrados os principais estados de saturação de líquido que podem acarretar na formação de um grânulo, isto é, pendular, funicular, capilaridade, encapsulado e pseudo-encapsulado.

Figura 2. 13: Diferentes estados de saturação das pontes líquidas.



Fonte: IVENSON *et al.*, 2001a.

No estado pendular as pontes líquidas se formam apenas nos pontos de contato entre as partículas. O estado capilar ocorre devido à completa saturação dos poros do grânulo, entretanto a superfície externa do grânulo não é recoberta com líquido. O estado funicular é a transição entre o estado pendular e o capilar, onde os poros ainda não estão totalmente preenchidos com líquido. O encapsulamento ocorre quando a superfície externa das partículas é totalmente recoberta por uma camada de líquido. Por fim, o estado de pseudo- encapsulamento ocorre quando a partícula encapsulada possui alguns poros vazios, que não foram preenchidos pelo líquido (IVESON *et al.*, 2001a).

A etapa inicial em todos os processos da granulação úmida é a distribuição de um líquido ligante sobre um leito de partículas secas. À medida que o pó passa pela zona de aspersão, as gotículas de líquido penetram no leito de partículas por capilaridade e formam núcleos (LITSTER, 2003).

A nucleação ideal ocorre quando cada gotícula forma um núcleo. De acordo com Litster (2003), esta condição ideal é favorecida quando a nucleação possui um controle de gotículas. As gotículas também devem penetrar rapidamente no leito de partículas antes de se coalescerem com outras gotículas na superfície de pó. Litster (2003) constatou que a maioria dos granuladores de escala industrial não opera no regime com controle de gotículas, ou nucleação ideal, impossibilitando que o processo de granulação seja aperfeiçoado.

Quando a etapa de umedecimento e nucleação é bem controlada, as características de densidade e tamanho dos grânulos são governadas pelas etapas de consolidação e coalescência, respectivamente. A consolidação do grânulo depende da sua deformação causada pelo impacto durante as colisões entre partículas no granulador. A deformação do grânulo é função das propriedades mecânicas da estrutura do grânulo e da energia de colisão (LITSTER, 2003).

A literatura também aponta para uma grande influência de algumas propriedades no processo de granulação como as características do sólido (distribuição de tamanho das partículas de pó, densidade, forma das partículas), do líquido (como viscosidade e tensão superficial) e condições operacionais como a relação líquido/sólido (L/S), o tempo, método e localização da adição do fluido ligante, (RAMACHANDRAN *et al.*, 2008).

A quantidade de líquido utilizada na granulação, ou seja, a taxa L/S, é um fator de extrema importância e uma das principais variáveis do processo de granulação. Alta fase líquida favorece a granulação, aumentando o diâmetro médio das partículas formadas. Depois de seco, os sais solúveis (que formavam o ligante) se recristalizam, e estes cristais podem ser

considerados “o esqueleto” do granulado, conferindo a ele, maior resistência física (RODRIGUES, 2012).

A dureza do granulado, ao lado da eficiência de granulação, é uma característica muito importante do produto, pois, durezas baixas, levarão a quebra dos grânulos.

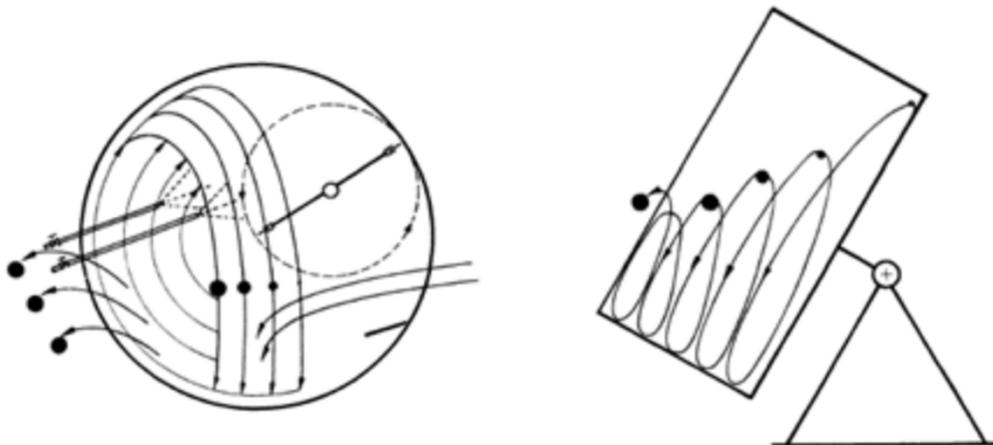
Segundo Knight (2001), dentre os principais benefícios obtidos pela granulação, destacam-se:

- Reduzir a formação de sujeiras e finos;
- Aumentar a fluidez;
- Modificar a forma e aparência do produto, tornando-o mais atrativo;
- Reduzir ou aumentar a densidade do leito;
- Minimizar a formação de torrões durante a estocagem;
- Aumentar as características de dispersão e dissolução;

2.8 Disco rotativo

A característica mais importante do granulador de disco inclinado é a sua capacidade de separação por tamanho, pois ocorre uma segregação e descarga dos aglomerados maiores, conforme indicado na Figura 2.14.

Figura 2. 14: Fluxo de material dentro de um disco granulador.



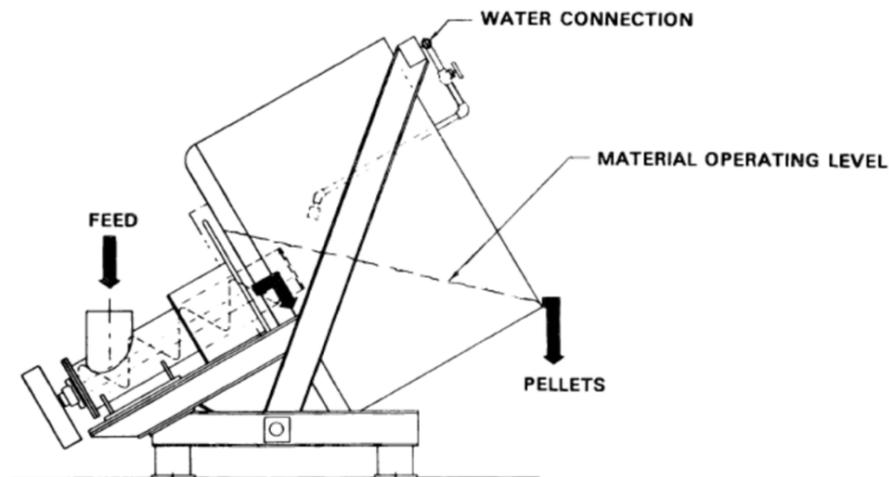
Fonte: HINTZ; TOMAS, 2014.

O fato de aglomerados e partículas de diferentes tamanhos percorrerem diferentes caminhos no disco significa que a etapa de crescimento em que os aglomerados são umedecidos

pode ser escolhida, conferindo flexibilidade ao funcionamento do equipamento. O posicionamento dos bicos e do ponto de adição da alimentação da solução ligante na superfície do disco é de importância considerável. A pulverização direta sobre partículas de alimentação e nos finos em sua trajetória incentiva a coalescência e nucleação de novos aglomerados. O umedecimento de aglomerados estabelecidos favorece a deposição em camadas de finos secos sobre eles. O melhor posicionamento da pulverização requer ensaios experimentais para obter o melhor resultado para um determinado material alimentado e para o produto desejado (CARLETTE, 2017).

Como relatado anteriormente, o disco rotativo pode operar em processo contínuo, quando há, por exemplo, alimentação de sólidos na parte traseira (Figura 2.15) ou em processos de batelada. Para os processos em batelada o equipamento é similar ao disco utilizado no processo contínuo, porém não apresenta o equipamento de alimentação, e portanto, o fundo do disco é fechado.

Figura 2. 15: Disco profundo com alimentação traseira.

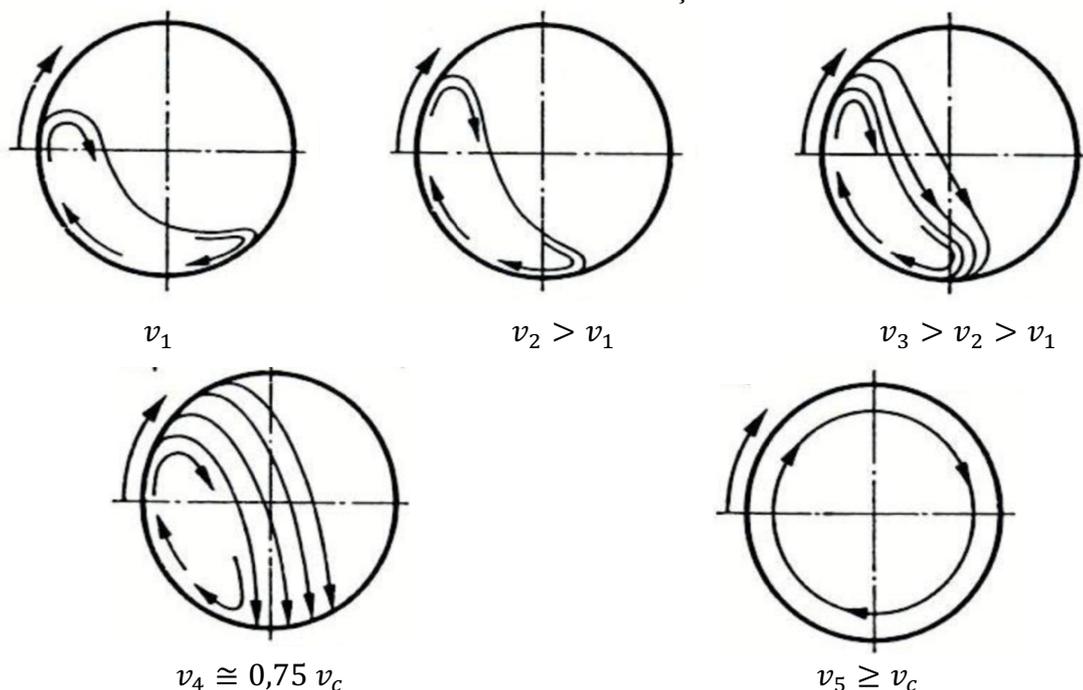


Fonte: CAPES, 1980a, p.72.

Os processos de granulação à úmido em discos rotativos sofrem influência de uma grande quantidade de variáveis como a velocidade de rotação do disco, o grau de enchimento do disco, o ângulo de inclinação do equipamento, a quantidade de solução ligante adicionada, quantidade de material ligante presente nesta solução, qual produto é utilizado como ligante e o local que ela é aspergida sobre o fluxo de sólidos. Além disso, também afetam a qualidade do produto final, o tempo de granulação e até mesmo a altura da borda do equipamento.

A velocidade de rotação do granulador interfere no movimento do material no interior do leito. Em rotações baixas, o material permanece no fundo do disco (v_1), com movimento relativo entre as partículas muito baixo. Esta característica não é recomendada, pois não é possível obter uma boa mistura dos materiais, resultando em excesso de grossos e finos formados durante a granulação. À medida que a velocidade de rotação aumenta o material no interior do granulador “rola” um sobre o outro, sendo que a partir de uma determinada velocidade inicia-se o cascadeamento (v_4), propiciando, assim, maior contato entre as partículas e alto movimento relativo (Figura 2.16). Geralmente a velocidade de cascadeamento corresponde a 0,75 da velocidade crítica (v_c). Quando a velocidade do equipamento atinge ou supera a velocidade crítica as partículas são fixadas à borda ou podem ser jogadas para fora do disco (v_5). As faixas de velocidade onde ocorre o rolamento e o cascadeamento não são bem definidos e variam em função da natureza do material utilizado e da umidade (CARLETTE, 2017).

Figura 2. 16: Movimento das partículas no interior do disco rotativo em diferentes condições de velocidade de rotação.



Fonte: HINTZ; TOMAS, 2014.

Capes (1980) indicou os ângulos de 40 a 70° em relação à horizontal para se obter os melhores resultados, porém, afirmou que os discos são tipicamente operados com o ângulo entre 45 e 55°.

Como já mencionado, não existem trabalhos que sejam referências bibliográficas para este blend de chás, em que o mesmo seja utilizado em processos de granulação. Porém, foram estudados autores que utilizaram o mesmo tipo de equipamento para que fosse formada a base dos planejamentos e estudos subsequentes.

Rodrigues (2012) estudou a granulação à úmido utilizando o super fosfato simples em disco rotativo. Neste trabalho foram analisadas a influência das variáveis: tempo, velocidade de rotação, fase líquida, inclinação e percentual de enchimento em relação aos resultados de resistência física dos grãos e eficiência de granulação. O autor constatou que as variáveis mais significativas foram a velocidade de rotação do disco e a inclinação. A inclinação do disco exerce influência na dinâmica de queda no leito, e ao aumentar a inclinação, promove-se maior consolidação e, portanto menor porosidade, o que aumenta a resistência física destes. Além disso, com aumento da dinâmica de queda das partículas, os fenômenos de moagem, atrito e quebra são acentuados, aumentando a uniformidade granulométrica e, segundo suas conclusões, inclinações superiores a 52,5° agem de forma positiva nas eficiências de granulação e dureza. Já a velocidade de rotação promove o contato entre do material alimentado no disco e deste com a fase líquida, atuando na probabilidade de granulação. Além disso, aumenta a consolidação e o polimento, reduzindo a porosidade e melhorando a dureza.

Rodrigues (2012) também reporta que o aumento da fase líquida auxilia a formação de grãos, devido ao aumento no número de pontes disponíveis entre eles. Por outro lado, uma diminuição na fase líquida reduz a formação de grãos o que demanda maior contato entre as partículas para formá-los. Referente ao enchimento do disco a autora constatou que 15% em volume resulta nos melhores resultados de resistência física, independentemente da fase líquida e da velocidade do disco, e que maiores tempos de granulação favorecem o contato e a consolidação do grão, o que propicia a aglomeração de partículas de diâmetro menor, reduz os espaços intra-granulares, e melhora a resistência física, aumentando o índice de uniformidade do produto ao final dessa operação.

Rezende *et al.* (2015) também estudaram a granulação de fosfogesso à úmido por meio de disco rotativo, utilizando a fécula de mandioca como ligante para a granulação de fosfogesso. Neste trabalho foram feitos 9 testes em duplicata nos quais eram variados a composição da solução ligante e a inclinação do disco rotativo. Os autores concluíram que a inclinação de 45°

e a concentração de 0,182g de fécula de mandioca para cada 1g de fosfogesso a ser granulado foi a melhor condição, sendo assim, confirmaram que quantidades pequenas de ligante não geraram bons resultados.

2.9 Ligante

No processo de granulação à úmido é necessário a utilização de um material ligante, que pode ser utilizado já diluído em uma solução pronta ou, então, ser diluído em algum material na concentração desejada antes do início do processo. Vários materiais alimentícios podem ser utilizados como material ligante neste tipo de processo, e para isso, precisam possuir algumas características fundamentais para que a granulação seja bem-sucedida.

O material ligante deve possuir uma alta capacidade de formar gel viscoso (característica das geleias), e ter solubilidade com os outros elementos que formarão a solução ligante e também ser compatível com o material a granulado, por exemplo, a não reação entre estes componentes.

Iveson, Litster e Ennis (1998), confirmaram em seus estudos que a viscosidade do fluido ligante possui efeito significativo no processo de granulação, podendo, inclusive, modificar o mecanismo de crescimento dos grânulos. Isto ocorre porque a viscosidade afeta diretamente as forças viscosas, forças estas que determinam a interação entre os grânulos.

A pectina foi descoberta em 1790 por Nicolas Louis Vauquelin. Se trata de uma substância solúvel presente nos sucos de frutas, principalmente frutas cítricas, além de estar presentes também em beterraba, maçã, maracujá, tomate e batata.

A pectina varia consideravelmente em sua capacidade de formar géis, em função da fonte da qual é extraída, devido as diferenças de tamanho da cadeia de ácidos poligalacturônicos e do grau de esterificação de seus grupos carboxílicos. O procedimento de extração, localização da pectina no tecido da planta, e o teor de açúcares neutros presentes, determinam, igualmente, consideráveis variabilidades em suas características finais.

CAPÍTULO 3 - MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo, apresenta-se o material (Seção 3.1) e os métodos utilizados para a caracterização do blend de chás, bem como, para as otimizações das extrações dos compostos fenólicos e antioxidantes, para as análises dos compostos fenólicos, flavonoides e da cafeína por cromatografia líquida de alta eficiência, para as microscopias eletrônicas de varredura, para e para as granulações realizadas em disco rotativo.

3.1 Material

Os lotes do blend de chás foram fornecidos pela Provanza, localizada no Município de Uberlândia (MG). O material foi armazenado em embalagens metalizadas de 500 g (Figura 3.1) e mantidas em temperatura ambiente, em torno de 25 °C. Para as análises de caracterização e otimização da extração o lote utilizado foi o 608962 e para as análises de granulação foi utilizado o lote 679380.

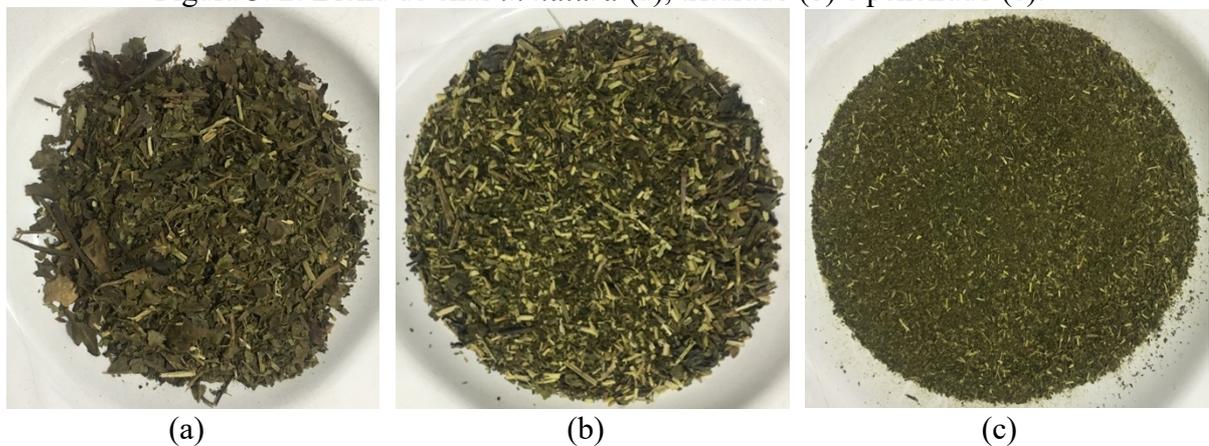
Figura 3. 1: Embalagem de armazenamento do blend de chás.



3.2 Preparação da amostra

Antes das etapas de caracterização e análise o blend de chás *in natura* era triturado em liquidificador, cerca de 100g foram triturados durante 30 segundos. Após este processo o chá triturado foi passado em uma peneira de abertura de 0,425 mm de abertura para que os finos, que foram utilizados nas etapas subsequentes, fossem separados, o material obtido nestas 3 etapas está ilustrado na Figura 3.2.

Figura 3. 2: Blend de chás *in natura* (a), triturado (b) e peneirado (c).



3.3 Caracterização do material

3.3.1 Umidade

Avaliou-se o teor de umidade do produto *in natura* pelo método de estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 h.

3.3.2 Atividade de água

A atividade de água foi determinada no analisador de atividade de água da marca Novasina, modelo Labswift.

3.3.3 pH

O pH do blend de chás foi determinado utilizando 15 g da amostra triturada em 100 mL de água destilada. A mistura foi mantida em agitador magnético da marca Fisatom e modelo 751 por 30 min. Posteriormente, a solução foi centrifugada e o sobrenadante teve seu pH aferido com phmetro ION PH-300.

3.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As análises de microscopia foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura (MEV) da Carlzeiss, modelo EVOMA10, após as amostras terem sido fixadas nos *stubs* e metalizadas com ouro no metalizador da marca Leica modelo SCD050. Para isto, o MEV foi regulado a uma distância focal de 9,5mm e voltagem de aceleração de 10kV para todas as amostras. A ampliação utilizada foi 1.000 vezes.

3.3.5 Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

As análises de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) foram realizadas em um espectrofotômetro Oxford, model 51 – ADD0048. Estas análises foram feitas para a microanálise qualitativa das amostras, de modo a identificar os elementos químicos presentes após o processo de extração do blend de chás.

3.4 Análise dos compostos bioativos

As análises dos compostos bioativos foram realizadas em ambiente climatizado com a luz apagada para evitar a degradação dos compostos. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.4.1 Determinação de compostos fenólicos totais (TPC)

Os compostos fenólicos totais foram determinados usando a metodologia descrita por Singleton Rossi (1965). O reagente de Folin Ciocalteau é uma solução de íons complexos

poliméricos formados a partir de heteropoliácidos fosfomolibdicos e fosfotungsticos. Esse reagente oxida os fenolatos, reduzindo os ácidos a um complexo azul Mo-W. O ácido gálico (GAE) monohidratado (99%) da marca Sigma foi utilizado como padrão. A equação da curva de calibração utilizada foi $y = 0,2411x$, preparada no intervalo de 0,2 a 2,0 mg de ácido gálico por mL ($r^2 = 0,9987$; $F=3753,02$; $p < 0,0001$). A leitura da absorbância foi feita a 622 nm. A concentração de fenólicos totais foi expressa em $\text{mg}_{\text{GAE}}/100\text{g}$ de amostra (base seca).

3.4.2 Determinação de compostos flavonoides totais (TFC)

Os compostos flavonoides totais foram determinados usando a metodologia descrita por Zhishen *et al.* (1999). A rutina hidratada (94%) da Sigma foi utilizada como padrão. A leitura da absorbância foi a 450nm. Este método utiliza o AlCl_3 como agente de deslocamento para diminuir a interferência de outros compostos na leitura da absorbância da solução. A equação da curva de calibração foi $y=10,7769x$, preparada no intervalo de 0,2 a 80,0 μg de rutina por mL ($r^2 =0,9942$; $F=1624,4$; $p < 0,0001$). A concentração de flavonoides totais foi expressa em $\text{mg}_{\text{rutina}}/100\text{g}$ de amostra (base seca).

3.4.3 Determinação da capacidade atividade antioxidante total

As análises de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) foram realizadas de acordo com a metodologia de Brand-Williams *et al.* (1995), com algumas modificações. Adicionou-se 3,9 mL de DPPH (0,024 g/L) à alíquota de 0,1 mL de cada concentração e deixou-as em repouso no escuro por 30 min. A absorbância foi medida à 515 nm. A concentração de DPPH foi calculada pela curva de calibração determinada por regressão linear. A porcentagem de DPPH remanescente foi representada graficamente em relação à concentração de extrato para obter a quantidade de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH em 50% (IC_{50}).

3.4.4 Determinação dos ácidos fenólicos e flavonoides em CLAE

Os padrões utilizados nesta etapa foram: Ácido gálico, Cafeína, Galato de epigallocatequina (EGCG), Catequina (C), Epicatequina (EC) e Epigalo catequina (EGC).

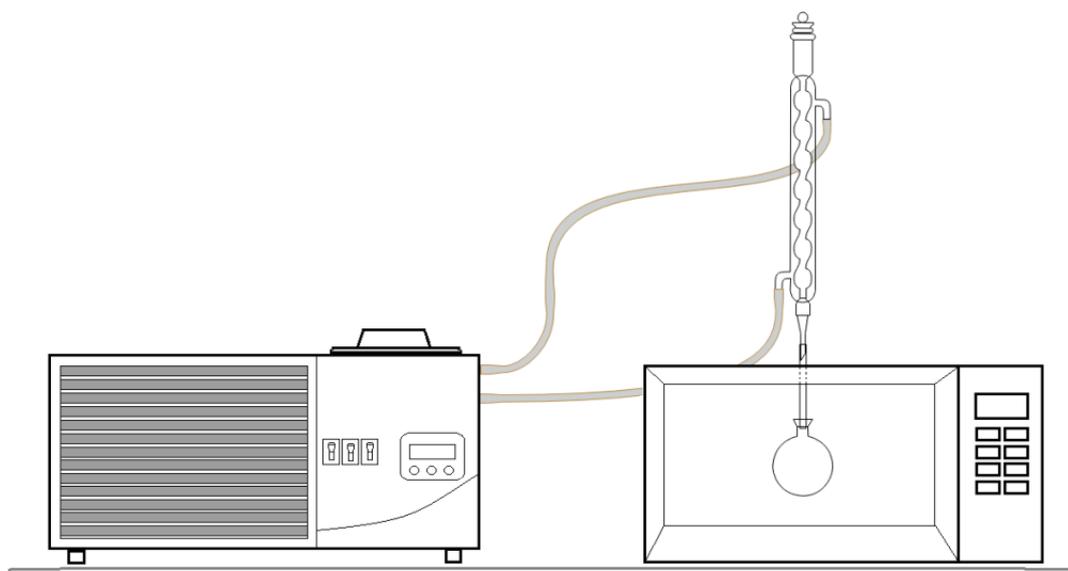
Todos os padrões e reagentes foram de grau analítico e foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). A água empregada era purificada pelo sistema Milli-Q (Millipore, Milford, MA, USA.).

O extrato do blend de chás foi concentrado em roto-evaporador. Posteriormente foi congelado por 1 h a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ e colocada no liofilizador por 24 h. O concentrado após estas etapas foi redissolvido em metanol e, posteriormente, filtrado em filtro de seringa do tipo membrana PVDF de $0,22\text{ }\mu\text{m}$. Os ácidos fenólicos e flavonoides individuais foram determinados por cromatografia líquida no HPLC (marca Shimatzu modelo LC- 20A Prominence). Empregando-se a metodologia descrita por Wang (2000). Utilizou-se a coluna Discovery HS C18, $5\text{ }\mu\text{m}$ de dimensão 25 cm por 4,6 mm adquirida da Supelco. Aplicou-se uma vazão da fase móvel de $1,0\text{ mL min}^{-1}$, temperatura de $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, comprimento de onda de 270 nm e foi injetado um volume de $20\text{ }\mu\text{L}$ de amostra. A fase móvel utilizada foi: metanol/água/ácido ortofosfórico na proporção de 20/79,9/0,1 em volume respectivamente.

3.5 Extração micro-ondas

As extrações dos compostos antioxidantes do blend de chás foram realizadas em um forno micro-ondas da marca Panasonic, modelo nº NN-SF560WRUK, frequência de 2450 Hz. O forno foi adaptado para a inserção de uma mangueira a qual era conectada um balão volumétrico e um condensador (Figura 3.3).

Figura 3. 3: Aparato para extração assistida por micro-ondas.



3.5.1 Metodologia experimental extração

O banho era ligado e ajustado à temperatura de 10 °C, sendo que a água circulava através do condensador que estava acoplado ao micro-ondas. Quando a temperatura do banho atingia os 10 °C a amostra previamente pesada, de acordo com o determinado pelo planejamento experimental, era colocada no balão volumétrico e adicionado ao balão 40 mL da solução hidroetanólica.

Para a condensação da fração vaporizada no forno, utilizou-se água de refrigeração, resfriada em um banho termostático. O balão volumétrico, com o sólido e a solução, era colocado dentro do micro-ondas e conectado à mangueira que conectava também ao condensador. A potência do forno era ajustada à 229 W e o tempo de extração programado no micro-ondas.

Após a extração, a solução era filtrada com papel filtro 102, o filtrado foi utilizado para as análises de compostos bioativos e a massa retida no filtro foi utilizada para análises de MEV e EDS.

3.5.2 Otimização da extração de compostos fenólicos utilizando micro-ondas

A Tabela 3.1 apresenta a matriz do planejamento composto central proposto para determinar a melhor condição de extração. O planejamento foi composto por 17 experimentos, dos quais 8 pontos fatoriais, 6 pontos axiais e 3 pontos centrais ($\alpha = 1,682$). As variáveis independentes foram: tempo de extração (min), razão de líquido e sólido (mL/g) e concentração mássica de etanol (%). A potência definida em testes preliminares foi igual a 229 W. Os níveis de potência foram determinados pela metodologia descrita no Apêndice A.

As codificações para estas variáveis são representadas pelas Equações 1, 2 e 3, respectivamente, tempo (x_1), razão líquido/sólido (x_2) e concentração mássica de etanol (x_3). Na Tabela 3.1 consta a matriz de planejamento com as variáveis codificadas e reais.

$$x_1 = \frac{t(\text{min}) - 2,0}{1,0} \quad (1)$$

$$x_2 = \frac{R \text{ (mL/g)} - 100,0}{50,0} \quad (2)$$

$$x_3 = \frac{C \text{ (\%)} - 50,0}{30} \quad (3)$$

Tabela 3. 1: Planejamento composto central para extração de antioxidantes em micro-ondas.

x_1	x_2	x_3	t (min)	R (mL/g)	C (%)
-1	-1	-1	1	50	20
-1	-1	1	1	50	80
-1	1	-1	1	150	20
-1	1	1	1	150	80
1	-1	-1	3	50	20
1	-1	1	3	50	80
1	1	-1	3	150	20
1	1	1	3	150	80
-1,682	0	0	0,3	100	50
1,682	0	0	3,7	100	50
0	-1,682	0	2	15,9	50
0	1,682	0	2	184,1	50
0	0	-1,682	2	100	0
0	0	1,682	2	100	100
0	0	0	2	100	50
0	0	0	2	100	50
0	0	0	2	100	50

3.6 Granulação em disco rotativo

A unidade experimental de granulação em disco rotativo (Figura 3.4) era constituída de aço inox, com 35 cm de diâmetro e 20 cm de borda. A estrutura permitia variações de inclinação através da regulagem de porcas no eixo, enquanto a rotação do tambor podia ser ajustada por meio de um inversor de frequência.

Figura 3. 4: Ilustração do disco rotativo.



Um pulverizador modelo 1/8 JJAU da marca Spraying Systems foi acoplado e fixado à haste que fica localizada na boca do disco. Por meio de uma bomba peristáltica Masterflex (Figura 3.5) a solução ligante era bombeada até o pulverizador para que a solução fosse adicionada aos sólidos dentro do disco no mesmo local em todos os testes.

Figura 3. 5: Bomba peristáltica Masterflex.



Antes do início dos testes a solução ligante era preparada e o blend de chás era pesado (m_s). A solução ligante era composta pela massa de ligante m_l (determinada pelo planejamento), 10%, em massa, de xarope de tangerina (utilizada para atribuir sabor ao produto) e a quantidade restante de água, em massa, para completar 100g de solução ligante.

Foram estudadas as propriedades da pectina para ser utilizada como material ligante, pois possui as características necessárias, ao ser solubilizada em água forma uma solução ligante viscosa, o que favorece a nucleação em torno da gota ao ser aspergida no leito de sólidos dentro do disco rotativo. Considerando ainda que a busca de alimentos saudáveis, é um dos principais objetivos deste trabalho, e que a pectina é um produto totalmente natural, proveniente de outros alimentos, de fácil obtenção, o que tornou o uso deste material como ligante alinhado ao objetivo final.

Após a preparação da solução ligante e da pesagem do blend de chás o disco era ajustado quanto à rotação e o ângulo do disco de acordo com as variáveis definidas pelo planejamento composto central.

3.6.1 Metodologia experimental granulação

Com o equipamento ajustado, a massa do blend de chás (m_s) pesada para cada teste era adicionado dentro do disco rotativo. O disco era ligado no sentido horário e, assim que a movimentação do sólido dentro do disco se estabilizava a bomba peristáltica também era ligada para o início da granulação. Foi definido como padrão a vazão mássica de ligante em 0,1516 g/s, baseado em testes preliminares, e para todos os testes foi utilizado uma mesma quantidade de solução ligante de 100 g. Sendo assim, a solução ligante era aspergida sobre os sólidos

durante 11 min. Após o desligamento da bomba o disco rotativo permanecia ligado por mais 3 min.

Ao final do experimento no disco todo o material dentro do equipamento era recolhido cuidadosamente, com uma espátula, colocado em bandejas de alumínio previamente pesadas. A bandeja com o material antes de ser inserida na estufa era pesada novamente e depois colocada em estufa na temperatura de 40 °C durante 24 h para secagem. Após as 24 h a bandeja era retirada da estufa e pesada, posteriormente eram realizadas as análises de granulometria e dureza. O processo está esquematizado na Figura 3.6.

Figura 3. 6: Descrição do processo de granulação.



Para o ponto ótimo final do experimento também foram realizadas as análises de TPC, TFC, atividade antioxidante e as análises de cromatografia líquida de alta eficiência.

3.6.2 Granulometria

A granulometria foi determinada com o auxílio de peneiras operadas por dispositivo mecânico da marca Retsch modelo AS200. Este tipo de dispositivo reproduz os movimentos

horizontais e verticais da operação manual, através da ação mecânica uniforme. As peneiras foram montadas na sequência: peneira de fundo, peneira 4,5 mm, peneira 6,35 mm, a maior abertura sempre sobre a de abertura menor. O conjunto foi colocado sobre o dispositivo mecânico de agitação e agitação durante 3 min, com amplitude de 2,00 mm/g. Após o término deste tempo, utilizando um pincel adequado, toda a amostra retida na superfície superior de cada peneira era removida e pesada. O percentual retido em cada peneira era calculado utilizando a Equação 4.

$$\% \textit{ retida} = \frac{P_1}{P_2} \cdot 100 \quad (4)$$

sendo:

P_1 = peso da amostra retida em cada peneira (em gramas)

P_2 = peso total, soma das amostras retidas em cada peneira (em gramas)

100 = fator de porcentagem

3.6.3 Dureza

O teste de dureza permite determinar a resistência do grânulo ao esmagamento ou à ruptura sob pressão radial. A dureza de um grânulo é proporcional à força de compressão e inversamente proporcional à sua porosidade. O teste consiste em submeter o grânulo à ação de um aparelho que meça a força, aplicada diametralmente, necessária para esmagá-lo. A força é medida em newtons (N) (ANVISA, 2010).

Podem ser utilizados diferentes tipos de aparelhos, os quais diferem basicamente quanto ao mecanismo empregado para exercer a pressão. A força pode ser exercida manualmente ou mecanicamente. À medida que a pressão aumenta, um êmbolo, uma placa ou um pistão aplica determinada força sobre o comprimido, apoiado em base fixa. O aparelho é calibrado com precisão de 1 N.

O teste foi realizado em um durômetro GWJ-II com 10 grânulos, eliminando qualquer resíduo superficial antes de cada determinação, e foram testados, individualmente, obedecendo sempre à mesma orientação. O resultado foi expresso como a média dos valores obtidos nas determinações. O resultado do teste é informativo.

3.6.4 Esfericidade

A esfericidade das partículas foi determinada utilizando o software Image J que é um processador de imagens que permite analisar o tamanho e a forma das partículas por imagem digital.

3.6.5 Otimização do processo de granulação em disco rotativo

Para os ensaios de granulação foram realizados dois planejamentos do tipo planejamento composto central. O primeiro consistiu em um planejamento composto central com 16 experimentos, dos quais 8 pontos fatoriais, 6 pontos axiais e 2 réplicas no ponto central ($\alpha = 1,353$). As variáveis independentes foram: massa de blend de chás (g), velocidade de rotação do disco (rpm) e a porcentagem mássica de ligante na solução (%).

Nestes ensaios fixou-se o ângulo de inclinação em 60° e a quantidade de solução ligante adicionada 100 g. As codificações para as variáveis independentes são representadas pelas Equações 5, 6 e 7, respectivamente, massa de blend de chás (x_4), velocidade de rotação do disco (x_5) e porcentagem mássica de ligante na solução (x_6). Na Tabela 3.2 consta a matriz de planejamento com as variáveis codificadas e reais.

$$x_4 = \frac{m_s(g) - 60,0}{10,0} \quad (5)$$

$$x_5 = \frac{v (rpm) - 40}{10,0} \quad (6)$$

$$x_6 = \frac{m_l(\%) - 1,5}{0,5} \quad (7)$$

Tabela 3. 2: Planejamento composto central 1 para as granulações em disco rotativo.

x_4	x_5	x_6	$m_s(g)$	$v(rpm)$	$m_l(\%)$
-1	-1	-1	50	30	1
-1	-1	1	50	30	2
-1	1	-1	50	50	1
-1	1	1	50	50	2
1	-1	-1	70	30	1
1	-1	1	70	30	2
1	1	-1	70	50	1
1	1	1	70	50	2
-1,353	0	0	46,47	40	1,5
1,353	0	0	73,53	40	1,5
0	-1,353	0	60	26,47	1,5
0	1,353	0	60	53,53	1,5
0	0	-1,353	60	40	0,82
0	0	1,353	60	40	2,18
0	0	0	60	40	1,5
0	0	0	60	40	1,5

As respostas avaliadas foram a porcentagem mássica de grânulos entre 0,4 mm e 0,65 mm, determinado a partir de estudos preliminares com produtos semelhantes já existentes no mercado, e a dureza dos grânulos.

O segundo planejamento composto central realizado no disco rotativo foi baseado na otimização do primeiro planejamento, para que outras variáveis fossem analisadas no processo de granulação. Foram fixados m_s em 56,6 g, m_l em 2,18%, que foram os pontos determinados através da otimização do planejamento 1 e a variável rotação do disco que também foi variada no segundo planejamento o ponto de otimização do planejamento 1 foi escolhido como ponto central em 32 rpm. Novamente a quantidade de solução ligante adicionada em cada teste em 100 g.

Para este planejamento as variáveis independentes foram a velocidade de rotação do disco (rpm) e a inclinação do disco (°). Realizado com 11 experimentos, dos quais 4 pontos fatoriais, 4 pontos axiais e 3 réplicas no ponto central ($\alpha= 1,414$).

As codificações para estas variáveis são representadas pelas Equações 8 e 9, respectivamente, velocidade de rotação do disco (x_7) e ângulo de inclinação do disco (x_8). Na Tabela 3.3 consta a matriz de planejamento com as variáveis codificadas e reais.

$$x_7 = \frac{v(rpm)-32,0}{6,0} \quad (8)$$

$$x_8 = \frac{a_d (^\circ)-60}{8,0} \quad (9)$$

Tabela 3. 3: Planejamento composto central 2 para as granulações em disco rotativo.

x_7	x_8	$v(rpm)$	$a_d (^\circ)$
-1	-1	26,00	52,00
-1	1	26,00	68,00
1	-1	38,00	52,00
1	1	38,00	68,00
-1,414	0	23,52	60,00
1,414	0	40,48	60,00
0	-1,414	32,00	48,70
0	1,414	32,00	71,30
0	0	32,00	60,00
0	0	32,00	60,00
0	0	32,00	60,00

As respostas avaliadas foram a porcentagem mássica de grânulos entre 0,4 mm e 0,65 mm, a dureza dos grânulos e a esfericidade. Após a otimização também foram avaliadas a atividade antioxidante, TPC, TFC e a quantidade de compostos nas análises em HPLC.

3.6.6 Otimização utilizando a função desejabilidade

A técnica da superfície de resposta foi utilizada para análise dos efeitos das variáveis estudadas em todas as etapas deste trabalho, isto é, para as repostas dos teores dos compostos bioativos e para as repostas da granulação.

Estudos de otimização multi-resposta utilizando a função desejabilidade (DERRINGER E SUICH, 1980) foram realizados para cada etapa deste trabalho. A função de desejabilidade permite a maximização ou minimização de uma resposta convertendo-a em uma função composta com valores variando de 0 a 1. O menor valor significa que a resposta é completamente indesejável, e o maior valor indica um processo totalmente otimizado.

CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, são apresentados e discutidos os resultados da caracterização do blend de chás, das extrações de bioativos realizadas com soluções hidroetanólicas em micro-ondas e das granulações em disco rotativo.

4.1 Caracterização do blend de chás

Nos alimentos, a umidade elevada impede a preservação, podendo ocorrer deterioração por microrganismos e alterações por reações químicas e enzimáticas. Diante disso, a atividade de água é um parâmetro importante na conservação de alimentos. Autores relatam que a atividade de água crítica para o crescimento de microrganismos patogênicos é 0,87, enquanto para mofos e leveduras é 0,7. Atividades enzimáticas e escurecimento não enzimáticos ocorrem quando a atividade de água é superior a 0,73. Dessa forma, é desejável que o material possua atividade de água inferior a 0,7 (NOTERMANS; HEUVELMAN, 1983; TAOUKIS *et al.*, 1997; BRUIJN *et al.*, 2016).

Em alimentos com atividade de água abaixo de 0,60 não há multiplicação de bactérias, pois não existe mais água livre que favoreça seu metabolismo, ou seja, esses alimentos são considerados microbiologicamente estáveis. Nesta faixa de atividade de água, o alimento somente poderá se deteriorar por agentes físicos ou químicos.

Baixo pH aliado à baixa umidade inibe a proliferação de microrganismos, o que propicia uma maior estabilidade, pois os fungos geralmente preferem pH entre 4,5-5,0 e as bactérias preferem pH próximo à neutralidade (6,5-7,0).

Foram utilizados nos planejamentos experimentais realizados neste trabalho 2 lotes diferentes de chás. A Tabela 4.1 apresenta os resultados das análises de atividade de água, umidade e pH para cada lote.

Tabela 4. 1: Resultados das análises de atividade de água, umidade e pH.

	Lote 608962 - Extração	Lote 679380 - Granulação
Atividade de água	0,583 ± 0,06	0,490 ± 0,01
Umidade (base úmida)	7,76 ± 0,17	6,63 ± 0,27
pH	5,52 ± 0,08	5,41 ± 0,04

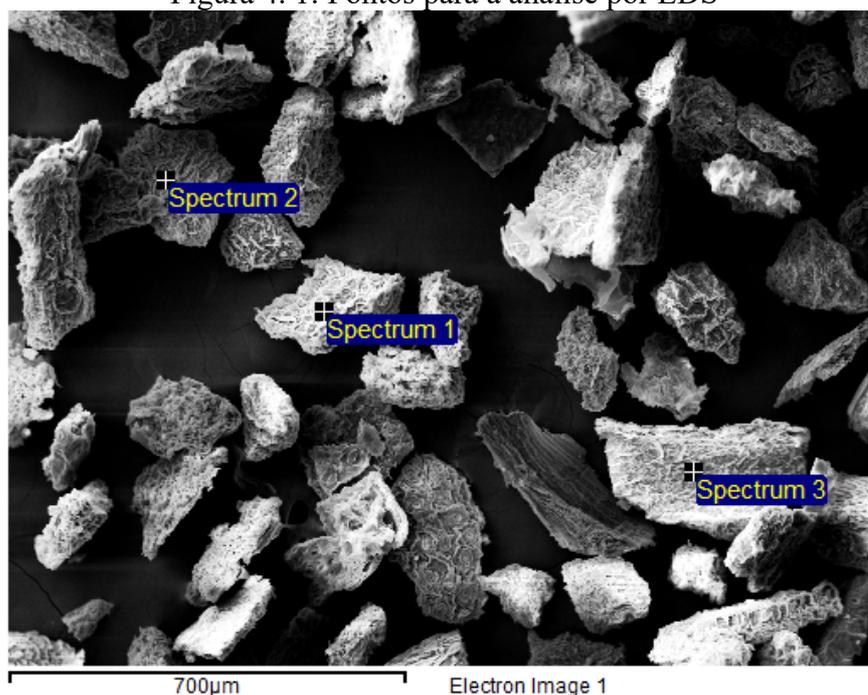
Alimentos denominados como alimentos de baixa umidade, são todos aqueles alimentos desidratados, que apresentam atividade de água inferior a 0,60, portanto o blend de chás se enquadra nessas características, sendo considerado um alimento seco e microbiologicamente estável, assim como o pH também se encontra em uma faixa favorável já que pH entre 5,0 e 6,5 não são favoráveis à crescimento de fungos e bactérias.

Os pontos selecionados para a análise por EDS (Figura 4.1) mostram a presença de magnésio (Mg), alumínio (Al), silício (Si), potássio (K), cálcio (Ca) e ferro (Fe). Os resultados médios das análises, expressos em porcentagem mássica (%), bem como os desvios padrão das triplicatas das medidas estão exibidos na Tabela 4.2.

Tabela 4. 2: Resultados para as análises no EDS.

Composto	Resultados (%)
Mg	0,67 ± 0,04
Al	2,06 ± 0,06
Si	2,05 ± 0,10
K	0,55 ± 0,04
Ca	4,34 ± 0,42
Fe	0,90 ± 0,09

Figura 4. 1: Pontos para a análise por EDS



4.2 Extração assistida por micro-ondas de compostos bioativos

A Tabela 4.3 apresenta os resultados do planejamento composto central proposto para avaliar o efeito do tempo de extração (x_1), razão líquido/sólido (x_2) e concentração de solvente (x_3) sobre o teor de compostos bioativos expressos em TPC ($\text{mg}_{\text{GAE}}/100\text{g}$), TFC ($\text{mg}_{\text{rutina}}/100\text{g}$), ambos em base seca, e IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) após extrações.

Tabela 4. 3: Resultados do planejamento para extração assistida por micro-ondas.

Experimento	t (min)	R (mL/g)	C(%)	TPC	TFC	IC_{50}
1	1	50	20	1003,8 ± 34,0	8,31 ± 0,31	1,70 ± 0,08
2	1	50	80	659,3 ± 6,59	6,60 ± 0,24	2,11 ± 0,03
3	1	150	20	1832,1 ± 58,3	8,42 ± 0,20	1,35 ± 0,03
4	1	150	80	1604,7 ± 26,0	7,18 ± 0,08	1,57 ± 0,06
5	3	50	20	523,4 ± 9,0	7,54 ± 0,12	1,10 ± 0,04
6	3	50	80	981,7 ± 32,4	6,54 ± 0,30	1,34 ± 0,04
7	3	150	20	1450,3 ± 22,2	11,55 ± 0,19	0,93 ± 0,02
8	3	150	80	2088,2 ± 63,6	7,43 ± 0,06	1,31 ± 0,08
9	0,3	100	50	1236,3 ± 45,1	5,59 ± 0,08	1,63 ± 0,07
10	3,7	100	50	1789,4 ± 67,1	8,48 ± 1,05	0,82 ± 0,07
11	2	15,9	50	354,0 ± 5,1	8,07 ± 0,14	1,68 ± 0,17
12	2	184,1	50	2476,8 ± 40,9	10,46 ± 0,38	1,29 ± 0,03
13	2	100	0	1614,6 ± 45,6	8,70 ± 0,14	1,54 ± 0,05
14	2	100	100	1072,6 ± 27,3	5,51 ± 0,16	2,35 ± 0,04
15	2	100	50	1842,2 ± 19,6	10,26 ± 0,41	1,49 ± 0,06
16	2	100	50	1828,0 ± 13,5	10,23 ± 0,45	1,45 ± 0,04
17	2	100	50	1886,2 ± 6,0	10,18 ± 0,16	1,49 ± 0,04

A análise de variância (ANOVA) foi realizada para avaliar a adequação das equações e significância dos fatores. Os modelos completos apresentaram r^2 e r_{ajd}^2 para TPC (0,927; 0,833), TFC (0,943; 0,870) e IC_{50} (0,957; 0,902), respectivamente. Os gráficos de Pareto, os

coeficientes da equação empírica, sua significância (valores de p) e a significância dos fatores para um nível de confiança de 90% estão disponíveis nos Apêndices B e C.

Os valores dos coeficientes de determinação (r^2) mantiveram-se entre 0,927 e 0,957, o que indica que as equações de regressão são apropriadas para descrever o projeto experimental. Vale ressaltar que os resíduos foram aleatoriamente e normalmente distribuídos. As equações obtidas para o modelo completo estão exibidas nas Equações 10, 11 e 12, respectivamente para fenólicos totais (TPC), flavonóides totais (TFC) e atividade antioxidante (IC_{50}).

$$TPC = 1860,463 + 63,997x_1 - 148,786x_1^2 + 540,174x_2 - 183,233x_2^2 - 28,351x_3 - 208,626x_3^2 + 32,460x_1x_2 + 208,503x_1x_3 + 37,096x_2x_3 \quad (10)$$

$$TFC = 10,204 + 0,542x_1 - 1,061x_1^2 + 0,704x_2 - 0,275x_2^2 - 0,984x_3 - 1,037x_3^2 + 0,527x_1x_2 - 0,272x_1x_3 - 0,331x_2x_3 \quad (11)$$

$$IC_{50} = 1,489 - 0,249x_1 - 0,119x_1^2 - 0,127x_2 - 0,029x_2^2 + 0,191x_3 + 0,136x_3^2 + 0,085x_1x_2 - 0,001x_1x_3 - 0,007x_2x_3 \quad (12)$$

O efeito do tempo de extração (x_1) linear só não foi significativo para TPC, porém para as análises TFC e IC_{50} foram significativos positivo e negativo respectivamente. O efeito quadrático desta variável foi estatisticamente significativo e negativo para TPC, TFC e IC_{50} .

Portanto, os tempos maiores propostos no PCC são indicados para aumentar a extração de compostos fenólicos, flavonoides e aumentar a atividade antioxidante. Entretanto, a análise do efeito quadrático desta variável sugere que a exposição prolongada a temperaturas elevadas favorece a degradação destes compostos (HUANG *et al.*, 2016; ARENAS *et al.*, 2016) e que com tempos muito baixos não é possível extrair os compostos. Além disso é possível verificar que há interação entre a variável tempo e as duas outras variáveis independentes que são significativas para o resultado final.

O aumento do tempo de extração (0,3 para 3,7 minutos), mantendo fixas no ponto central as outras variáveis independentes, resulta no aumento de 44,7% do TPC (1236,3 para 1789,4 mg_{GAE}/100g), aumento de até 51,7% do TFC (5,59 para 8,48 mg_{rutina}/100 g) e redução de até 49,7% do IC_{50} (1,63 para 0,82 µg/mL).

O efeito linear da razão líquido/sólido foi positivo e significativo para TPC e TFC e negativo para IC₅₀. O aumento da razão líquido/sólido (15,9 para 184,1 mL/g), mantendo fixas no ponto central as outras variáveis independentes, aumenta em 599,7% a extração de TPC (354,0 para 2476,8 mg_{GAE}/100 g), 29,6% a de TFC (8,07 para 10,46 mg_{rutina}/100 g) e reduzir em 23,2% o IC₅₀ (1,68 para 1,29 µg/mL). A elevada razão líquido/sólido fornece soluções menos concentradas o que favorece o processo de transferência de massa do soluto para o solvente.

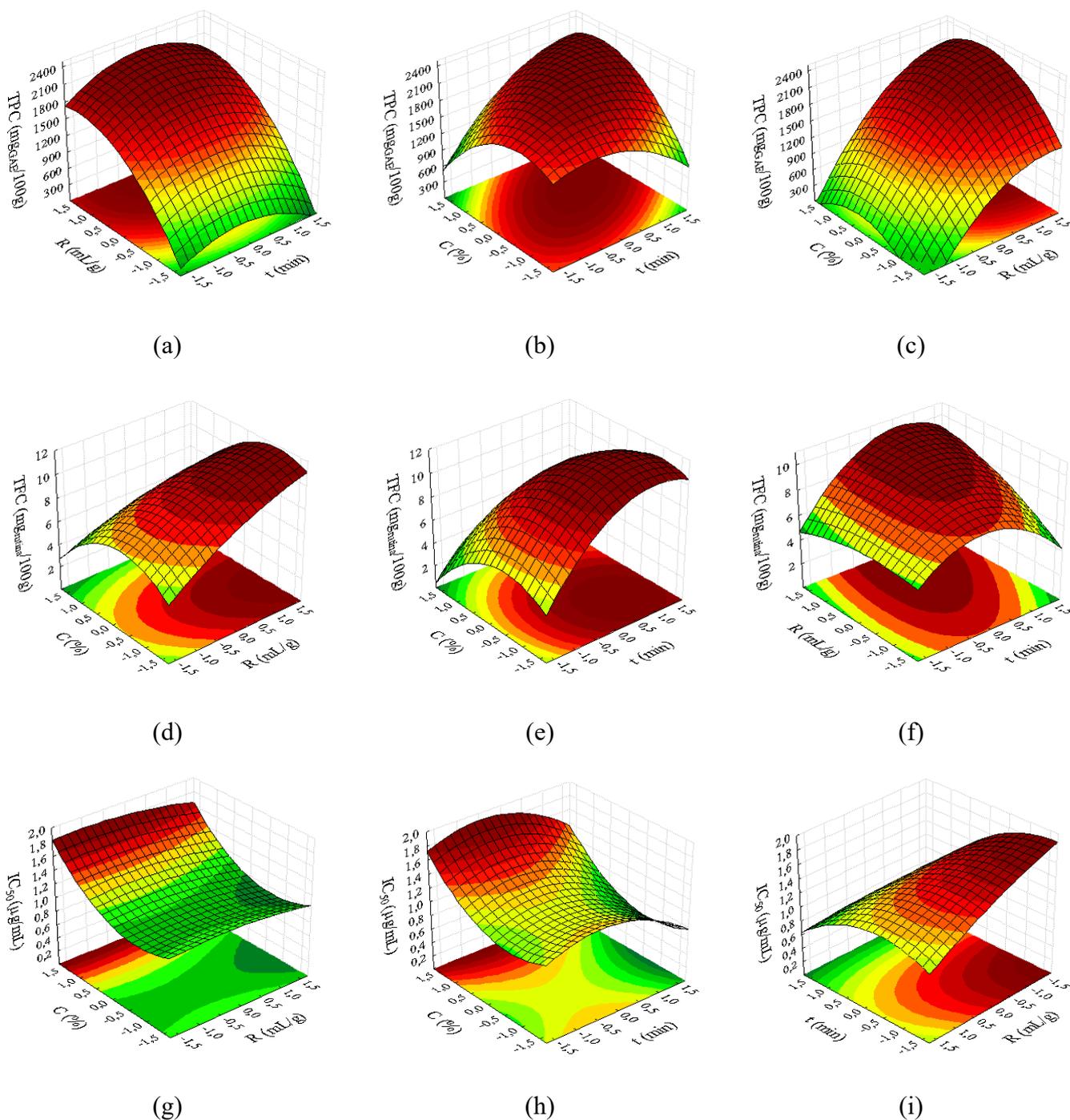
O efeito linear e quadrático da concentração de etanol foi negativo e significativo para TPC e TFC e positivo para IC₅₀, indicando que, valores intermediários para a concentração de etanol elevam a extração de compostos fenólicos e antioxidantes. A redução da concentração de etanol (100 para 0%), mantendo fixas no ponto central as outras variáveis independentes, aumenta em 50,6% a extração de TPC (1072,6 para 1614,6 mg_{GAE}/100 g), 57,9% a de TFC (5,51 para 8,70 mg_{rutina}/100 g) e reduz em 34,5% o IC₅₀ (2,35 para 1,54 µg/mL), o que confirma que o etanol puro não é um bom solvente para extrações destes compostos bioativos.

Portanto, o etanol diluído é mais eficaz na extração de compostos fenólicos do que o solvente orgânico puro porque a adição de uma pequena quantidade de água em solventes orgânicos cria um meio mais polar, o que facilita a extração de polifenóis. Além disso, esses compostos ocorrem naturalmente como glicosídeos e a presença de açúcares os torna mais solúveis em água (NACZK; SHAHIDI, 2004; SPIGNO *et al.*, 2007).

A maior concentração de compostos fenólicos totais no conjunto de experimentos realizados ($2476,8 \pm 40,9$ mg_{GAE}/100 g) foi observado em 2 min, 184,1 mL.g⁻¹ e 50% de etanol (Experimento 12). A maior extração de TFC ($11,55 \pm 0,19$ mg_{rutina}/100 g) foi observada na condição: 3 min, 50 mL/g e 20% de etanol (Experimento 7). A maior atividade antioxidante, isto é, o menor valor de IC₅₀ ($0,82 \pm 0,07$ µg/mL) foi observado a 3,7 min, 100 mL/g e 50% de etanol (Experimento 10).

A Figura 4.2 apresenta as superfícies para as respostas investigadas em função de duas das variáveis independentes analisadas, com as demais no ponto ótimo de extração determinado pela análise de desejabilidade.

Figura 4. 2: Superfícies de respostas para os bioativos da extração assistida por micro-ondas.



Com o objetivo de determinar as condições operacionais que proporcionem as condições ótimas, considerando todas as respostas simultaneamente (otimização multi-reposta), ou seja, as melhores condições para as extrações de compostos fenólicos, flavonoides, com elevada atividade antioxidante, foi realizada a otimização utilizando a função desejabilidade (DERRINGER E SUICH, 1980).

4.2.1 Otimização utilizando a função desejabilidade e validação dos experimentos nas condições otimizadas

O procedimento de otimização exibido na Figura 4.3 foi conduzido para maximizar simultaneamente o conteúdo de fenólicos totais, os flavonoides totais e a capacidade antioxidante, isto é, maximizar TPC, TFC e minimizar IC_{50} . Portanto, esta otimização consiste em achar um ponto em que as 3 condições estejam favoráveis, porém, não necessariamente o maior valor para TPC e TFC e o menor valor para IC_{50} isoladamente. Na Tabela 4.4 são apresentados os resultados da otimização multi-resposta com os níveis ótimos das variáveis independentes sob a forma de variáveis codificadas e seus valores correspondentes.

Figura 4. 3: Análise de desejabilidade para o planejamento de extração.

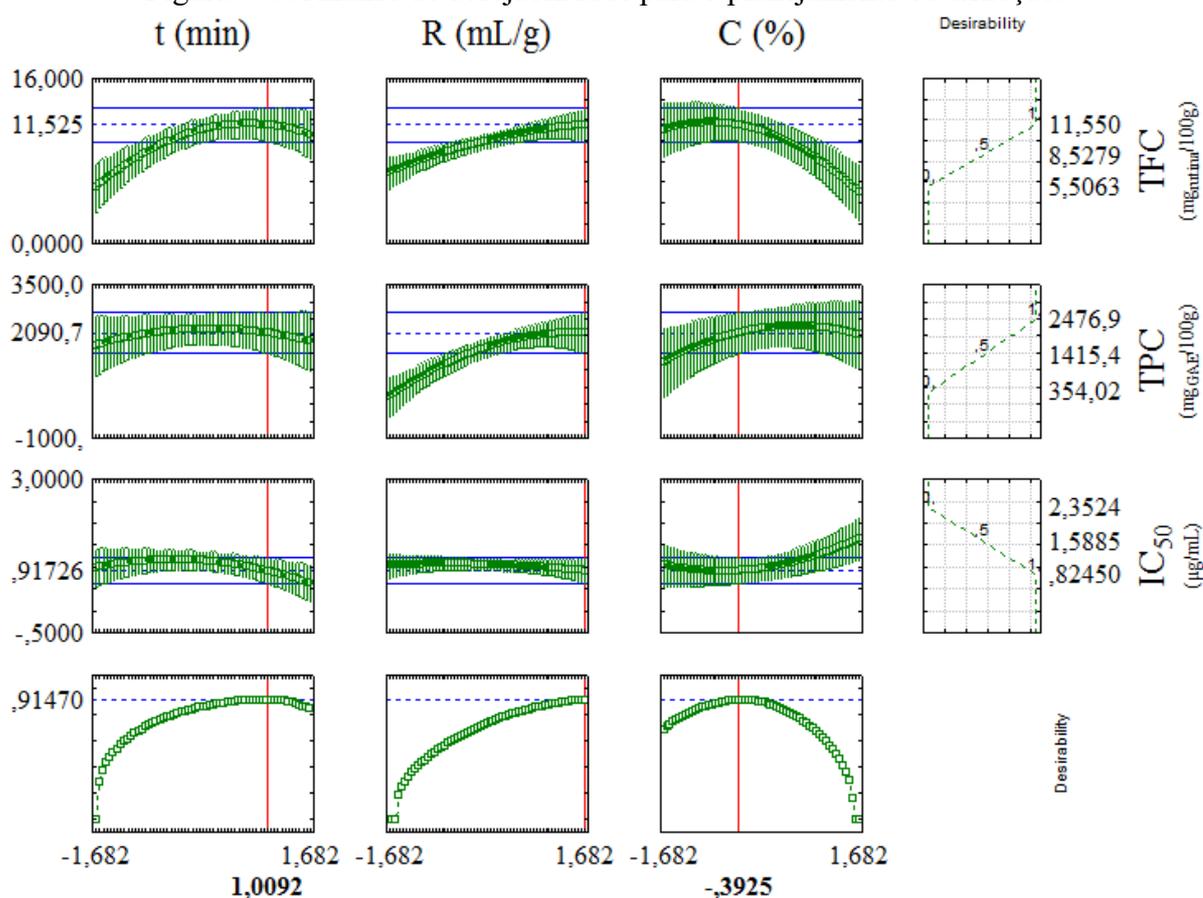


Tabela 4. 4: Variáveis independentes no ponto definido pela análise de desejabilidade para o planejamento de extração.

	Variável codificada	Variável real
$t(\text{min}) (x_1)$	1,0092	3,01
$R (\text{mL/g}) (x_2)$	1,682	184,1
$C (\%) (x_3)$	0,3925	38,24

A condição ótima (maior desejabilidade) foi testada em um experimento confirmatório adicional para validar a previsibilidade dos modelos estabelecidos. As respostas previstas e experimentais são apresentadas na Tabela 4.5. Os resultados previstos e experimentais para compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante foram estatisticamente iguais (Teste Tukey), confirmando assim a otimização realizada e a previsibilidade das equações ajustadas. Essas novas extrações foram submetidas aos mesmos procedimentos analíticos experimentais que os aplicados desde o início deste estudo. Todas as medidas em condições otimizadas foram realizadas em triplicata.

Tabela 4. 5: Resultados experimentais e previstos na condição otimizada.

	Experimental	Predito	Erro (%)
TPC	2164,75 ± 97,61	1898,76	12,29
TFC	12,71 ± 0,18	11,67	8,21
IC ₅₀	0,773 ± 0,006	0,824	6,64

TPC (mg_{GAE}/100g); TFC (mg_{rutina}/100g); IC₅₀(µg/mL)

Portanto, usando a concentração de etanol, tempo, temperatura e razão líquido/sólido em condições ideais, é possível extrair compostos fenólicos e antioxidantes com menores custos de energia, menor impacto ambiental e maior rendimento. Os resultados obtidos experimentalmente não foram significativamente diferentes dos previstos pelos modelos (t-Student, $p > 0,05$), confirmando que os modelos são adequados para representar a otimização.

As concentrações de ácido gálico (TPC) maiores que 1000 mg/100 g são considerados pela literatura como valores elevados de TPC (VASCO, 2008). Sendo assim, o valor de TPC encontrado (2164 mg_{GAE}/100g) no teste nas condições ótimas é considerado elevado. De acordo

com Garmus *et al.* (2015) os extratos podem ser classificados em quatro categorias de acordo com IC_{50} , sendo muito ativos se $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, moderadamente ativos se $50 < IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$, ligeiramente ativos se $100 < IC_{50} < 200 \mu\text{g/mL}$ e inativos se $IC_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$. Portanto, o blend de chás possui elevada capacidade antioxidante ($IC_{50} = 0,773 \mu\text{g/mL}$), sendo uma excelente fonte de antioxidantes naturais.

No estudo de Faller & Fialho (2009), foi feita uma análise de compostos fenólicos também pelo método de Folin-Ciocalteu, determinando a quantidade de ácido gálico por 100g de alimento ($\text{mg}_{\text{GAE}}/100\text{g}$). Neste trabalho foi utilizado um cardápio para adultos saudáveis de 2.000 kcal e a análise de compostos fenólicos foi feita nos alimentos para determinar a quantidade ingerida, por dia, de compostos fenólicos por uma pessoa que seguisse a dieta em questão, constatando que são ingeridos no total 759 mg_{GAE} por dia.

A Tabela 4.6 mostra que 100 g de blend de chás possui 185% a mais de ácido gálico do que o ingerido em uma dieta comum de 2.000 kcal, ou seja, 35g deste produto possui a mesma quantidade de ácido gálico que um adulto ingere por dia, o que de fato comprova o seu elevado teor de polifenóis, característica muito valorizada no produto.

Tabela 4. 6: Quantificação de ácido gálico no blend de chás e em uma dieta de 2.000kcal.

	Blend de chás ($\text{mg}_{\text{GAE}}/100\text{g}$)	Dieta 2.000 kcal ($\text{mg}_{\text{GAE}}/\text{dia}$)
TPC	2164,75 ± 97,61	759,00

Os resultados experimentais obtidos para TPC, TFC e IC_{50} na condição desejável foram comparados aos resultados dos 17 experimentos do PCC, conforme as Figuras 4.4 a 4.6 em que os valores da condição desejável são indicados por uma linha horizontal. Como esperado, os resultados obtidos nas condições estabelecidas pelo método de desejabilidade foram os melhores quando comparados com todos os experimentos realizados no planejamento experimental, pois apresentaram maiores valores de compostos fenólicos e flavonoides e inferior IC_{50} . Apenas o experimento 12 apresentou TPC mais elevado, entretanto nesta condição (experimento 12), os valores de TFC e de atividade antioxidante foram inferiores aos da condição otimizada.

Figura 4. 4: Comparação dos resultados de TPC do planejamento de extração (barras) com o resultado da condição de desejabilidade (linha).

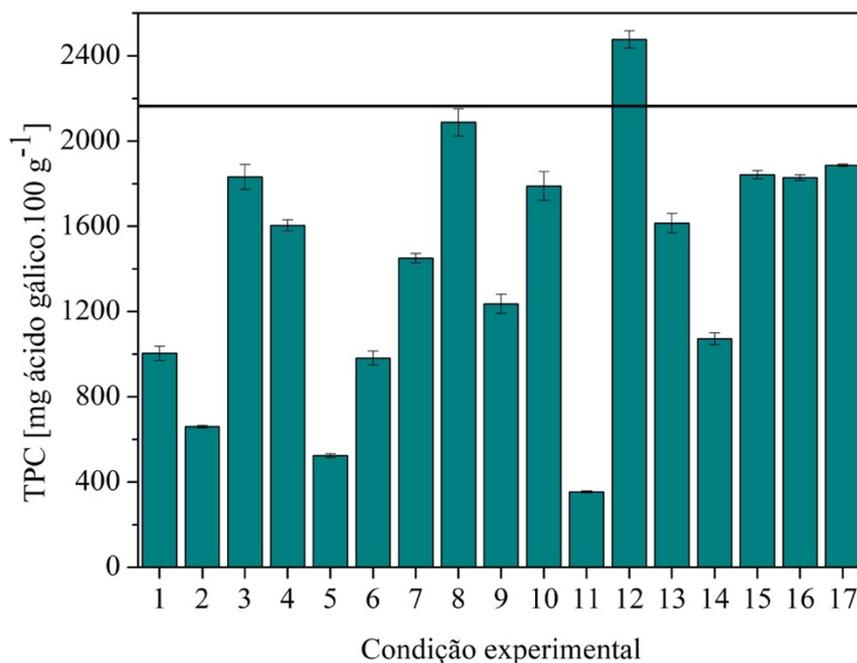


Figura 4. 5: Comparação dos resultados de TFC do planejamento de extração (barras) com o resultado da condição de desejabilidade (linha).

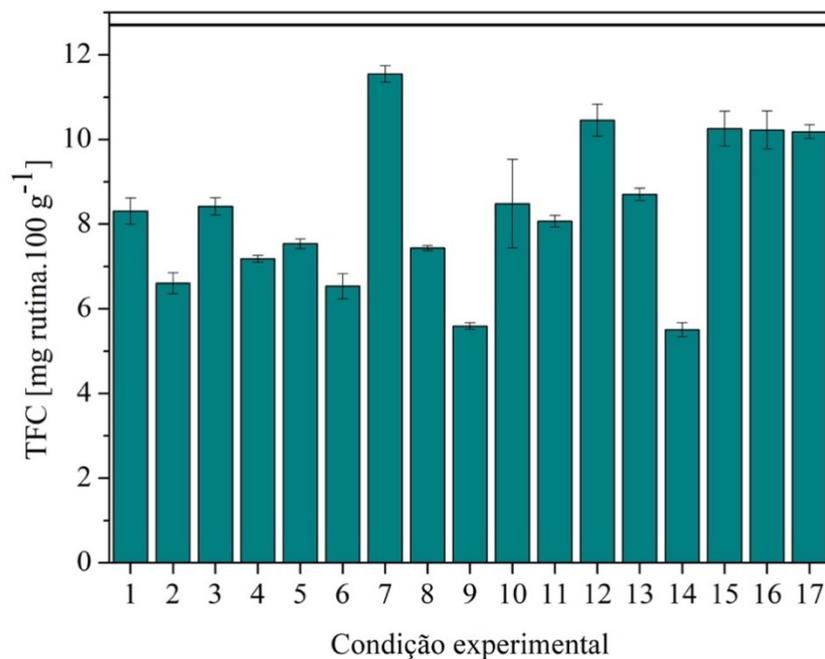
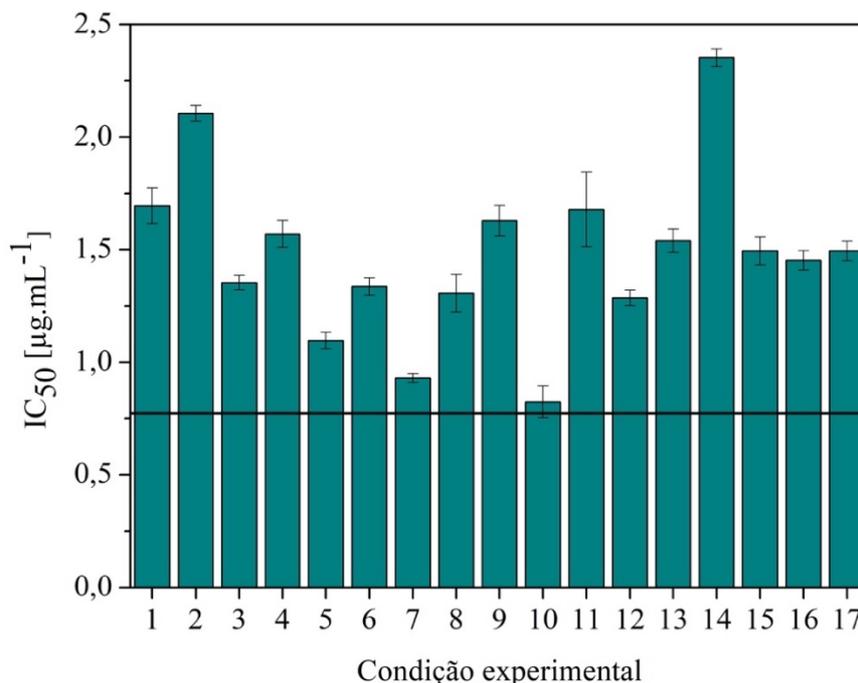


Figura 4. 6: Comparação dos resultados de IC₅₀ do planejamento de extração (barras) com o resultado da condição de desejabilidade (linha).



Outra análise importante neste contexto é a comparação do potencial que pode ser atingido com o produto e a forma com que é atualmente comercializado. O blend de chás comercializado como bebida para ser consumido passa pelo processo de infusão em água quente. Considerando os resultados das análises exibidos na Tabela 4.7 é possível observar que o processo de extração apenas com água (experimento 13) não é capaz de extrair todos os compostos bioativos do material.

Tabela 4. 7: Comparação entre a extração no ponto da desejabilidade e apenas com água.

	Extração no ponto da desejabilidade	Extração apenas com água
TPC	2164,75 ± 97,61	1614,60 ± 45,6
TFC	12,71 ± 0,18	8,70 ± 0,14
IC ₅₀	0,773 ± 0,006	1,540 ± 0,05

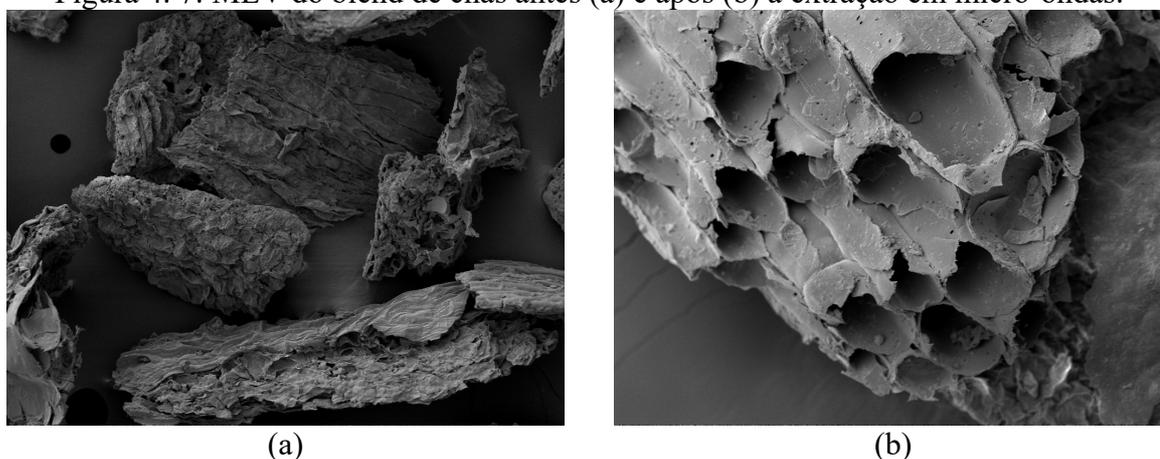
TPC (mg_{GAE}/100g); TFC (mg_{rutina}/100g); IC₅₀(µg/mL)

As imagens do microscópio eletrônico de varredura (Figura 4.7) mostraram ruptura da parede celular e, conseqüentemente, formação de microporos na amostra após a extração por

micro-ondas. Isto proporciona um aumento da área superficial em contato com o solvente o que favorece a extração (LOU *et al.*, 2010).

Lou *et al.* (2010) enfatizam ainda que o uso de temperaturas mais elevadas implicam em uma maior pressão de vapor, formação de mais bolhas e, portanto, maior rompimento celular. Além disso, o aumento da temperatura aumenta a solubilidade dos analitos no solvente, facilitando a difusão a partir da matriz da amostra para a região externa. Na imagem é possível observar a formação de cavitações, e é possível visualizar na Figura 4.7 b que as condições de extração promoveram uma maior quebra da parede celular e, portanto, facilitaram o processo de extração.

Figura 4. 7: MEV do blend de chás antes (a) e após (b) a extração em micro-ondas.



4.2.2 Análises cromatográficas na condição de maior desejabilidade

O cromatograma obtido em HPLC (Figura 4.8) para o extrato do blend de chás na condição otimizada pela função de desejabilidade mostrou presença majoritária de EGCG e minoritária de ácido gálico, assim como foi previsto por Yang *et al.*, (2002). Os valores determinados a partir da análise cromatográfica estão exibidos na Tabela 4.8.

Figura 4. 8: Cromatograma obtido em HPLC.

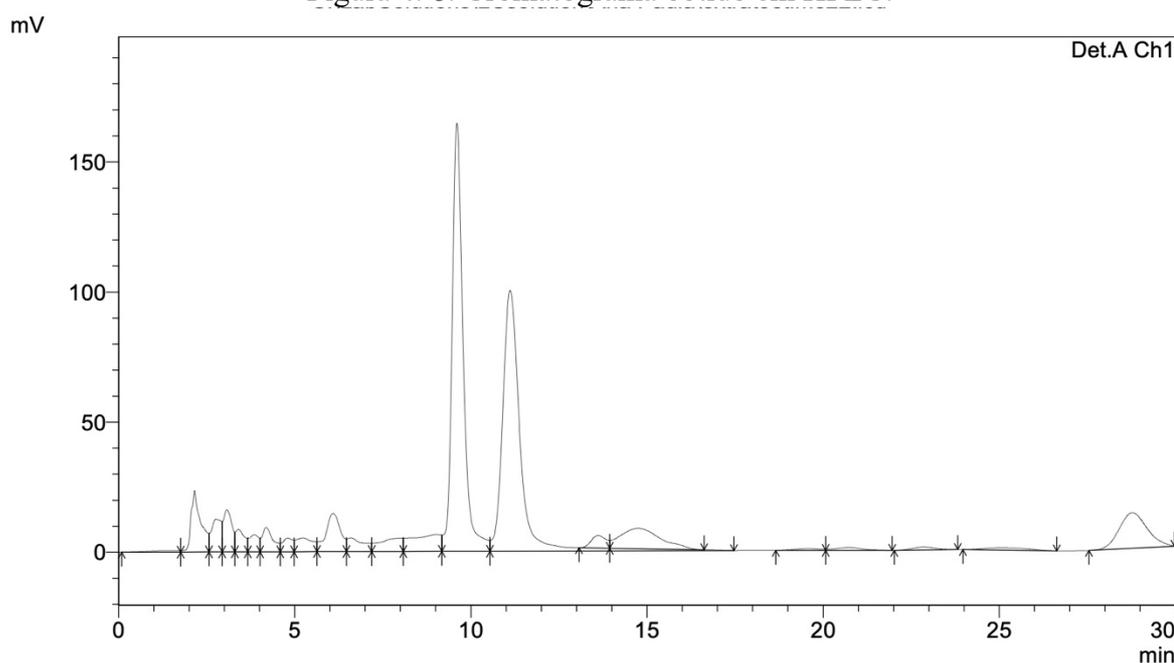


Tabela 4. 8: Concentração de catequinas, cafeína e ácido gálico no extrato obtido na condição otimizada

	Quantidade (mg/100g b.s.)	Desvio padrão	Erro (%)
GAE	38,90	1,42	3,64
EGC	411,32	6,80	1,65
CAFEÍNA	353,64	26,06	7,37
EGCG	764,53	50,51	6,61
EC	552,18	22,67	4,11

Assim como o blend de chás (composto 80% por ervas da planta *Camellia sinensis*), o extrato de chá verde, de acordo com estudos, como o de Torschi *et al.* (2000), é composto majoritariamente pelas catequinas EGCG e EGC. Segundo esses autores a alta concentração de EGCG e EGC proporciona ao extrato de chá verde grande capacidade antioxidante. As propriedades antioxidantes dos ácidos fenólicos estão relacionadas à doenças cardíacas e prevenção do câncer, inibição do colesterol e do envelhecimento (GARCÍA-VILLALÓN *et al.*, 2016, ZHAO *et al.*, 2017).

4.3 Granulação

4.3.1 Planejamento 1

Na Tabela 4.9 são apresentados os resultados do planejamento composto central proposto para avaliar o efeito da massa de sólidos (x_4), rotação do disco (x_5) e concentração mássica de ligante (x_6) sobre as seguintes respostas: dureza (D) e % mássica de grânulos nas granulometria desejada (m_g) (entre 4,0 mm e 6,35 mm), após a granulação em disco rotativo.

A granulometria entre 4,0 e 6,35 mm desejada, foi determinada considerando outros produtos já existentes no mercado que possuíam tamanhos similares ao produto que se planeja desenvolver nesta pesquisa, como grânulos de cereais e grãos de café recobertos com chocolate.

Tabela 4. 9: Resultados do PCC 1 para a granulação em disco rotativo.

Experimento	$m_s(g)$	$v (rpm)$	$m_l(\%)$	D (N)	$m_g(\%)$
1	50	30	1	$1,47 \pm 0,07$	$44,52 \pm 0,12$
2	50	30	2	$3,96 \pm 0,39$	$32,26 \pm 0,15$
3	50	50	1	$2,48 \pm 0,15$	$39,25 \pm 0,36$
4	50	50	2	$4,14 \pm 0,30$	$18,63 \pm 0,07$
5	70	30	1	$1,43 \pm 0,12$	$29,00 \pm 0,04$
6	70	30	2	$2,36 \pm 0,23$	$34,31 \pm 0,25$
7	70	50	1	$1,54 \pm 0,15$	$40,76 \pm 0,16$
8	70	50	2	$1,46 \pm 0,14$	$29,92 \pm 0,13$
9	46,47	40	1,5	$2,20 \pm 0,08$	$35,06 \pm 0,04$
10	73,53	40	1,5	$1,47 \pm 0,12$	$38,49 \pm 0,13$
11	60	26,47	1,5	$1,94 \pm 0,19$	$35,16 \pm 0,18$
12	60	53,53	1,5	$1,87 \pm 0,14$	$39,30 \pm 0,09$
13	60	40	0,82	$1,52 \pm 0,11$	$47,29 \pm 0,10$
14	60	40	2,18	$3,52 \pm 0,33$	$42,82 \pm 0,22$
15	60	40	1,5	$2,52 \pm 0,23$	$40,48 \pm 0,04$
16	60	40	1,5	$2,48 \pm 0,23$	$41,65 \pm 0,79$

As equações obtidas para o modelo completo estão exibidas nas Equações 13 e 14, e a Figura 4.9 apresenta as superfícies para as respostas investigadas em função de duas das variáveis independentes analisadas, com a terceira no ponto ótimo determinado pela análise de desejabilidade que será apresentada na sequência.

$$D(N) = 2,279 - 0,535x_4 - 0,141x_4^2 + 0,027x_5 - 0,102x_5^2 + 0,662x_6 + 0,233x_6^2 - 0,246x_4x_5 - 0,412x_4x_6 - 0,230x_5x_6 \quad (13)$$

$$m_g(\%) = 43,214 + 0,341x_4 - 4,521x_4^2 - 0,508x_5 - 4,272x_5^2 - 3,812x_6 + 0,002x_6^2 - 3,284x_4x_5 + 3,419x_4x_6 - 3,064x_5x_6 \quad (14)$$

A análise de variância (ANOVA) foi realizada para avaliar a adequação das equações e significância dos fatores. Os modelos completos apresentaram r^2 para dureza (0,934) e % de grânulos de tamanhos ideais (0,872), respectivamente. Os gráficos de Pareto, os coeficientes da equação empírica, sua significância (valores de p) e a significância dos fatores para um nível de confiança de 90% estão disponíveis nos Apêndices D e E.

Os valores dos coeficientes de determinação (r^2) mantiveram-se entre 0,872 e 0,934, o que indica que as equações de regressão são apropriadas para descrever o projeto experimental. Vale ressaltar que os resíduos foram aleatoriamente e normalmente distribuídos.

O efeito linear da massa de sólidos (x_4) foi estatisticamente significativo e negativo ($p < 0,10$) para a dureza e o efeito quadrático desta variável foi significativo e negativo para a % de grânulos ideais. Esta análise de resultados nos leva à conclusão de que quanto maior a massa de sólidos no experimento menor a dureza e menor a % de grânulos ideais, este resultado é consequência de uma quantidade fixa de solução ligante adicionada em cada experimento. Rodrigues (2012) constatou que é necessário ter um valor intermediário para a fase líquida, pois uma alta fase líquida resulta em formação de pastas, e uma baixa fase líquida na formação de finos. Como neste planejamento a quantidade de fase líquida é fixa, um aumento na quantidade de massa resulta consequentemente em uma redução na fase líquida, o que resulta em grânulos menos resistentes, pois não há fase líquida suficiente para a formação de grânulos mais densos e duros.

Ainda analisando o efeito da massa de sólidos é possível verificar que existe uma grande interação entre a massa de sólidos e as outras duas variáveis, o que indica que analisar as respostas sem observar todas as variáveis pode resultar em conclusões erradas. Através da revisão bibliográfica já foi possível observar que as variáveis possuem interações, por exemplo entre massa de sólidos e o ligante.

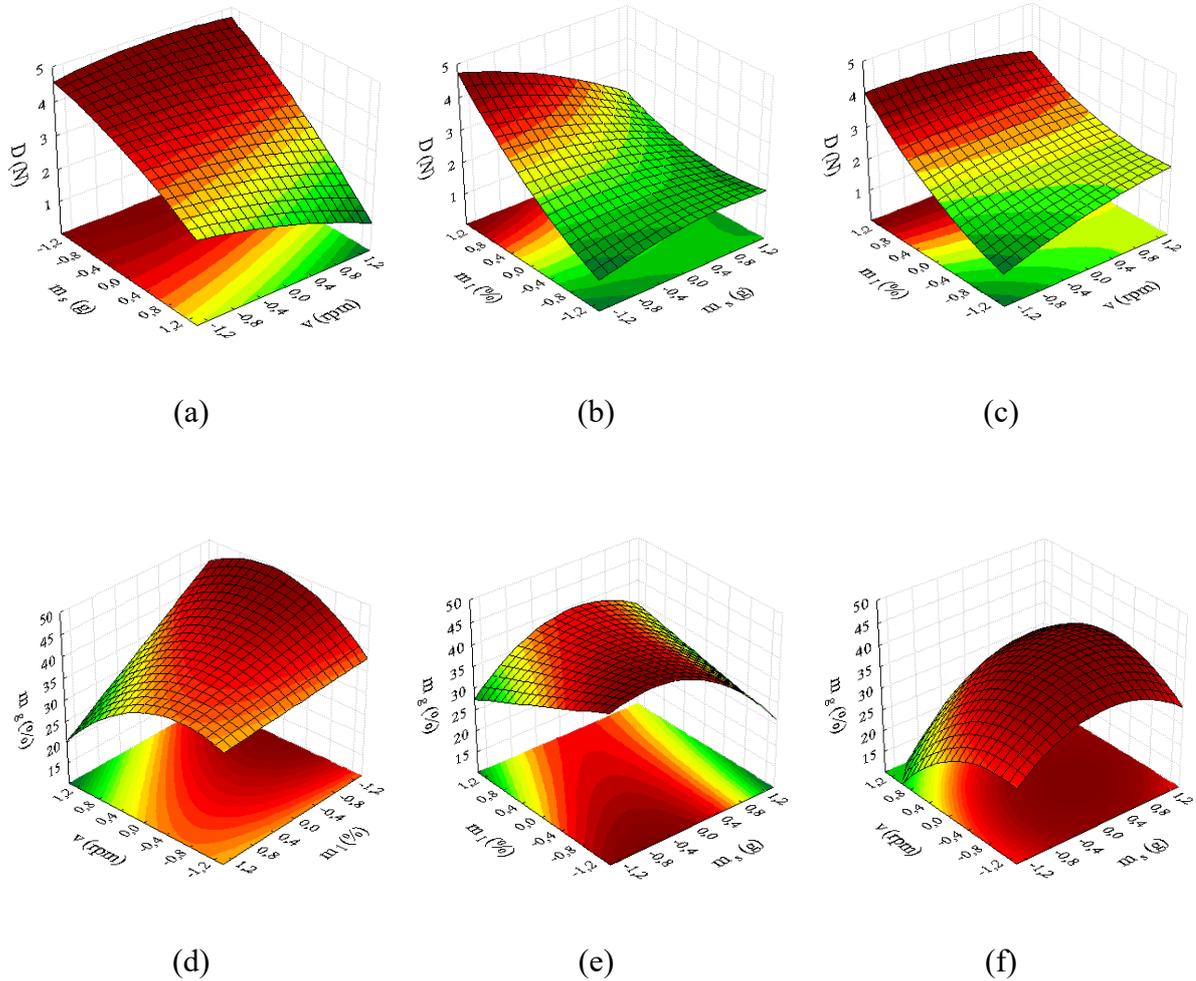
Os efeitos linear e quadrático da rotação do disco (x_5) não são significativos para os resultados da análise de dureza, mas para a % de grânulos ideais o efeito quadrático desta variável é significativo e negativo ($p < 0,10$). Neste sentido velocidades de rotação altas promovem o contato maior entre as partículas no interior do equipamento e, sendo assim, favorecem o crescimento dos grânulos. Como neste planejamento a granulometria ideal já é predeterminada como grânulos entre 4,0 mm e 6,35 mm não é desejável que os grânulos tenham a maior granulometria possível e, por isso, neste caso, rotações maiores do disco não são desejadas, pois ocasionaram a formação de grânulos maiores do que os desejados. Nota-se na Figura 4.9 (d) e (f) que valores intermediários, próximos de zero (40 rpm), no qual a % de grânulos ideais é maior.

Nos experimentos que tiveram concentração de ligante mais alta, como o 14, 2, 4, 6 e 8 a peneira superior ficou com a maior porcentagem de grânulos, o que indica que, como esperado, quanto maior a concentração do ligante, maior o tamanho do grânulo.

O efeito linear da concentração mássica de ligante (x_6) foi significativo e negativo ($p < 0,10$) para a % de grânulos ideais e significativo e positivo para a dureza. Como já havia observado Rodrigues (2012) uma maior % de ligante resulta em um aumento da dureza do grânulo. Para a % de grânulos ideais novamente tem-se a mesma análise referente à velocidade de rotação do equipamento, sendo que vários estudos sobre a granulação comprovam que uma maior concentração de ligante também resulta em grânulos maiores. Inclusive, neste trabalho, é possível observar que os experimentos 2, 4, 6, 8 e 14, casos em que as concentrações de ligante são maiores, a peneira superior possuía uma maior porcentagem dos grânulos, indicando que, uma maior concentração de ligante resultou em grânulos maiores.

A maior dureza ($4,14 \pm 0,30$ N) no total dos experimentos realizados foi observada em uma rotação de 50 rpm, com uma massa de blend de chás de 50 g e 2 % de ligante (Experimento 4), e a maior % de grânulos ideais ($47,29 \pm 0,10$ %) na condição de 40 rpm, 60 g de blend de chás e 0,82 % de ligante (Experimento 13).

Figura 4. 9: Superfícies de resposta para o PCC 1 dos ensaios de granulação.



O desafio deste planejamento então foi encontrar uma condição em que os grânulos formados não fossem grandes demais e ao mesmo tempo resistissem bem à compressão. Com o objetivo de determinar as condições operacionais que proporcionem a maior % de grânulos na faixa desejada de tamanho de partícula e um maior resultado de dureza foi realizada a otimização multi-resposta utilizando a função desejabilidade (DERRINGER E SUICH, 1980).

4.3.2 Análise de desejabilidade planejamento 1 granulação

O procedimento de otimização exibido na Figura 4.10 foi conduzido para maximizar simultaneamente a % de grânulos na faixa desejada e a dureza. Portanto esta otimização consiste em achar um ponto em que as 2 condições estejam favoráveis, porém, não necessariamente em seu valor máximo individual. Na Tabela 4.10 são apresentados os resultados da otimização multi-resposta com os níveis ótimos das variáveis independentes sob a forma de variáveis codificadas e seus valores correspondentes.

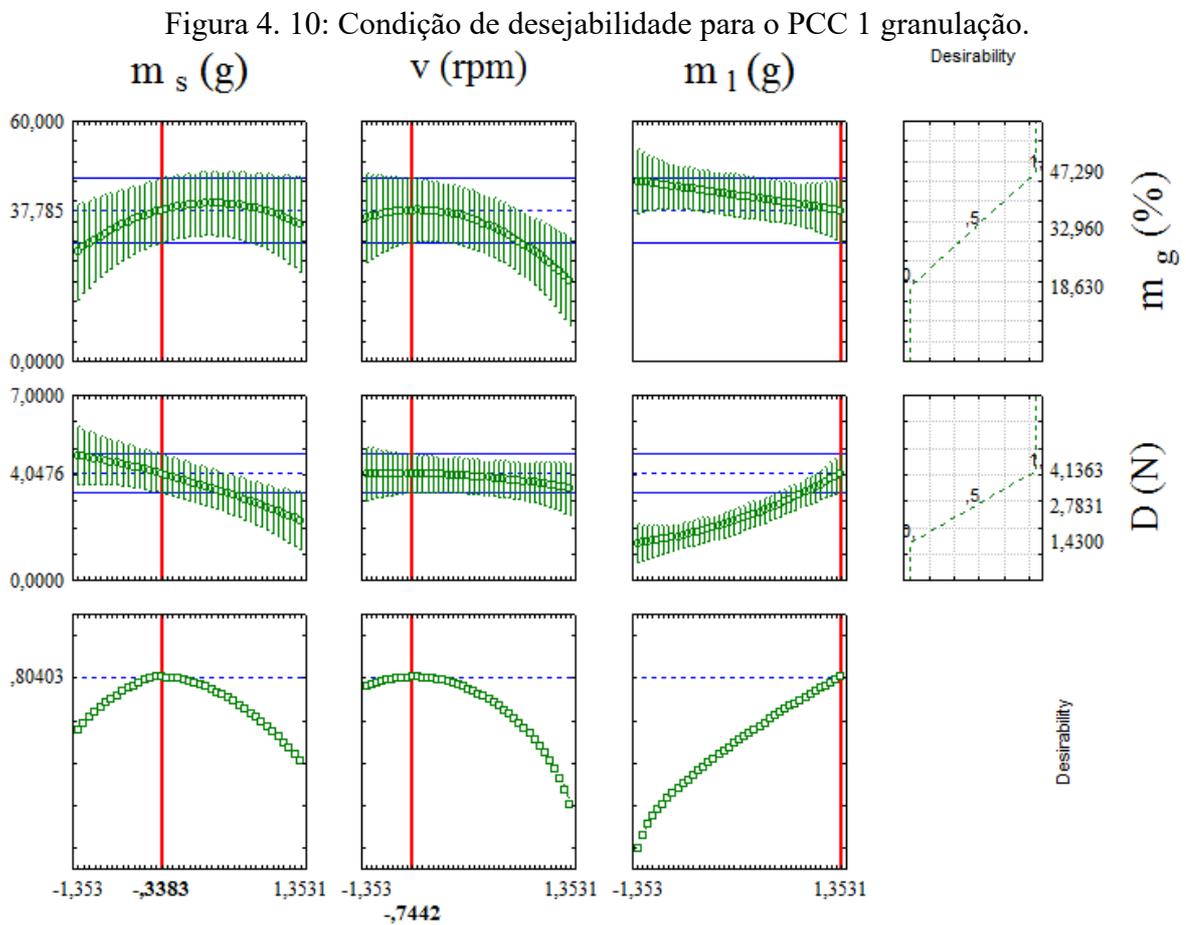


Tabela 4. 10: Variáveis independentes no ponto ótimo de otimização PCC 1 granulação.

	Variável codificada	Variável original
$m_s(g) (x_1)$	- 0,3383	56,6
$v (rpm)(x_2)$	- 0,7442	32,6
$m_1(\%)(x_3)$	1,3531	2,18

Portanto, usando a massa de sólidos, a rotação do disco e a concentração mássica de ligante em condições ideais, é possível realizar a granulação do blend de chás com bons resultados de dureza e de granulometria. Entretanto, o processo de granulação é influenciado por diversos fatores e os resultados podem ser ainda melhorados. Desta forma, a condição de maior desejabilidade foi utilizada para o desenvolvimento de um novo planejamento composto central, no qual foram avaliados novamente a dureza e a % de grânulos ideais como respostas, porém, analisando desta vez a influência do ângulo de inclinação do disco, da rotação e da concentração de ligante sobre estas respostas.

4.3.3 Planejamento 2

Na Tabela 4.11 são apresentados os resultados do planejamento composto central proposto para avaliar o efeito da rotação do disco (x_7) e do ângulo de inclinação (x_8) sobre a dureza e a % mássica de grânulos nas granulometria desejada (entre 4,0 mm e 6,35 mm) após o processo de granulação em disco rotativo.

Tabela 4. 11: Resultados de dureza e % de grânulos ideais do PCC 2 para granulação em disco rotativo.

Experimento	$v(rpm)$	$a_d (^\circ)$	D (N)	$m_g(\%)$
1	26,00	52,00	$8,16 \pm 0,66$	$26,29 \pm 0,06$
2	26,00	68,00	$2,78 \pm 0,25$	$39,31 \pm 0,04$
3	38,00	52,00	$9,36 \pm 1,02$	$31,12 \pm 0,03$
4	38,00	68,00	$2,73 \pm 0,18$	$40,25 \pm 0,05$
5	23,52	60,00	$3,64 \pm 0,32$	$43,10 \pm 0,06$
6	40,48	60,00	$3,12 \pm 0,31$	$41,34 \pm 0,04$
7	32,00	48,70	$8,79 \pm 1,13$	$21,15 \pm 0,05$
8	32,00	71,30	$2,89 \pm 0,15$	$42,72 \pm 0,10$
9	32,00	60,00	$2,36 \pm 0,22$	$42,39 \pm 0,05$
10	32,00	60,00	$2,95 \pm 0,31$	$41,71 \pm 0,01$
11	32,00	60,00	$2,38 \pm 0,18$	$42,58 \pm 0,12$

As equações obtidas para o modelo completo estão exibidas nas Equações 15 e 16 e a Figura 4.11 apresenta as superfícies para as respostas obtidas em função das variáveis independentes analisadas.

$$D(N) = 2,45 - 0,009x_7 + 0,72 x_7^2 - 2,46 x_8 + 1,95 x_8^2 - 0,14 x_7x_8 \quad (15)$$

$$m_g(\%) = 42,24 + 0,42x_7 - 0,73 x_7^2 + 6,59 x_8 - 5,85 x_8^2 - 0,99 x_7x_8 \quad (16)$$

A análise de variância (ANOVA) foi realizada para avaliar a adequação das equações e significância dos fatores. Os modelos completos apresentaram r^2 para dureza (0,952) e % de grânulos ideais (0,944), respectivamente. Os gráficos de Pareto, os coeficientes da equação empírica, sua significância (valores de p) e a significância dos fatores para um nível de confiança de 90% estão disponíveis nos Apêndices F e G.

Os valores dos coeficientes de determinação (r^2) mantiveram-se entre 0,944 e 0,952, o que indica que as equações de regressão são apropriadas para descrever o projeto experimental. Vale ressaltar que os resíduos foram aleatoriamente e normalmente distribuídos.

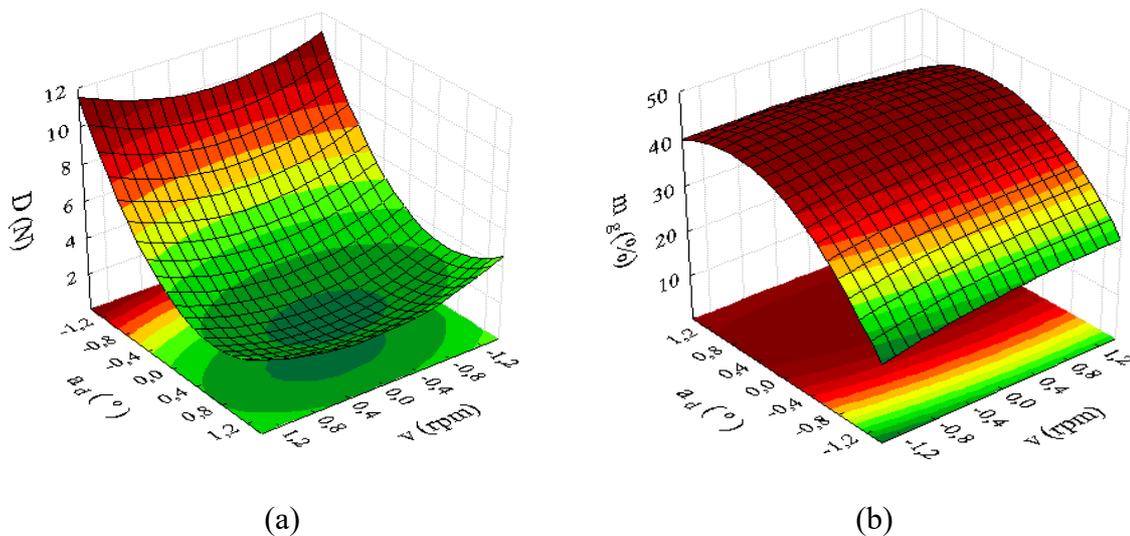
O efeito linear e quadrático da rotação (x_7) não foram estatisticamente significativos ($p < 0,10$). A análise dos efeitos mostra novamente que na faixa de velocidade de rotação estudada não teve grande influência desta variável no tamanho das grânulos formados, mesmo que velocidades de rotação altas promovam o contato maior entre as partículas no interior do equipamento e, sendo assim, favorecem o crescimento dos grânulos. Estabelecer uma faixa pequena em torno do melhor ponto do planejamento anterior fez com que os resultados para esta análise não sofressem grandes alterações. No caso da dureza, mesmo o efeito quadrático sendo significativo é possível observar pela superfície de resposta que de maneira similar à resposta de % de grânulos ideais, a faixa de velocidade de rotação utilizada no planejamento não gerou grande interferência nos resultados, principalmente quando comparado com o ângulo de inclinação do equipamento.

Os efeitos linear e quadrático do ângulo de inclinação do equipamento (x_8) foram significativos ($p < 0,10$) tanto para os resultados de dureza e de % de grânulos ideais. Analisando as superfícies de resposta é possível observar uma tendência contraditória no efeito desta variável nas duas respostas, uma vez que quanto maior o ângulo de inclinação do disco menor

a dureza e que quanto maior o ângulo de inclinação maior a % de grânulos ideais. Quando o ângulo de inclinação do disco rotativo aumentou de 48,7° para 71,3° houve uma redução de 67,12% da dureza (8,79 para 2,89 N) e um aumento de 102% na % de grânulos ideais (21,15 para 42,72%).

A maior dureza ($9,36 \pm 1,02$ N) no total dos experimentos realizados foi observada em uma rotação de 38 rpm e com ângulo de inclinação em 52° (Experimento 3) e a maior % de grânulos ideais ($43,10 \pm 0,06$ %) foi observada em 23,52 rpm e com ângulo de inclinação em 60° (Experimento 5). Estes valores máximos quando comparados com os valores máximos do planejamento anterior demonstram que o ângulo de inclinação do equipamento é significativo para o processo uma vez que a variações no ângulo resultaram em mais que o dobro do resultado de dureza observados anteriormente (planejamento 1).

Figura 4. 11 – Superfícies de respostas para o PCC 2 dos ensaios de granulação.



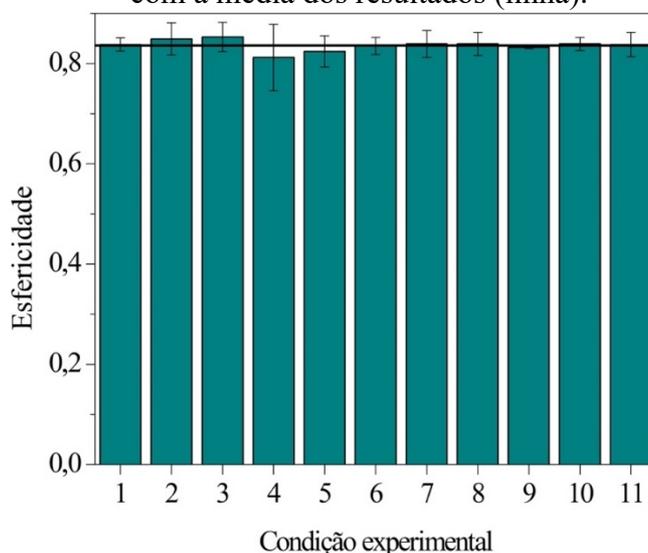
Como análise complementar deste segundo planejamento foram feitas análises de esfericidade nos grânulos de todas as corridas experimentais, os resultados estão exibidos na Tabela 4.12.

Tabela 4. 12: Resultados de esfericidade para o PCC 2 de granulação em disco rotativo.

Experimento	$v(rpm)$	$\alpha_d (^\circ)$	Esfericidade
1	26,00	52,00	$0,838 \pm 0,013$
2	26,00	68,00	$0,849 \pm 0,032$
3	38,00	52,00	$0,853 \pm 0,029$
4	38,00	68,00	$0,812 \pm 0,066$
5	23,52	60,00	$0,824 \pm 0,031$
6	40,48	60,00	$0,835 \pm 0,017$
7	32,00	48,70	$0,839 \pm 0,027$
8	32,00	71,30	$0,839 \pm 0,023$
9	32,00	60,00	$0,832 \pm 0,002$
10	32,00	60,00	$0,839 \pm 0,013$
11	32,00	60,00	$0,839 \pm 0,024$

Analisando os resultados de esfericidade é possível observar que independente de diferentes condições em cada experimento os valores de esfericidade permaneceram muito próximos, flutuando em torno da média destes mesmos resultados, como exibido na Figura 4.12, e por isso não foi incluída na análise de variância (ANOVA). Esta análise mostra também que o produto final peneirado ficou padronizado, esteticamente similar, apesar das diferentes condições que o material foi submetido.

Figura 4. 12: Comparação dos resultados de esfericidade do planejamento de extração (barras) com a média dos resultados (linha).

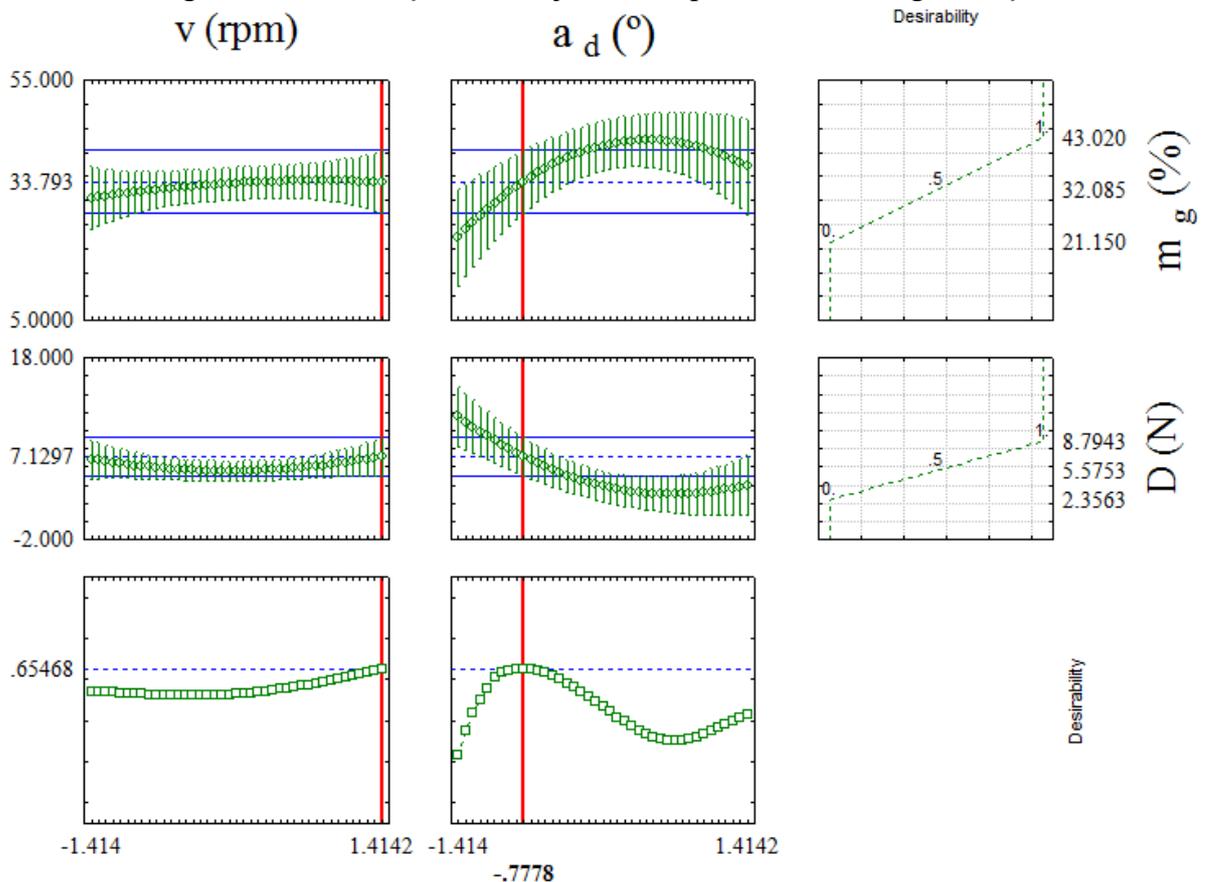


O desafio deste planejamento então foi encontrar uma condição em que os grânulos formados não fossem grandes demais e ao mesmo tempo resistissem bem à compressão. Com o objetivo de determinar as condições operacionais que proporcionem simultaneamente a maior % de grânulos na faixa desejada e um maior resultado de dureza foi realizada também uma otimização multi-resposta utilizando a função desejabilidade.

4.3.4 Análise de desejabilidade planejamento 2 da granulação

O procedimento de otimização exibido na Figura 4.13 foi conduzido para maximizar simultaneamente a % de grânulos na faixa desejada e a dureza. Portanto, esta otimização consiste em achar um ponto em que as 2 condições estejam favoráveis, porém, não necessariamente em seu valor máximo individual.

Figura 4. 13: Condição de desejabilidade para o PCC 2 da granulação.



Na Tabela 4.13 são apresentados os resultados da otimização multi-resposta com os níveis ótimos das variáveis independentes sob a forma de variáveis codificadas e seus valores correspondentes na escala real.

Tabela 4. 13: Variáveis independentes no ponto ótimo de otimização PCC 2 granulação.

	Variável codificada	Variável real
v (rpm) (x_1)	1,4142	40,48
a_d (°) (x_2)	- 0,7778	66,22

Os resultados preditos pela otimização multi-resposta e o teste confirmatório experimental estão apresentados na Tabela 4.14. Os resultados experimentais foram ainda melhores do que os preditos pelo modelo, mas com uma porcentagem de erro menor que 10%, o que indica que os valores estão bem descritos pelo modelo estatístico. Todas as medidas em condições otimizadas foram realizadas em triplicata.

Tabela 4. 14: Resultados experimentais e preditos na condição otimizada.

	Experimental	Predito	Erro (%)
D (N)	7,55 ± 0,58	7,13	5,62
m_g (%)	43,54± 0,49	40,88	6,11

Os resultados experimentais obtidos para dureza e % de grânulos ideais na condição de desejabilidade (Tabela 4.14) foram comparados com os resultados dos 11 experimentos do planejamento, conforme as Figuras 4.14 e 4.15 em que os valores da condição ótima estão indicados por uma linha horizontal. Como esperado, o resultado obtido para a dureza não foi maior do que de todos os pontos do planejamento, uma vez que a variável ângulo de inclinação do disco ao ser maximizada causa uma redução significativa na % de grânulos ideais. Cabe lembrar que a análise de desejabilidade identifica o ponto ótimo considerando as duas respostas e que há um efeito contraditório dessa variável em relação as duas respostas.

Figura 4. 14: Comparação dos resultados de dureza do PCC com a condição ótima.

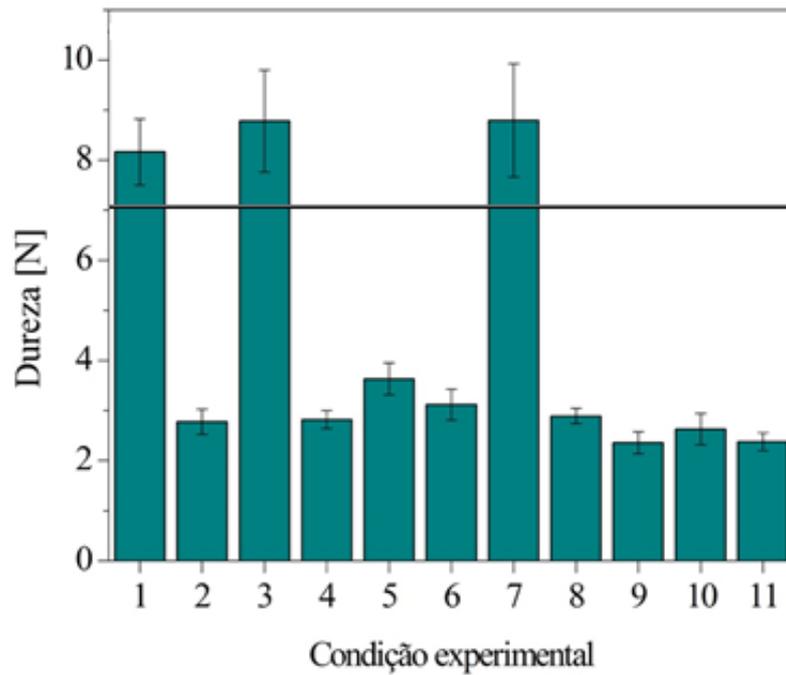
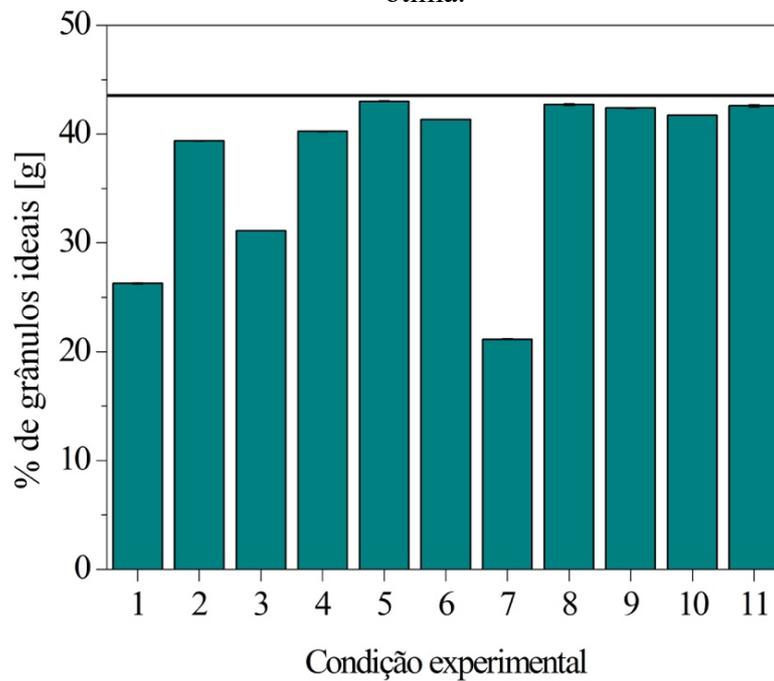
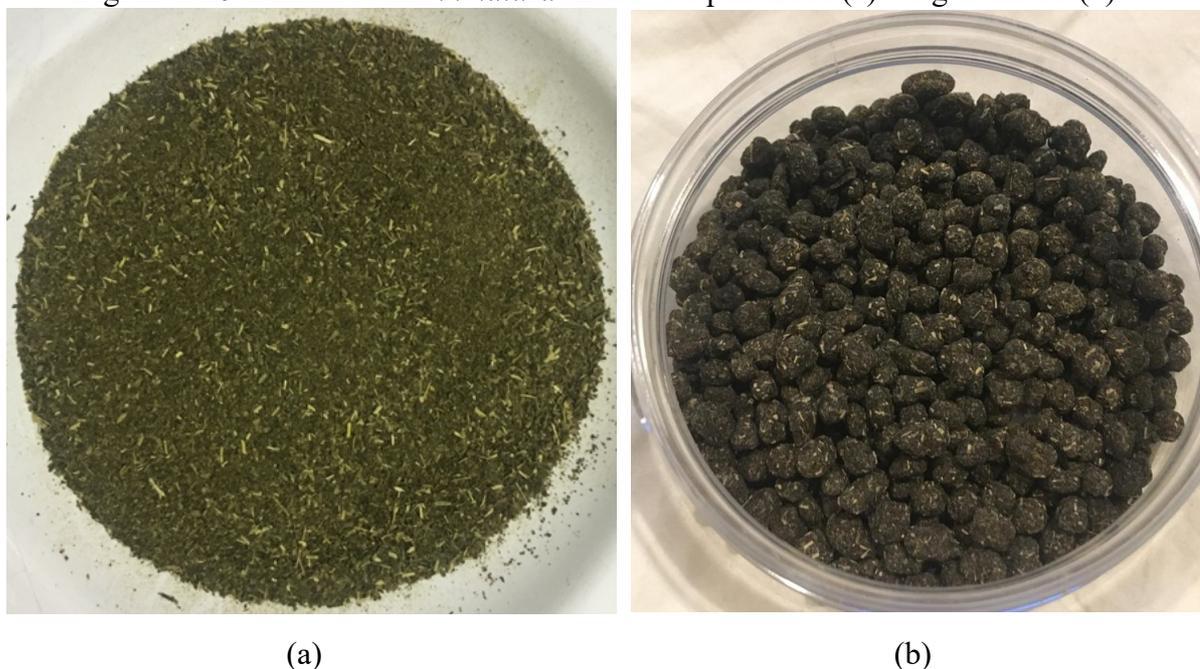


Figura 4. 15: Comparação dos resultados de % de grânulos ideais do PCC com a condição ótima.



A Figura 4.16 mostra o comparativo entre o antes e o depois da granulação do blend de chás *in natura* triturado e peneirado e o grânulo final.

Figura 4. 16: Blend de chás *in natura* triturado e peneirado (a) e o grânulo do (b).



4.3.5 Compostos bioativos na condição de maior desejabilidade

Para o experimento realizado na condição de desejabilidade foram realizadas análises de TPC, TFC, IC₅₀ e as análises no HPLC (ácido gálico, EGC, catequina, cafeína, EGCG e EC). Para a extração dos compostos foi utilizada a condição de desejabilidade para o planejamento de extração. Por se tratar de um lote diferente do qual foram realizadas as análises do planejamento de extração houve a necessidade de realizar as análises também para o composto *in natura*.

Os resultados de todas as análises após o processo de graulação foram comparados com os resultados do composto *in natura*. Na Tabela 4.15 estão expressos os resultados das análises bem como a % da diferença entre os resultados, que significam quanto houve de perda de compostos bioativos após o processo completo de granulação.

Tabela 4. 15 Resultados das análises de bioativos antes e após a granulação

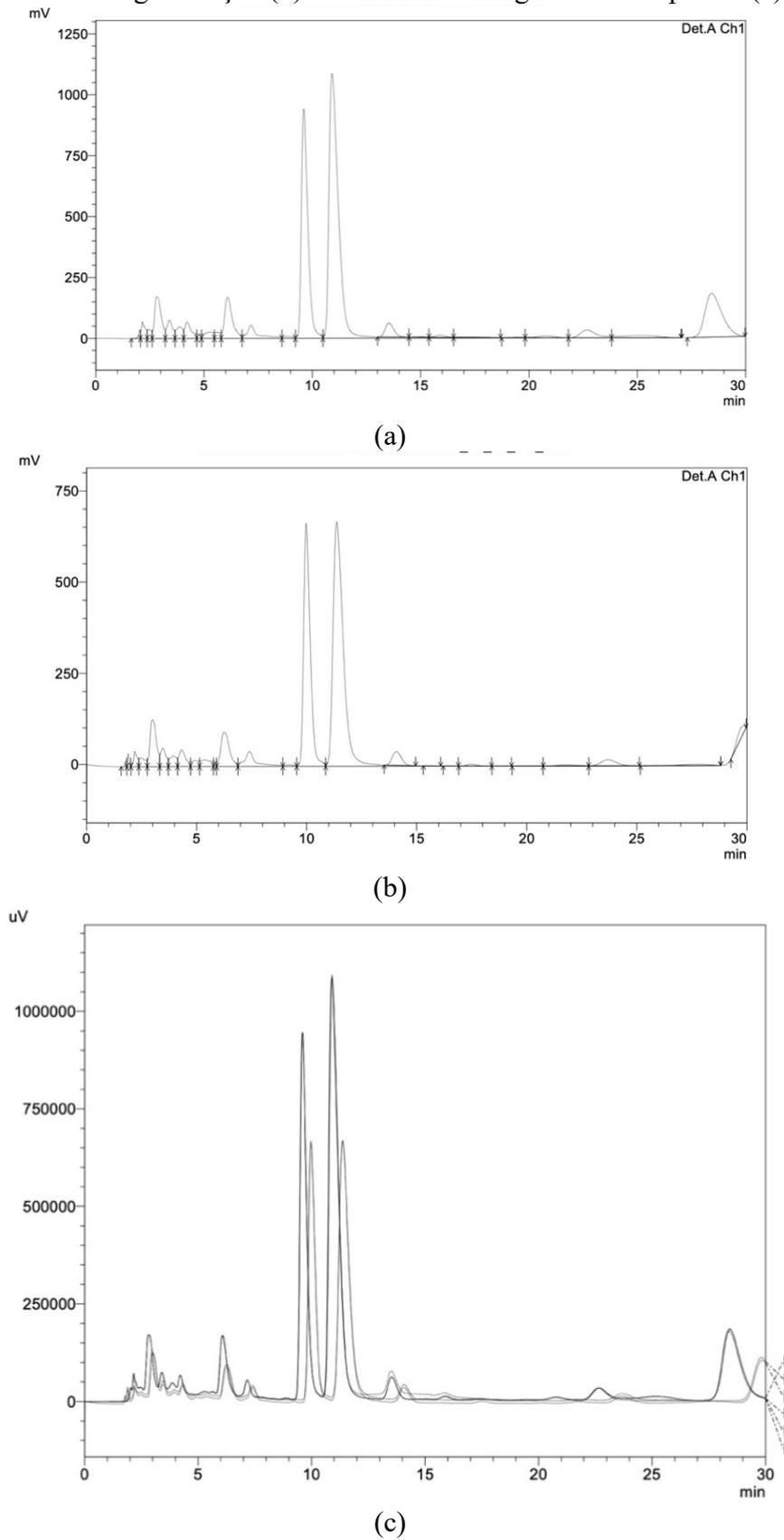
	<i>In natura</i>	Após granulação	(%)
TPC (mg _{GAE} /100g)	3270,29 ± 67,91	1690,03 ± 7,02	48,32
TFC (mg _{rutina} /100g)	12,26 ± 0,33	6,70 ± 0,13	45,35
IC ₅₀ (μg/mL)	0,812 ± 0,009	1,191 ± 0,012	46,72
GAE (mg/100g)	98,01 ± 0,44	67,93 ± 1,16	30,69
EGC (mg/100g)	1232,65 ± 8,08	760,09 ± 7,89	38,34
Catequina (mg/100g)	315,24 ± 10,01	251,21 ± 2,99	20,31
Cafeína (mg/100g)	594,68 ± 1,58	423,54 ± 1,96	28,78
EGCG (mg/100g)	2225,97 ± 49,25	1436,57 ± 34,33	35,46
EC (mg/100g)	435,66 ± 0,16	294,93 ± 1,19	32,30

Os resultados expressos por mg/100g significam mg/100g de blend de chás em base seca.

Os resultados mostram que após o processo há uma queda significativa dos compostos bioativos e que cada composto reage de uma maneira diferente ao processo. A catequina foi o composto que menos sofreu redução (20,31%), já o EGC sofreu uma redução maior (38,34%). Mesmo com reduções significativas de compostos bioativos o produto ainda permanece em níveis ótimos de compostos, como TPC maior que 1000 mg/100g e IC₅₀ menor que 50 μg/mL o que indica que ainda é um material atividade antioxidante elevada.

O cromatograma obtido em HPLC (Figura 4.16) para as duas condições antes e após o processo de granulação. Para comparação os dois cromatogramas sobrepostos. As imagens e os resultados mostraram novamente presença majoritária de EGCG e minoritária de ácido gálico, assim como já era previsto por Yang *et al.* (2002).

Figura 4. 17: Cromatograma obtido em HPLC do material *in natura* (a), do material após o processo de granulação (b) e os dois cromatogramas sobrepostos (c).



CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES

Os resultados do estudo de extração mostraram que as soluções hidroalcoólicas em micro-ondas são uma boa alternativa para a extração de compostos fenólicos. As análises estatísticas sugeriram que a concentração de etanol, a relação líquido/sólido e a temperatura desempenham um papel importante na extração de antioxidantes.

Os níveis ótimos previstos para a extração foram 184,1 mL/g de razão líquido/sólido, 3 min de extração no micro-ondas e 38,24% de concentração de etanol. Esta condição apresentou TPC máximo ($2164,75 \pm 97,61 \text{mg}_{\text{GAE}}/100 \text{g}$), TFC ($12,71 \pm 0,18 \text{mg}_{\text{rutina}}/100 \text{g}$) e IC_{50} mínimo ($0,773 \pm 0,006 \mu\text{g}/\text{mL}$). Também nesta condição, a microscopia eletrônica de varredura mostrou a estrutura da partícula após o processo de extração onde é possível visualizar as cavitações formadas pelo processo de extração, identificando, além das análises, as condições favoráveis à extração.

As análises de CLAE permitiram a identificação de compostos antioxidantes, ácido gálico, catequinas e cafeína, os quais estão associados à prevenção de doenças. Portanto, a otimização de extração de compostos antioxidantes provou ser crucial para determinar uma condição com alta concentração de compostos bioativos. Este método tem potencial significativo para ser usado em aplicações nutracêuticas e farmacêuticas.

Os resultados do processo de granulação do blend de chás mostraram que mesmo com perdas significativas de compostos bioativos, entre 20,31% e 48,32%, após o processo de granulação, ainda caracterizam o blend de chás como um produto com elevado teor de compostos bioativos e uma alta atividade antioxidantes, características importantes, que tornam o produto extremamente atrativo.

Para o processo de granulação conclui-se também que elevadas concentrações de material ligante na solução aspergida sobre o sólido no interior do equipamento elevam o diâmetro dos grânulos e que existem proporções ideais para a relação de massa de sólidos e o volume de solução utilizada durante uma batelada para a produção de grânulos, em que altos volumes de solução levam à formação de pastas no interior do disco rotativo e baixos volumes de solução levam à grânulos fracos e quebradiços.

As velocidades de rotação do equipamento também desempenham papel fundamental neste processo, os resultados mostram que velocidades de rotação altas promovem o contato maior entre as partículas no interior do equipamento e, sendo assim, favoreceram o crescimento dos grânulos.

Quanto menor o ângulo de inclinação do disco maiores os resultados de dureza, pois maior é a queda dos sólidos dentro do equipamento, fazendo com que os grânulos fiquem mais compactados e, conseqüentemente, mais resistentes. Utilizando os valores ótimos para o primeiro planejamento composto central para a granulação foi possível analisar melhor o desempenho do processo com relação à variação do ângulo de inclinação do equipamento.

Pelos testes realizados no disco rotativo foi possível determinar um resultado em que as características de dureza e uma maior quantidade de grânulos na granulometria desejada fossem maximizados. A desejabilidade sugeriu uma massa de sólidos de 56,6 g, uma porcentagem de ligante em 2,18%, velocidade de rotação em 40,48 rpm e também o ângulo de inclinação do disco em 66,22°. Com estas condições foi possível obter uma % de grânulos na granulometria desejada em 43,54% e 7,55 N de dureza.

O resultado quantitativo do processo, ou seja, a quantidade de grânulos formados é importante, mas também junto a isso manter uma grande quantidade de bioativos no produto final. O produto final apresentou TPC $1690,03 \pm 97,02$ mg_{GAE}/100 g, TFC $6,70 \pm 0,13$ mg_{rutina}/100 g e IC₅₀ $1,191 \pm 0,012$ µg/mL, GAE $67,93 \pm 1,16$ mg/100 g, EGC $760,09 \pm 7,89$ mg/100 g, Catequina $251,21 \pm 2,99$ mg/100 g, Cafeína $423,54 \pm 1,96$ mg/100 g, EGCG $1436,57 \pm 34,33$ mg/100 g e EC $294,93 \pm 1,19$ mg/100 g.

Analisar que o blend de chás possui muito mais compostos do que os extraídos apenas com água, como é feito em infusões, leva à conclusão de que este novo produto criado leva ao consumidor um produto com elevado teor de compostos antioxidantes e conseqüentemente um produto benéfico à saúde, possuindo um alto potencial para ser aprimorado e levado às lojas.

CAPÍTULO 6 - SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Em face dos resultados supramencionados outros estudos podem ser realizados, como:

- Avaliar o desempenho do equipamento disco rotativo com quantidades maiores de sólidos por teste, em torno de 40% da capacidade total;
- Avaliar o potencial *in vivo* deste material, a quantidade realmente absorvida pelo corpo;
- Realizar análises de scale-up para implementação deste processo na indústria;
- Avaliar os componentes do blend de chás em particular;
- Utilizar outros materiais, como frutas ou outros chás, para realização da granulação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AN, B.J.; BAE, N.J.; CHOI, C. Inhibitory effect of flavan-3-ols isolated from oolong tea on xanthine oxidase. **J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.**, v. 28, p. 1084-1088, 1996.
- ANDERSON, R.A.; POLANSKY, M.M. Tea enhances insulin activity. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 7182-7186, 2002.
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010b.
- ARENAS, K. S. L.; VICTORIA, M. T. C. Y.; VIZCARRA, M. G.; VERA, C. M.; SOSA, I. A. Effect of agitated bed drying on the retention of phenolic compounds, anthocyanins and antioxidant activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*). **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 51, p. 1457-1464, 2016. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13118>
- BAZINET, L., LABBÉ, D., TREMBLAY, A. Production of Green Tea EGC- and EGCG-Enriched Fractions by a Two-Step Extraction Procedure. **Separation and Purification Technology**, v.56, p.53 – 56, 2007.
- BECKER, E.M.; NISSEN, L.R.; SKIBSTED, L.H. Antioxidant evaluation protocols: food quality or health effects. **Eur. Food Res. Technol.**, v. 219, p. 561-571, 2004.
- BHUYAN, D. J.; VUONG, Q. V.; CHALMERS, A. C.; ALTENA, I. A.; BOWYER, M. C.; SCARLETT, C. J. Microwave-assisted extraction of *Eucalyptus robusta* leaf for the optimal yield of total phenolic compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 290-299, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.044>
- BINDES, M. M. M., 2018. Processamento do extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) aplicando filtração por membranas, PPGEQ/UFU, Uberlândia-MG, 115 p. (Dissertação de mestrado).
- BOURAS, M.; CHADNI, M.; BARBA, F. J.; GRIMI, N.; BALS, O.; VOROBIEV, E. Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from Quercus bark. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 590-601, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.018>
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. **Regulamento técnico de espécies vegetais para o preparo de chás**. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 267, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, 2005.

- BRASIL. *Inclusão do uso das espécies vegetais e parte(s) de espécies vegetais para o preparo de chás*. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 219, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, 2006.
- BRUIJN, J.; RIVAS, F.; RODRIGUEZ, Y.; LOYOLA, C.; FLORES, A.; MELIN, P.; BORQUEZ, R. Effect of vacuum microwave drying on the quality and storage stability of strawberries. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 40, n. 5, p. 1104-1115, 2016. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12691>
- CABRERA, C.; GIMENEZ, R.; LÓPEZ, M.C. Determination of tea components with antioxidant activity. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 4.427-4.435, 2003.
- CAPES, C. E. Handbook of Powder Technology: volume 1. Amsterdam: Elsevier, 1980a.
- CAPES, C. E. Particle size enlargement. New York: Elsevier, 1980b.
- Mars Mineral Corporation, CAPES, 1980^a, p.72
- CARLETTE, L.P., 2017. Estudo de granulação de fertilizantes de origem ígnea em discos rotativos, PPGEQ/UFU, Uberlândia-MG, 125 p. (Dissertação de mestrado).
- CHANG, C. H.; LIN, H. Y.; CHANG, C. Y.; LIU, Y. C. Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 478-485, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.06.061>
- CHANDINI, S. K., RAO, L. J., SUBRAMANIA, R. Membrane Clarification of Black Tea Extracts. **Food Bioprocess Technol**, v.6, p. 1926 – 1943, 2013.
- CHENG, Z. *et al.* Extraction optimization, characterization and antioxidant activity of polysaccharide from *Gentiana scabra* bge. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 93, n. Part A, p. 369-380, 2016/12/01/ 2016. ISSN 0141-8130. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813016313290>.
- CIOLA, R. Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho. 1^aed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, p.179, 2000.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Fundamentos de Cromatografia. Campinas: Editora Unicamp. p.453, 2006.
- DANACAL, G.C., 2005. Estudo da granulação de suco de acerola desidratado em leito fluidizado, FEA/UNICAMP, Campinas-SP, 136 p. (Dissertação de mestrado).
- DE ABREU, L., 2013. Estudo do poder antioxidante em infusões de ervas utilizadas como chás, PPCTA/UFSM, Santa Maria-RS, 87 p. (Dissertação de mestrado).

- DERRINGER, G.; SUICH, R. 1980. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality and Technology**, v.12, p.214-219.
- FANARO, G. B., 2013. Efeito da radiação ionizante em chás da planta *Camellia sinensis* irradiados com diferentes atividades de água, IPEN/USP, São Paulo - SP, 109 p. (Tese de doutorado).
- FALLER, A. L. K. & FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Revista Saúde Pública**, v. 43(2), p.211-8, 2009
- FANG, L.; CHEN, M.; LIU, Z.; FANG, X.; GOU, S.; CHEN, L. Ferulic acid–carbazole hybrid compounds: Combination of cholinesterase inhibition, antioxidant and neuroprotection as multifunctional anti-Alzheimer agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 24(4), p. 886-893, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.01.010>
- FERRARA, L.; MONTESANO, D.; SENATORE, A. The distribution of minerals and flavonoids in the tea plant (*Camellia sinensis*). **Il Farmaco**, v. 56, p. 397-401, 2001.
- FIRMINO, L. A. Avaliação da qualidade de diferentes marcas de chá verde (*Camellia sinensis*) comercializadas em Salvador-Bahia. Dissertação de mestrado. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia. Salvador, 2011.
- GARCÍA-VILLALÓN, A. L.; AMOR, S.; MONGE, L.; FERNÁNDEZ, N.; PRODANOV, M.; MUÑOZ, M.; INAREJOS-GARCÍA, A. M.; GRANADO, M. In vitro studies of an aged black garlic extract enriched in S-allylcysteine and polyphenols with cardioprotective effects. **Journal of Functional Foods**, v. 27, p.189-200, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.08.062>
- GARMUS, T. T.; PAVIANI, L. C.; QUEIROGA, C. L.; CABRAL, F. A. Extraction of phenolic compounds from pepper-rosmarin (*Lippia sidoides Cham.*) leaves by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 99, p. 68-75, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.01.016>
- GOLI, A. H.; BARZEGAR, M.; SAHARI, M.A. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachiavera*) hull extracts. **Food Chemistry**, v. 92, p. 521-525, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.020>
- GOSSLAU, A.; CHEN, K.Y.; Nutraceuticals, Apoptosis, and Disease Prevention, **Nutrition**, v. 20, p. 95-101, 2004.
- HALSTED, C. H. Dietary supplements and functional foods: 2 sides of a coin? **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, suppl., p. 1001S-1003S, 2003

- HEMALATHA, P.; BOMZAN, D. P.; RAO, B. S.; SREERAMA, Y. N. Distribution of phenolic antioxidants in whole and milled fractions of quinoa and their inhibitory effects on α -amylase and α -glucosidase activities. **Food Chemistry**, v. 199, p. 330-338, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.025>
- H.F. WANG, K. H., X.Q. YOU. Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC. **Food Chemistry**, v. 68, 2000.
- HINTZ, W.; TOMAS, J. Size Enlargement, Agglomeration. Magdeburg: Universitat Magdeburg, 2014.
- HO, S. C.; WU, S. P.; LIN, S. M.; TANG, Y. L. Comparaison of anti-glycation capacities of several herbal infusions with that of green tea. **Food Chemistry**, v. 122, p. 768-774, 2010.
- HU, Y.; PAN, Z. J.; LIAO, W.; LI, J.; GRUGET, P.; KITTS, D. D.; LU, X. Determination of antioxidant capacity and phenolic content of chocolate by attenuated total reflectance-Fourier transformed-infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, 202, 254-261, 2016 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.130>
- HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- HUANG, J.; ZHANG, M.; ADHIKARI, B.; YANG, Z. (2016). Effect of microwave air spouted drying arranged in two and three-stages on the drying uniformity and quality of dehydrated carrot cubes. **Journal of Food Engineering**, 177, 80-89.
- IVESON, S. M. e LITSTER, J. D. A grow regime map for liquid bound granules. **Aiche J.**, v.44, p.1510-1518, 1998.
- IVESON, S.; LITSTER, J.; ENNIS, B. Fundamental studies of granule consolidation. Part 2: quantifying the effects of particle and binder properties. **Powder Technology**, Lausanne, v. 99, n. 3, p. 243-250, oct. 1998.
- IVESON, S. M., LITSTER, J. D., HAPGOOD, B. J., ENNIS, B. J., Nucleation, growth and breakage phenomena in agitated wet granulation process: a review, **Powder Technology**, v. 117, p. 3-39, 2001a.
- IVESON, S. M.; WAUSTERS, P. A. L.; FORREST, S.; LITSTER, J. D.; MEESTERS, G. M. H. e SCARLETT, B. A grow regime map for liquid bound granules: Further developments and experimental validation. **Powder Technology**, v.117, p.83-87, 2001b.

- JANKUN, J., SELMAN, S. H., SWIERCZ, R. Why drinking green tea could prevent câncer. **Nature**, 387, p. 561, 1997.
- JIANG, H., ENGELHARDT, U. H., THRÄNE, C., MAIWALD, B., STARK, J. Determination of Flavonol Glycosides in Green Tea, Oolong Tea And Black Tea by UHPLC Compared to HPLC. **Food Chemistry**, v.183, p.30 - 35, 2015.
- KNIGHT, P., Structuring agglomerated products for improved performance, **Powder Technology**, v. 119, p. 14-25, 2001.
- KRIS-ETHERTON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKOSKI, A. E.; HILPERT, K. F.; GRIEL, A. E.; ETHERTON, T. D. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American Journal of Medicine**, v. 113, p.71-88, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(01\)00995-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(01)00995-0)
- 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 and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2568-2577, 2012. ISSN 1935-5149. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0580-0>
- LIANG, H. *et al.* Tea extraction methods in relation to control of epimerization of tea catechins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 9, p. 1748- 1752, 2007. ISSN 1097-0010. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2913>.
- LIMA, A. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense, camb.*), (Tese de Doutorado). Universidade de São Paulo, 2008. <https://doi.org/10.11606/T.9.2008.tde-30042008-090010>
- LITSTER, J. D. Scaleup of wet granulation processes: science not art. **Powder Technology**, v.130, n.1-3, p.35-40, Feb 19, 2003.
- LITSTER, J.; ENNIS, B. *The Science and Engineering of Granulation Processes*. New York: Springer, 2004.
- LOU, Z.; WANG, H.; ZHANG, M.; WANG, Z. Improved extraction of oil from chickpea under ultrasound in a dynamic system. *Journal of Food Engineering*, v. 98, p. 13-18, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.11.015>
- MARCO, G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v. 45, p.594-598, 1968. <https://doi.org/10.1007/BF02668958>

- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolic in food. *Journal of Chromatography A*, v. 1054, n. 1, p. 95-111, 2004. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(04\)01409-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(04)01409-8)
- NOTERMANS, S.; HEUVELMAN, C. J. Combined effect of water activity, pH and sub-optimal temperature on growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Food Science**, v. 48, n. 6, p. 1832-1835, 1983. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1983.tb05096.x>
- OLIVEIRA, D. S. *Nova metodologia para extração de compostos fenólicos de vinho tinto e avaliação da estabilidade dos extratos obtidos*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais. 2014.
- PAGANINI-COSTA, P.; CARVALHODA-SILVA, D. Uma xícara (chá) de química, **Rev. Virtual Quim.** 3, p. 27-36, 2011.
- PERVA-UZUNALIC, A., SKERGET, M., KNEZ, Z., WEINREICH, B., OTTO, F., GRUNER, S. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. **Food Chemistry** 96, p. 597 – 605, 2006.
- PIETSCH, W. An interdisciplinary approach to size enlargement by agglomeration. **Powder Technology**, v.130, n.1-3, p.8-13, Feb 19, 2003.
- PORTO, P. A. L. S. Estudo da atividade antioxidante de catequinas e prociadinas oligoméricas. Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Departamento de Química. 2002.
- RAMACHANDRAN, R. *et al.* Experimental studies on distributions of granule size, binder content and porosity in batch drum granulation: inferences on process modelling requirements and process sensitivities. **Powder Technology**, Lausanne, v. 188, n. 2, p. 89-101, dec. 2008.
- RAMIREZ-TORTOSA, C.; ANDERSEN, Ø. M.; GARDNER, P. T.; MORRICE, P. C.; WOOD, S. G.; DUTHIE, S. J.; COLLINS, A. R.; DUTHIE, G. G. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E-depleted rats. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31(9), p. 1033-1037, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00618-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00618-9)
- REZENDE, A. H. R., DA COSTA, D. D. L., OLIVEIRA F. A., TOFANELLO, F. P., RODRIGUES, L. M., MORAES JÚNIOR, S. F., Projeto de um granulador de disco rotativo em escala laboratorial, 37º Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados (ENEMP), São Carlos, 2015.
- RODRIGUES, R. F. Influência das Condições de processo na granulação de super simples em tambor rotativo. 2012. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012

- RUMPF, H. The strenght of granules and agglomerates. **Agglomeration, Interscience**. Nova York: 1958. p.379-410.
- RUMPF, H., In: The Strength of Granules and Agglomerates, AIME, **Agglomeration, Interscience**, New York, 1962, p. 379-418.
- RUSAK, G.; KOMES, D.; LIKIC, S.; HORZIC, D.; KOVAC, M. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. **Food Chemistry**, v. 110, p. 852-858, 2008.
- SAITO, S. T. Estudo químico e avaliação da atividade antioxidante de chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var. *assamica*) Cultivar IAC – 259. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Farmácia. Porto Alegre, 2007.
- SAITO, S.T.; WELZEL, A.; SUYENAGA, E.S., BUENO, F. A method for fast determination of epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin (EC), catechin (C) and caffeine (CAF) in green tea using HPLC. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, p. 394-400, 2006.
- SAKANAKA, S.; KIM, M.J.; YAMAMOTO, T. Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a cariogenic bacterium. **Agric. Biol. Chem.**, v. 53, p. 2307-2311, 1989.
- SANO, J.; INAMI S.; SEIMIYA, K., OHBA, T; SAKAI, S.; TAKANO, T.; MIZUNO, K. Effects of green tea intake on the development of coronary artery disease. **Cir. J.**, v. 68, p.665-670, 2004.
- SATO, T.; MYATA, G. The nutraceutical benefit, Part I: Green tea. **Nutrition**, v. 16, p. 315-317, 2000.
- SCHUBERT, H. Food Particle Technology. Part I: Properties of Particles and Particulate Food Systems. **Journal of Food Engineering**, v.6, p.1-32, 1987.
- SCHUBERT, H. Instantization of Powdered Foods. **International Chemical Engineering**, v.33, n.1, p.28-45, 1993.
- SCHUBERT, H. Principles of Agglomeration. **International Chemical Engineering**, v.21, n.3, p.363-377, 1981.
- SHYAN CHIIN WEI, A primary study on the granulation of milk powder with a granulating plate. **Food Science - Taiwan**, v.22, n.5, p.566-573, 1995, *apud* Food Science and Technology Abstracts (FSTA, 1990-2005/01).
- SILVA, P. B., 2018. Secagem híbrida do resíduo de acerola em secador roto-aerado com infravermelho e extração de compostos bioativos, PPGEQ/UFU, Uberlândia-MG, 115 p. (Tese de doutorado).

- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p.144-158, 1965.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Princípios de Análise Instrumental. LCE-108 – Química Inorgânica e Analítica, 2002.
- SMIDERLE, L. A. S. M. 2013. Atividade Antioxidante, Polifenóis Totais, Carotenoides Totais, α - e β -carotenos e Isômeros *trans* (E) e *cis* (Z) em Cultivares de Abóbora (*Cucurbita moschata*) Cruas e Cozidas. Rio de Janeiro-RJ, PPGCF/UFRJ, 114 p. (Dissertação de mestrado).
- SOUSA, L. S., 2016. Extração e purificação dos compostos fenólicos presentes nas folhas de *Camellia sinensis*, PPGEQ/UFU, Uberlândia-MG, 124 p. (Dissertação de mestrado).
- SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; DE FAVERI, D. M. Effect of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**, v. 81, p. 200-208, 2007.
- SUZUKI, M.; T ABUCHI, M.; IKEDA, M.; UMEGAKI, K.; TOMIT A, T . Protective effects of green tea catechins on cerebral ischemic damage. **Med. Sci. Monit.**, v. 10, p. 166-74, 2004.
- TAOUKIS, P. S.; LABUZA, T. P.; SAGUY, I. S. Kinetics of Food Deterioration and Shelf-Life Prediction. **The Editors**, p. 30, 1997.
- TOIT, R.; VOLSTEEDT, Y.; APOSTOLIDES, Z. Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents. **Toxicology**, v. 166, p. 63-69, 2001.
- TORSCHI, B.; LENCKER, H.; WEIMIN, G. The protective role of different green tea extracts after oxidative damage is related to their catechin composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 3973-3978, 2000. <https://doi.org/10.1021/jf000499g>
- UDDIN, M. J.; ALAM, M. N.; BISWAS, K.; RAHMAN, M. A. In vitro antioxidative and cholinesterase inhibitory properties of *Thunbergia grandiflora* leaf extract. **Cogent Food and Agriculture**, v. 2, p. 1-11, 2016. <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1256929>
- VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, n. 4, p. 816-823, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.054>
- VIEIRA, V.; PRIETO, M. A.; BARROS, L.; COUTINHO, J. A. P.; FERREIRA, O.; FERREIRA, I. C. F. R. Optimization and comparison of maceration and microwave extraction systems for the production of phenolic compounds from *Juglans regia* L. for the valorization of walnut leaves.

- Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 341-352, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.012>
- VOGEL, A. (1981). *Análise Química Quantitativa*. 5ª ed. São Paulo: Mestre Jou, p.462.
- WEISBURGUER, J.H. Tea and health: a historical perspective. **Cancer Lett.**, v. 114, p. 315-317, 1997.
- XUEJUN P., GUO GUANG N., HUIZHOU L. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. **Chemical Engineering and Processing** v. 42, p. 129-133, 2003.
- YE, J. H., LI, N. N., LU, J. L., ZHENG, X. Q., LIANG, Y. R. Bulk preparation of (-)- epigallocatechin gallate – rich extract from green tea. **Food and Bioproducts Processing**, 92, p. 275 – 281, 2014.
- YEO, S.G.; AHN, C.W.; LEE, Y.W.; LEE, T.G.; PARK, Y.H.; KIM, S.B. Antioxidative effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. **J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.**, v. 24, p. 229-304, 1995.
- ZIELINSKI, A. A. F. 2015. Avaliação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante in vitro de chás: classificação, modelagem e otimização por técnicas quimiométricas, PPGEA/UFP, Curitiba-PR, 128 p. (Tese de doutorado).
- ZHANG, H. F.; YANG, X. H.; WANG, Y. Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants: current status and future directions. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 12, p. 672-688, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.07.003>
- ZHAO, G.; ZHANG, R.; LIU, L.; DENG, Y.; WEI, Z.; ZHANG, Y.; ZHANG, M. Different thermal drying methods affect the phenolic profiles, their bioaccessibility and antioxidant activity in *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk berries. **LWT-Food Science and Technology**, v. 79, p. 260-266, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.039>
- ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v.64, p.555-559, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

Apêndice

Apêndice A – Teste para medir a potência nominal dos níveis do forno micro-ondas utilizado na secagem em micro-ondas e micro-ondas a vácuo: teste impi (international microwave power institute)

Por calorimetria a potência de cada nível do forno micro-ondas foi aferida, sendo, realizado o método IMPI-2 Litros adaptado de Buffler (1991). O forno micro-ondas foi pré-aquecido através do aquecimento de 2 litros de água durante 5 minutos no nível máximo. Após este período, enxugou-se as paredes com pano frio e úmido. Para cada teste, uma carga de 2000 ± 1 g foi distribuída em dois béqueres de 1 L, agitadas com colher de plástico e as temperaturas iniciais aferidas com um termômetro Instrutherm THR-080 com resolução de $0,1^\circ\text{C}$. Os béqueres foram dispostos de modo que se tocavam no centro do forno e o mesmo foi ligado por 2 min e 2 s. Após este período, os béqueres foram retirados do forno individualmente, as cargas agitadas novamente com colher de plástico e as temperaturas finais medidas. A potência foi calculada através da Equação 1:

$$P(W) = 70 \frac{\Delta T_1(^{\circ}\text{C}) + \Delta T_2(^{\circ}\text{C})}{2} \quad (1)$$

Tabela A. 1: Determinação da potência de cada nível do forno micro-ondas.

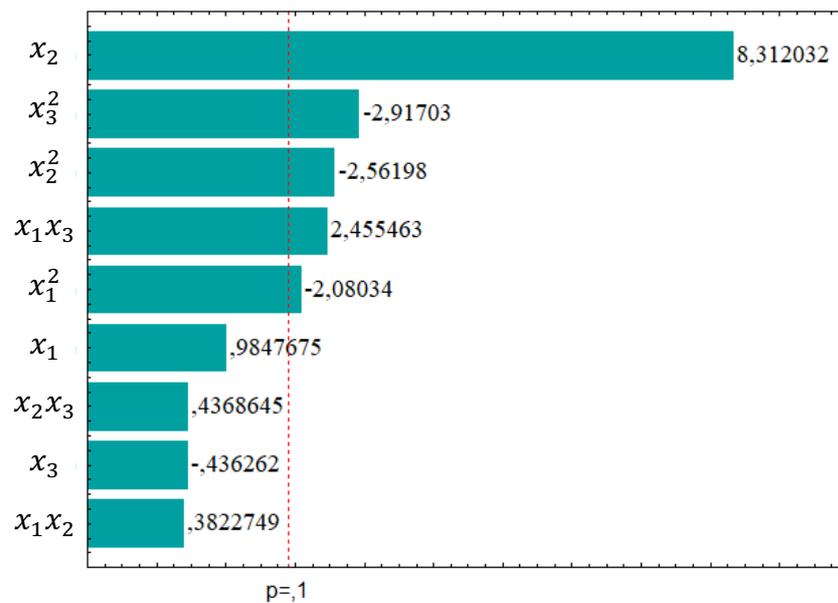
Nível	m ₁ (g)	m ₂ (g)	ΔT_1	ΔT_2	Potência (W)	Media(W)
5	1000,54	1000,11	10	9,7	689,5	687,16
	1000,60	999,97	10,3	9,6	696,5	
	1000,50	1000,87	9,7	9,6	675,5	
4	1000,52	1000,40	7,2	7,4	511,0	513,33
	1000,66	1000,29	7,4	7,3	514,5	
	1000,17	1000,47	7,4	7,3	514,5	
3	1000,15	1000,74	5,6	5,5	388,5	399,00
	1000,25	1000,06	5,8	5,8	406,0	
	1000,93	1000,77	5,8	5,7	402,5	
2	1000,90	1000,54	3,2	3,4	231,0	228,67
	1000,42	1000,09	3,3	3,3	231,0	
	1000,82	1000,27	3,2	3,2	224,0	
1	1000,53	1000,07	1,8	1,5	115,5	114,33
	1000,23	1000,40	1,7	1,6	115,5	
	1000,28	1000,03	1,7	1,5	112,0	

Os testes foram realizados em triplicata para cada nível de potência. Se a variação de cada medida fosse superior a 5% da média todo o teste deveria ser repetido.

Buffler, C. A guideline for power output measurement of consumer microwave ovens. Microwave World 10 (5):15. 1991.

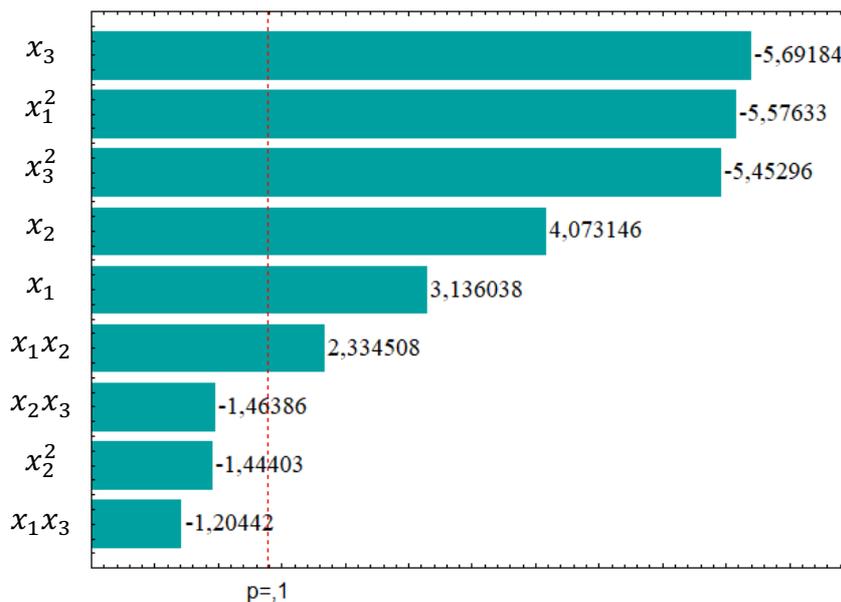
Apêndice B – Gráficos de Pareto e significância dos fatores para um nível de confiança de 90% para as extrações assistidas por micro-ondas de compostos bioativos.

Figura B.1: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados TPC)



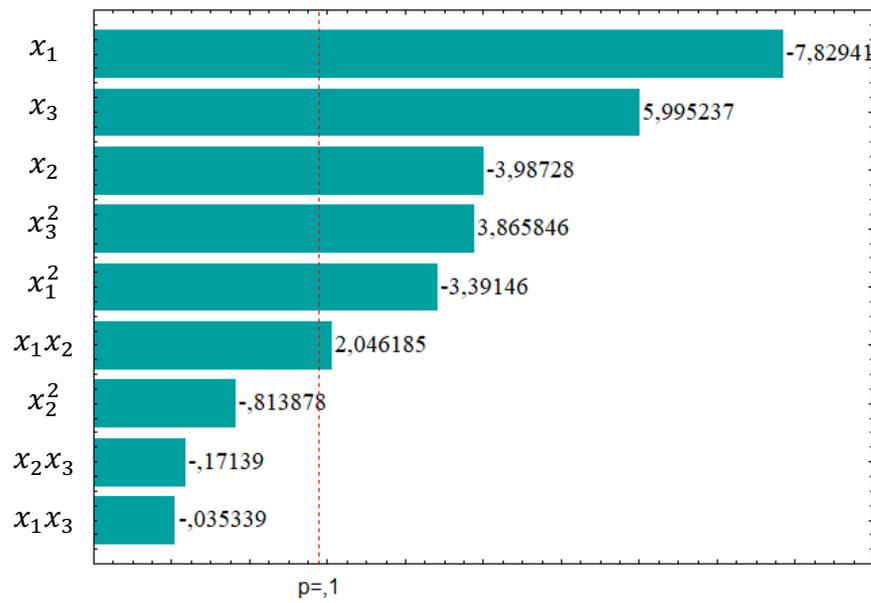
Estimativa de efeito padronizado (valor absoluto)

Figura B.2: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados TFC)



Estimativa de efeito padronizado (valor absoluto)

Figura B.3: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados IC₅₀)



Estimativa de efeito padronizado (valor absoluto)

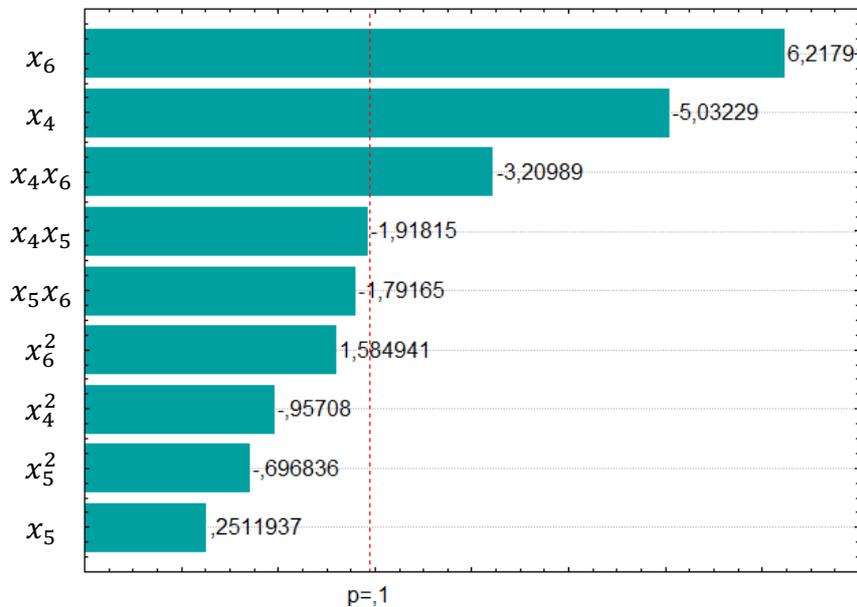
Apêndice C – Coeficientes de regressão estimados e a análise de variância para as extrações assistidas por micro-ondas de compostos bioativos.

Tabela C.1: Coeficientes de regressão estimados e a análise de variância (MAE).

	TPC (mg _{GAE} /100g)		TFC (mg _{rutina} /100g)		IC ₅₀ (µg/mL)	
	CR	<i>p</i> _{valor}	CR	<i>p</i> _{valor}	CR	<i>p</i> _{valor}
Modelo	1860,46	<0,0001	10,20	<0,0001	1,49	<0,0001
x_1	63,99	0,3575	0,54	0,0165	-0,25	0,0001
x_1^2	-148,79	0,0760	-1,06	0,0008	-0,12	0,0116
x_2	540,17	<0,0001	0,70	0,0047	-0,13	0,0053
x_2^2	-183,23	0,0374	-0,27	0,1919	-0,03	0,4425
x_3	-28,35	0,6758	-0,98	0,0007	0,19	0,0005
x_3^2	-208,63	0,0224	-1,04	0,0009	0,14	0,0062
x_1x_2	32,46	0,7136	0,53	0,0523	0,08	0,0800
x_1x_3	208,50	0,0438	-0,27	0,2676	-0,001	0,9728
x_2x_3	37,09	0,6754	-0,33	0,1866	-0,007	0,8688
R ²	0,9272		0,9432		0,9570	
Adj-R ²	0,8335		0,8701		0,9017	

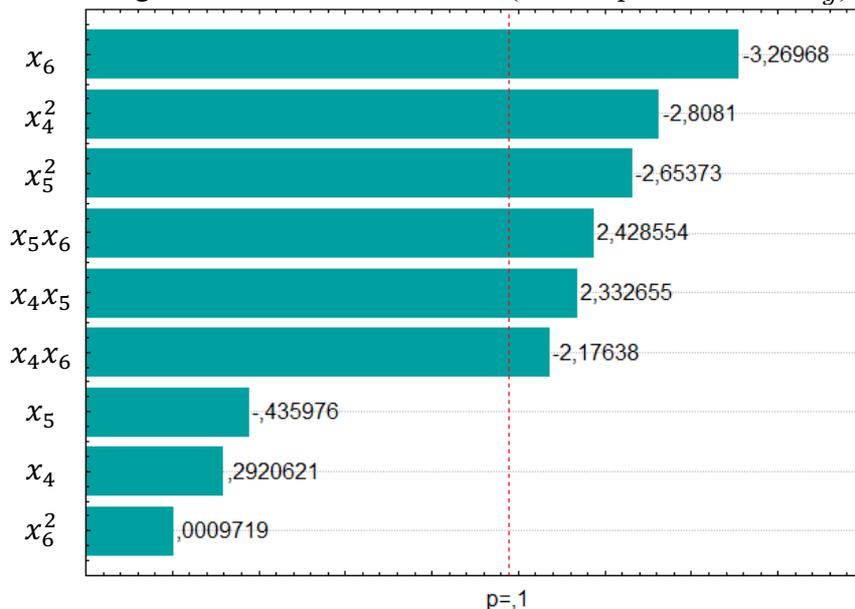
Apêndice D – Gráficos de pareto e significância dos fatores para um nível de confiança de 90% para o primeiro pcc de granulação no disco rotativo.

Figura D. 1: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados D)



Estimativa de efeito padronizado (valor absoluto)

Figura D. 2: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados m_g)



Estimativa de efeito padronizado (valor absoluto)

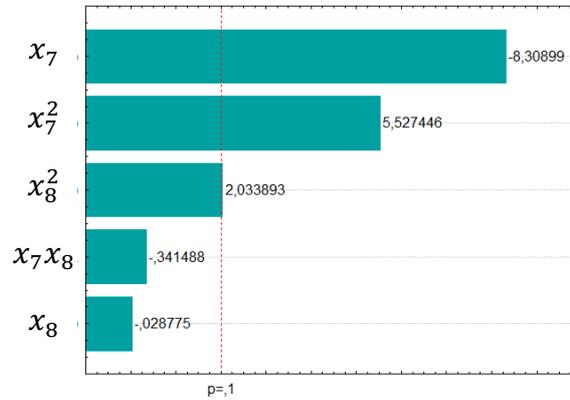
Apêndice E – Coeficientes de regressão estimados e a análise de variância para o primeiro pcc de granulação no disco rotativo.

Tabela E.1: Coeficientes de regressão estimados e a análise de variância (PCC 1 granulação).

	D (N)		m_g (%)	
	CR	p_{valor}	CR	p_{valor}
Modelo	2,279	<0,0001	43,21	<0,0001
x_4	-0,535	0,0024	0,34	0,7801
x_4^2	-0,141	0,3755	-4,52	0,0308
x_5	0,027	0,8100	-0,51	0,6781
x_5^2	-0,102	0,5120	-4,27	0,0378
x_6	0,662	0,0008	-3,81	0,0170
x_6^2	0,233	0,1641	0,002	0,9993
x_4x_5	-0,246	0,1035	3,28	0,0584
x_4x_6	-0,412	0,0184	3,42	0,0513
x_5x_6	-0,230	0,1234	-3,06	0,0724
R^2	0,9345		0,8723	
Adj- R^2	0,8361		0,6806	

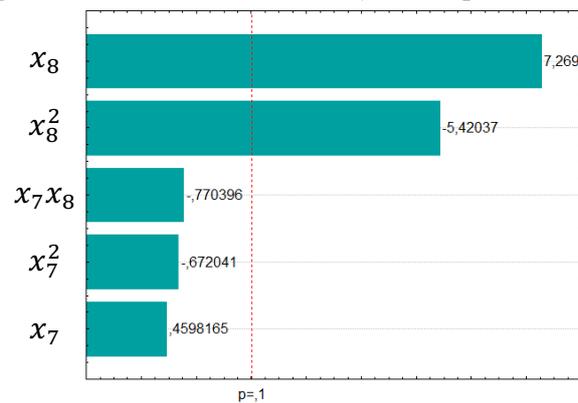
Apêndice F – Gráficos de pareto e significância dos fatores para um nível de confiança de 90% para o segundo pcc de granulação no disco rotativo.

Figura F.1: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados D)



Estimativa de efeito padronizado (valor absoluto)

Figura F.2: Gráfico de Pareto (Efeitos padronizados m_g)



Estimativa de efeito padronizado (valor absoluto)

Apêndice G – Coeficientes de regressão estimados e a análise de variância para o segundo pcc de granulação no disco rotativo.

Tabela G.1: Coeficientes de regressão estimados e a análise de variância (PCC 2 granulação).

	D (N)		m_g (%)	
	CR	p_{valor}	CR	p_{valor}
Modelo	2,45	0,0039	42,24	<0,0001
x_7	-0,009	0,9782	0,42	0,6650
x_7^2	0,72	0,0976	-0,73	0,5314
x_8	-2,46	0,0004	6,59	0,0008
x_8^2	1,95	0,0027	-5,85	0,0029
x_7x_8	-0,14	0,7466	-0,99	0,4759
R^2	0,9523		0,9438	
Adj- R^2	0,9047		0,8876	

Apêndice H – Curvas de calibração dos padrões utilizados para leitura das amostras em HPLC.

Figura H. 1: Curva de calibração para o padrão Galato de (-) – epigallocatequina (EGCG).

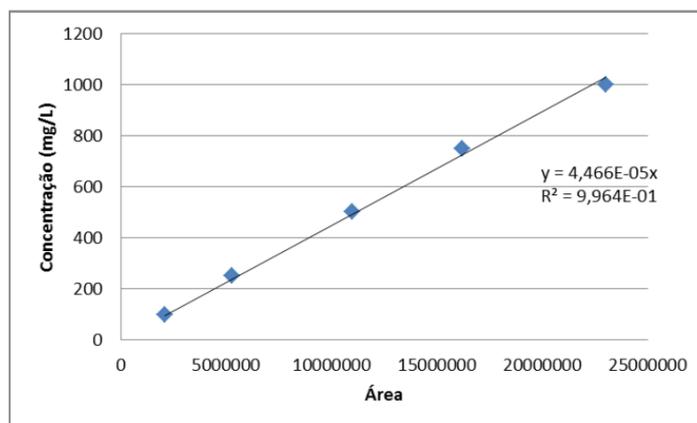


Figura H. 2: Curva de calibração para o padrão Cafeína

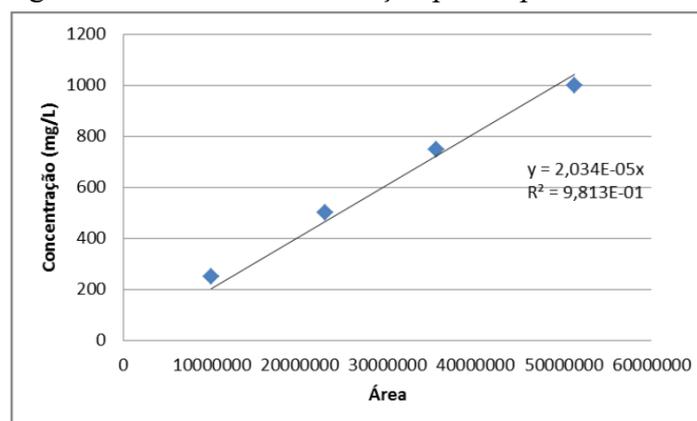


Figura H. 3: Curva de calibração para o padrão Epicatequina (EC)

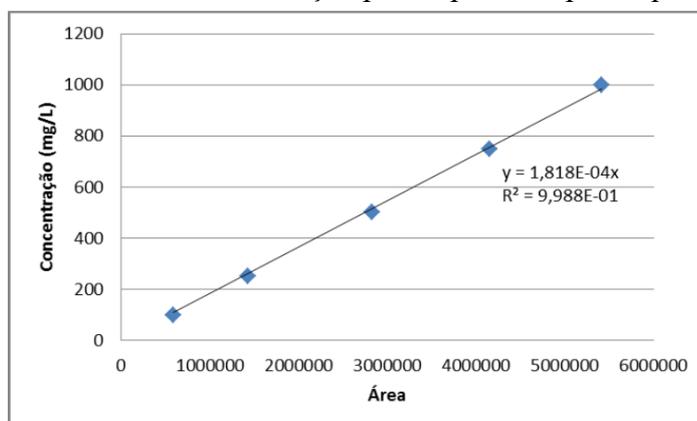


Figura H. 4: Curva de calibração para o padrão Catequina (C)

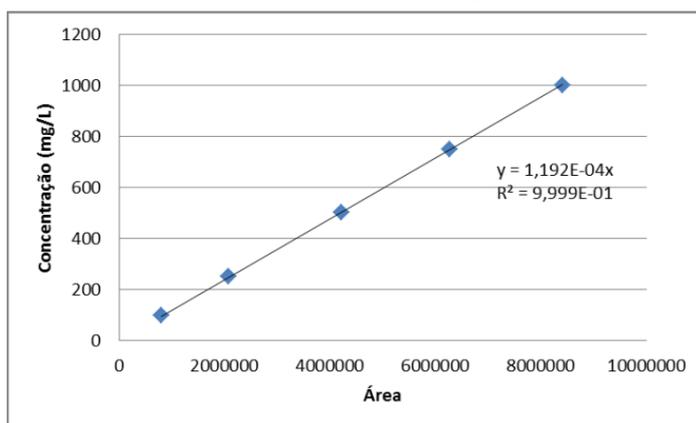


Figura H. 5: Curva de calibração para o padrão Epigalocatequina (EGC)

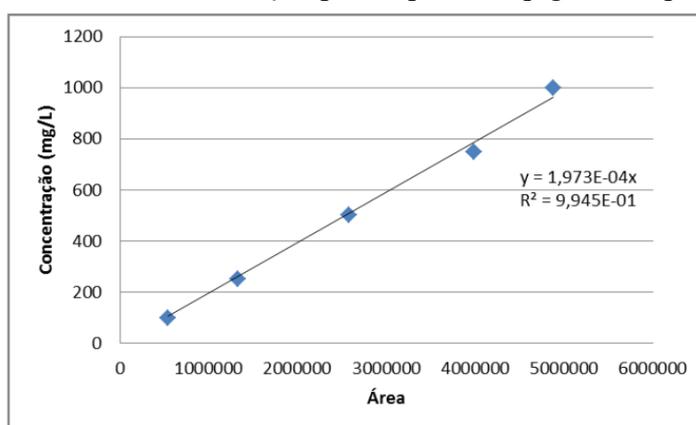


Figura H. 6: Curva de calibração para o padrão Ácido Gálico (GAE)

