



INTERNATIONAL WORKSHOP ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION

"KEY ELEMENTS FOR A SUSTAINABLE WORLD: ENERGY, WATER AND CLIMATE CHANGE"

Análise de Compostos Fenólicos, Metilxantinas, Tanino e Atividade Antioxidante de Resíduo do Processamento da Erva-Mate: Uma Nova Fonte Potencial de Antioxidantes

M. A. Vieira^a, M. Maraschin^b, C. M. Pagliosa^c, R. Podestá^d, R. D. M. C. Amboni^e

a. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, manoelavieira@gmail.com

b. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, m2@cca.ufsc.br

c. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, mcristiane@gmail.com

d. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, ro_podesta@yahoo.com.br

e. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, ramboni@cca.ufsc.br

Resumo

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) é uma planta encontrada no Brasil, Paraguai e Argentina, países considerados como os únicos produtores mundiais, onde ocupa relevante importância sócio-econômica. Devido aos efeitos benéficos da erva-mate, seu consumo, atualmente não se limita somente aos países produtores. Entre estas atribuições está a sua atividade antioxidante, a qual pode contribuir na proteção contra processos oxidativos no organismo humano, sendo os compostos fenólicos e taninos os constituintes químicos responsáveis por este efeito e propriedade estimulante atribuída ao seu conteúdo de metilxantinas, como a cafeína. Os objetivos desta pesquisa foram: avaliar a composição dos fenólicos, metilxantinas e taninos dos resíduos gerados na industrialização da erva-mate (pó do mate) comparar quali/quantitativamente a composição fenólica dos extratos obtidos a partir de diferentes solventes e avaliar o potencial antioxidante desses extratos. Entre os extratos preparados com diferentes solventes, o extrato de metanol 80% apresentou o maior conteúdo de polifenóis totais (11,51 g/100g), seguido pelo metanol acidificado, etanol acidificado, etanol 80 %, água destilada e água destilada acidificada. Ao comparar os resultados do total de polifenóis e atividade antioxidante dos extratos é possível observar que o maior conteúdo de fenólico dos extratos resultou num aumento da capacidade antioxidante nos métodos DPPH^{*} e ABTS^{**}. A análise por cromatografia líquida de alta eficiência mostrou o ácido 4,5 dicafeoilquínico como o componente majoritário da fração fenólica do pó do mate seguido pelo ácido clorogênico. Os conteúdos de cafeína, teobromina e taninos do pó do mate foram de 1,01 g/100g, 0,10 g/100g e 0,29 g/100g respectivamente. De acordo com os resultados, este resíduo pode ser utilizado como ingrediente na formulação de alimentos funcionais adicionando valor aos resíduos gerados durante o processamento da erva-mate. O consumo do pó do mate poderia contribuir significativamente para a ingestão de compostos antioxidantes e estimulantes, fornecendo grandes quantidades de ácidos fenólicos, taninos e metilxantinas com efeitos biológicos potencialmente benéficos para a saúde humana.

Palavras-Chave: *Ilex paraguariensis*; resíduos; ácidos fenólicos, metilxantinas; tanino.

1 Introdução

A *Ilex paraguariensis* (erva-mate) é utilizada na preparação de vários tipos de bebidas na América do Sul como o "chimarrão", "Terere" e chás (SOUZA; LORENZI, 2005). Essa espécie cresce naturalmente e tem sido cultivada no sul do Brasil, Argentina e Paraguai (FILIP et al., 2001). Sua popularidade vem aumentando nos Estados Unidos, Canadá e Europa (BIXBY et al., 2005).

A erva-mate apresenta propriedades estimulantes do sistema nervoso central atribuído ao seu teor de metilxantinas, alcalóides como a cafeína (SALDAÑA; ZETZL, 2002) e é também conhecida por conter compostos com propriedades antioxidantes, tais como ácidos fenólicos e taninos (BRAVO et al., 2007; SILVA et al., 2008). Outros efeitos da erva-mate têm sido relatados para explicar seu uso popular como hepatoprotetor, colerético, diurético, hipocolesterolêmico, antireumático, anti-trombótico, antiinflamatório, anti-obesidade (RAMIREZ-MARES et al., 2004; HECK e MEJIA, 2007; GUGLIUCCI e BASTOS, 2009).

Durante a etapa de trituração da erva-mate os talos com maior granulometria não são adicionados ao produto final, de forma que estes talos e algumas folhas são novamente triturados, adequando-os para a introdução no produto comercial. Neste segundo estágio de trituração, são gerados resíduos de baixa granulometria, denominados pó de mate, os quais não são adicionados ao produto final e, eventualmente, descartados. Não existem informações na literatura científica sobre a caracterização deste resíduo e/ou sua aplicação como ingrediente.

Portanto, considerando os conhecidos benefícios da erva-mate para a saúde humana, presume-se que uma detalhada caracterização química do pó de mate é uma questão importante para efeitos da sua utilização.

Em estudo anterior realizado por Vieira et al. (2008), identificaram que o pó de mate contém altos níveis de polifenóis totais. Sendo assim, este resíduo parece ser um ingrediente interessante devido à presença desses compostos com poder antioxidante.

Portanto, o pó da erva-mate emerge como uma alternativa para acrescentar valor aos resíduos da indústria alimentar, que normalmente são desprezados. Assim, os objetivos desta pesquisa foram: avaliar a composição dos fenólicos, metilxantinas e taninos dos resíduos gerados na industrialização da erva-mate, comparar quali/quantitativamente a composição fenólica dos extratos obtidos a partir de diferentes solventes e avaliar o potencial antioxidante desses extratos.

2. Material e Métodos

2.1 Resíduo do processamento da erva-mate (pó de mate)

Os resíduos da etapa de trituração da erva-mate (pó de mate), foram fornecidos de três indústrias de erva-mate do município de Catanduvas, Santa Catarina.

O pó de mate foi misturado e peneirado em tamiz de 60 mesh (*British Standard Screen*). As amostras foram embaladas o vácuo em sacos de polietileno de alta densidade e armazenadas em freezer a -18 ± 2 °C até momento das análises.

2.2 Extração da amostra

Para análise de compostos fenólicos e atividade antioxidante os extratos foram preparados a partir da mistura de 2 g de pó de mate com os solventes: solução de metanol e água destilada 80% (v/v), água destilada (85°C \pm 1°C), solução de etanol e água destilada 80% (v/v), etanol acidificado (HCL 1,5 N) e água destilada

acidificada (HCL 1,5 N). Todos os extratos foram sonicados por 15 minutos, filtrados e transferidos para frascos âmbar, sob atmosfera de nitrogênio, e mantidos em freezer (-18 °C ± 2 °C) até a realização das análises.

2.3 Determinação do teor de (poli)fenóis totais (TPC) do pó de mate

O conteúdo de (poli)fenóis totais dos extratos de pó de mate foi determinado de acordo com o método de Folin-Ciocalteu modificado (SINGLETON; ROSSI, 1965).

2.4 Caracterização de compostos fenólicos do mate em pó

Uma fração rica em (poli)fenóis foi obtida através do fracionamento dos extratos de erva-mate, anteriormente obtidos, utilizando acetato etílico durante 12 horas (SCHULDT et al., 2005). A fase orgânica foi coletada e concentrada sob fluxo de nitrogênio. O resíduo final foi redissolvido em 500µL de metanol, centrifugado (5000 rpm/5min) e a composição de (poli)fenóis foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Alíquotas (10 µL/amostra) foram injetadas em cromatógrafo líquido (Shimadzu LC-10), equipado com coluna de fase reversa (Shim-pack C18, 4,6 mm x 250 mm, 5µm), termo-estabilizada a 40°C, detector UV-visível (Shimadzu SPD 10A, $\lambda = 280$ nm) e sistema processador de dados. Como fase móvel, uma solução de água:ácido acético: η -butanol (350:1:10, v/v/v), com fluxo de 0,8 mL/min, foi utilizada. Curvas de calibração para cada um dos padrões foram preparadas para análise quantitativa. Do mesmo modo, para a amostra a concentração final dos compostos foi determinada pelo teor médio após três injeções consecutivas.

2.5 Capacidade antioxidante do mate de pó

A capacidade de seqüestro de radicais livres do extrato metanólico e aquoso do pó de mate foram analisados pelos métodos: DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) e ABTS^{•+} (2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolona-6-ácido sulfônico)).

A reação do DPPH foi monitorada pela leitura em espectrofotômetro a 515 nm, durante 30 minutos, a intervalos de 5 minutos. A absorbância medida após 30 minutos foi utilizada para o cálculo de µM de DPPH[•] sequestrado pelos extratos. A atividade de seqüestro do radical foi avaliada através da redução na absorbância do DPPH comparado à solução controle. Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), foi utilizado como antioxidante padrão, e a atividade antioxidante dos extratos do pó de mate expressa em capacidade antioxidante equivalente em Trolox (TEAC) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

A análise de capacidade de seqüestro dos radicais livres cátion (ABTS^{•+}) foi realizada através da reação de 7 µM de ABTS com 2,45 µM de persulfato de potássio por 12/16 h, no escuro, à temperatura ambiente. A redução da absorbância do ABTS a 754 nm (absorbância inicial = 0,7 ± 0,02) na presença de um antioxidante foi monitorada por 7 min. Trolox (0-600 µM) foi utilizado como antioxidante padrão para a curva de calibração e os resultados foram expressos em equivalente de µM Trolox de atividade antioxidante/ g de matéria seca (RE et al., 1999).

2.6 Determinação de metilxantinas do pó de mate

Amostras de pó de mate (5 g) foram mantidas em ebulição, com 150 mL de solução de ácido sulfúrico 20% (v/v). Os extratos foram neutralizados com solução de hidróxido de amônio a 50% (v/v), filtrados e posteriormente extraídos (3x) com 10 mL de clorofórmio:isopropanol (3:1, v/v). A fração orgânica foi concentrada

dando origem ao extrato de metilxantinas. Os resíduos foram ressuspensos em metanol e submetidos à CLAE (REGINATTO et al., 1999).

Alíquotas (10 µL/amostra) foram injetadas em um cromatógrafo líquido (Shimadzu LC-10) equipado com coluna de fase reversa (Shim-pack C18, 4,6 mm x 250 mm, 5µm partícula), termo-estabilizada a 30°C, detector UV-visível (Shimadzu SPD 10A, $\lambda = 272$ nm) e sistema processador de dados. A fase móvel utilizada foi uma solução de acetonitrila:0,1% ácido fórmico (15:85 v/v) (ROBB et al., 2002) com fluxo de 1,0 mL/min. Antes da injeção, as amostras foram centrifugadas (5000 rpm/10 min). Curvas de calibração de cada um dos padrões (cafeína, teobromina e teofilina) foram preparadas para análise quantitativa.

2.7 Determinação de taninos do pó do mate

O teor de taninos foi determinado de acordo com o método descrito por Price et al., (1978), utilizando espectrofotômetro UV-VIS (Hitachi Modelo U-1800).

2.8 Análise estatística

Todas as análises foram conduzidas em triplicata e os dados expressos como médias \pm desvios padrões (DP). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), ao nível de 5 % de significância, seguido pelo teste de Tukey para comparação das médias.

3. Resultados e Discussão

3.1 Conteúdo de (poli)fenóis totais (TPC) de extratos do pó de mate

Os valores de TPC de diferentes extratos de pó de mate, expresso em equivalente de ácido gálico, por grama de amostra, estão apresentados na Tabela 1. Entre os extratos preparados com os diferentes solventes em estudo, o extrato com metanol 80% apresentou maior TPC, seguido pelo metanol acidificado, etanol acidificado, etanol 80%, água destilada e água destilada acidificada. Foi observado diferença significativa ($p \leq 0,05$) para os teores de polifenóis totais entre os extratos testados. Estes resultados sugerem a presença de menor concentração de compostos fenólicos solúveis em água, contrastando com os resultados do estudo realizado por Bastos et al. (2007), que relatou melhor solubilidade em água destes compostos analisados em produtos contendo principalmente folhas de *I. paraguariensis*. A justificativa para este resultado pode ser devido à diferença das biomassas, uma vez que a amostra utilizada neste estudo consiste principalmente de talos diferentemente do material estudado por Bastos et al. (2007).

Yao et al. (2004) encontraram maior teor de polifenol em extrato metanólico de chá verde, o que está de acordo com os resultados aqui observados. Este resultado pode estar relacionado com a possível inibição da polifenoloxidase pelo álcool metílico.

Tabela 1 Conteúdo de polifenóis totais de pó de mate^a através da utilização de diferentes solventes.

Solventes	Pó de mate (g/100g)
	Média ± DP
Etanol 80 %	2,8 ^d ± 0,18
Etanol acidificado	5,52 ^c ± 0,23
Metanol 80%	11,51 ^a ± 0,55
Metanol acidificado	6,59 ^b ± 0,36
Água destilada	1,23 ^e ± 0,14
Água acidificada	1,10 ^e ± 0,36

^a Resíduo do processamento da erva-mate. Os resultados estão apresentados como valores médios ± DP de determinações em triplicata e expressos como equivalentes de ácido clorogênico (g/100g amostra seca). Os valores médios na mesma coluna seguidos por letras diferentes são significativamente diferentes $p \leq 0,05$.

O extrato metanólico do pó de mate, que apresentou 11,51 g GAE/100g, foi superior no conteúdo desses metabólitos secundários em comparação com amostras de erva-mate comercial (6,21 - 10,71 g GAE/100g - ANESINI et al., 2006), extratos de mate (8,10 - 9,77 g GAE/100g - BRAVO et al., 2007), chá preto (0,1 - 9,9 g GAE/100g - TURCOMENISTÃO et al., 2006), chá verde (6,5 - 10,6 g GAE/100g - KHOKHAR e MAGNUSTOTTIR, 2002) e mate torrado (0,03-6,71 g GAE/100g - BASTOS et al., 2007). Por outro lado, o resultado foi semelhante aos valores encontrados para chá mate (2,6 - 12/04 g GAE/100g - TURCOMENISTÃO et al., 2006) e inferior ao chá preto (17,0 g GAE/100g - YAO et al., 2006) e chá verde (0,07 - 13,08 g GAE/100g - BASTOS et al. 2007). Estudos têm sugerido o papel dos compostos fenólicos como a principal fonte de antioxidantes naturais em alimentos de origem vegetal (CABRERA et al., SLAVIN et al., 2009).

Para os experimentos sobre as propriedades dos compostos fenólicos, dois solventes, foram selecionados, metanol 80 % e água a fim de analisar a composição fenólica e a atividade antioxidante do pó de erva- mate. A solução de metanol 80% foi utilizada por ter mostrado a melhor solubilidade de compostos fenólicos neste estudo e a água, porque grande parte dos produtos de erva-mate utilizam a água como principal ingrediente.

3.2. Caracterização de compostos fenólicos de pó de mate

Os resultados da análise por CLAE obtidos para os compostos fenólicos no pó de mate extraídos com dois diferentes solventes (água e metanol 80 %) revelaram um cromatograma com sete compostos identificados (Tabela 2) e, outros três compostos foram detectados, mas não foram identificados. O conteúdo de fenólico no extrato metanólico 80% foi maior do que no extrato aquoso. Dados estes que estão de acordo com os resultados obtidos para polifenóis totais. Os principal ácido fenólico detectado no pó da erva-mate foi o ácido 4,5-DCQ estando de acordo com resultados anteriores encontrados por Clifford e Ramirez-Martinez (1990), Filip et al. (2001) em produtos a base de folhas de erva-mate. Algumas das propriedades farmacológicas atribuídas ao mate têm sido relacionadas com o elevado teor de

cafeoil derivados, tais como ácidos clorogênicos, 4,5 DCQ e outros fenólicos da *Ilex paraguariensis* (MAZZAFERA, 1994; FILIP et al., 2001; GUGLIUCCI; BASTOS, 2009)

Quatro compostos identificados (ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cafeico e 4,5 DCQ) já foram descritos anteriormente em *Ilex paraguariensis* (BASTOS et al., 2006; BRAVO et al., 2007; STREIT et al., 2007) e outros compostos identificados (ácido siríngico, ácido ferúlico e ácido *p*-cumárico), são relatadas pela primeira vez nesta espécie. Segundo Naczck e Shahidi (2006) o ácido ferúlico e o ácido *p*-cumárico são ácidos fenólicos encontrados na parede celular, o que justifica a presença destes compostos no pó de mate, biomassa essa caracterizada por uma grande quantidade de talos de erva-mate. Ácido siríngico, ácido *p*-cumárico e ácido ferúlico são comumente encontrados em resíduos agroindustriais (bagaço de cana, beterraba, cascas de árvores) associada com a lignina através de ligações éter e com hemiceluloses por ligações de éster (XING; WHITE, 1997; XU et al., 2005; AL AMI et al., 2007). Bravo et al. (2007) encontraram pequenas quantidades de ácido quínico esterificado com ácidos ferúlico e *p*-cumárico, compostos possivelmente decorrentes de talos de erva-mate, pois os autores avaliaram a erva-mate comercial constituída por folhas e menor percentagem de talos.

Tabela 2 Composição fenólica de extrato metanólico e aquoso de pó de mate^a (mg/100g – base peso seco).

Compostos	TR ^b (min)	Metanol 80 %	Água destilada
		Média ± DP	Média ± DP
Acid gálico	5,5	49,63 ^a ± 0,42	13,16 ^b ± 0,92
Acid clorogênico	8,6	1180,25 ^a ± 18,12	380,45 ^b ± 0,14
Ácido <i>p</i> -cumárico	11,1	0,261 ^a ± 0,01	0,241 ^b ± 0,01
Ácido siríngico	12,0	1,30 ^a ± 0,07	0,021 ^b ± 0,006
Acido caféico (3,4 dihidroxicinâmico)	12,6	6,35 ^a ± 0,73	1,59 ^b ± 0,03
Ácido ferúlico	22,6	4,40 ^a ± 0,09	0,09 ^b ± 0,01
ácido 4,5 dicafeoilquínico	39,8	2705,31 ^a ± 21,36	440,37 ^b ± 5,3

^a Resíduo do processamento da de erva-mate. ^b Tempo de retenção. Os resultados estão apresentados como valores médios ± DP de três repetições. Os valores médios na mesma linha seguida por letras diferentes são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

3.3. Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos de pó de mate está apresentada na Tabela 3. As propriedades antioxidantes foram avaliadas através da medida da atividade de sequestro do radical DPPH e do cátion radical ABTS por extratos metanólicos e aquosos. Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante significativa contra os radicais ABTS^{•+} e DPPH[•].

No teste DPPH, o radical estável colorido é reduzido na presença de um antioxidante ou um doador de hidrogênio e a redução na cor é monitorada através

KEY ELEMENTS FOR A SUSTAINABLE WORLD: ENERGY, WATER AND CLIMATE CHANGE

do tempo (RAGAE et al., 2006). A atividade antioxidante total foi diferente ($p \leq 0,05$) entre os extratos metanólicos e aquosos determinados pelo método DPPH, sendo que o extrato metanólico foi o melhor extrator de compostos antioxidantes (Tabela 3).

Tabela 3 Capacidade antioxidante de extratos metanólicos e aquoso de pó de mate^a (produto seco).

Capacidade antioxidante	Extratos de pó de mate ^a	
	TEAC ^b ($\mu\text{M/g}$)	
	Metanol 80 %	Água destilada
Capacidade de sequestro do radical DPPH em 30 min	319,52 ^a \pm 1,00	300,28 ^b \pm 0,90
Capacidade de sequestro do cation radical ABTS em 7 min	272,37 ^a \pm 1,78	240,33 ^b \pm 0,83

^a Resíduo do processamento da erva-mate. ^b TEAC: Capacidade antioxidante equivalente em Trolox. Valores médios \pm DP de determinações em triplicata. Os valores médios, na mesma linha, seguidos por letras diferentes são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

O ABTS^{•+} possui uma cor verde azulado relativamente estável, a qual é medida de 600 a 700 nm. Na presença de um antioxidante (Trolox) ou antioxidantes potenciais em extratos materiais, a produção de cor é suprimida até certa extensão proporcional a concentração de antioxidantes (RAGAE et al., 2006). A atividade de sequestro do ABTS^{•+} de extratos metanólico e aquoso foi significativamente diferente ($p \leq 0,05$), sendo que o extrato metanólico obteve a maior capacidade para sequestrar o radical ABTS^{•+} (Tabela 3).

Ao comparar os resultados do TPC e atividade antioxidante dos extratos metanólicos e aquoso é possível observar que o maior conteúdo fenólico dos extratos resultou em um aumento da capacidade antioxidante. Estes resultados estão de acordo com outros autores (BIXBY et al., 2005; BRAVO et al., VIEIRA et al., 2008) que sugerem que os compostos polifenólicos são os que mais contribuem para a capacidade antioxidante da erva-mate. Porém a capacidade antioxidante não depende apenas da presença de compostos fenólicos, mas também do tipo destes (BASTOS et al., 2007).

3.4. Metilxantinas do pó de mate

Teofilina não foi encontrada na amostra, enquanto cafeína e teobromina foram detectadas estando de acordo com estudos anteriores em erva-mate (REGINATTO et al., 1999; SALDAÑA et al., 2002). As quantidades de metilxantinas determinadas para pó de mate foram de 1,01% m.s. para cafeína e 0,10% m.s. para teobromina. Estes níveis estão dentro do intervalo de concentração encontrados em folhas de *Ilex paraguariensis* (MAZZAFERA, 1994). Além disso, o conteúdo total de metilxantinas (1,11% m.s.) é semelhante aos encontrados em estudos anteriores para folhas de *I. paraguariensis* (1,10-1,85% m.s.) (BALTASSAT et al., 1985). Neste estudo, o teor de cafeína do pó de mate foi superior ao detectado por Jackes et al. (2007) em chá de folhas de mate e inferior ao encontrado por Monteiro e Trugo (2005) em amostras de café. Cabrera, Giménez e López (2003) analisaram o conteúdo de cafeína em 45 amostras, incluindo chá fermentado e não fermentado de diversas áreas geográficas; os valores de cafeína variaram de 0,75 a 8,60%.

As metilxantinas têm mostrado atividades biológicas interessantes como, por exemplo, o estímulo do sistema nervoso central e efeito diurético (BASTOS et al., 2006).

3.5. Taninos do pó de mate

Taninos são compostos fenólicos, que normalmente estão vinculados a macromoléculas, com uma conhecida atividade antioxidante (SOARES, 2002). Eles também são reconhecidos como fatores anti-nutricionais, porque formam complexos com proteínas, reduzindo a digestibilidade das mesmas (SANTOS; MELLO, 1999).

O conteúdo de tanino (expresso em equivalente de catequina) do pó de mate (0,29 g/100g) foi inferior aos encontrados em amostras de erva-mate (0,51 - 0,57 g/100g) determinada pelo Donaduzzi et al. (2003).

4. Conclusão

O pó de mate, um resíduo importante, ainda não valorizado, mostrou ser uma interessante fonte de metilxantinas, taninos e compostos fenólicos, com uma proeminente atividade antioxidante. O consumo de pó de mate contribui significativamente para a ingestão de antioxidantes, fornecendo grandes quantidades de ácido 4,5 DCQ, ácido clorogênico, ácido gálico e tanino, com efeitos biológicos potencialmente benéficos para a saúde humana. Portanto, resíduos do processamento da erva-mate poderiam ser utilizados como complemento na dieta humana e como ingrediente com propriedades funcionais. Futuros estudos são necessários para avaliar com precisão a presença e a biodisponibilidade desses compostos.

5 Referências Bibliográficas

- AL AMI, S., ZILLI, M., Converti, A., 2007 Solubilization of lignin components of food concern from sugasse by alkaline hydrolysis. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 5, 271-277.
- ANESINI, C., FERRARO, G., FILIP, R., 2006. Peroxidase-like activity of *Ilex paraguariensis*. *Food Chem.* 97, 459-464.
- BALTASSAT, F.; DARBOUR, N.; FERRY, S., 1985. Studies on the purine content of caffeine drugs. *Plant Med. Phytother.* 19, 2, 195-203.
- BASTOS, D. H. M., SALDANHA, L. A., CATHARINO, R. R., SAWAYA, A. C. H. F., CUNHA, I. B. S., CARVALHO, P. O., EBERLIN, M. N., 2007. Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules* 12, 423-432.
- BASTOS, D. H. M., FORNARI, A. C., QUEIROZ, Y. S., TORRES, E. A. F. S., 2006. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) leaves. *Brazilian Archives of Biology and Technology.* 49, 399-404.
- BIXBY, M., SPIELER, L., MENINI, T., GUGLIUCCI, A., 2005. *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: A comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. *Life Sciences.* 77, 345-358, 2005.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E., BERSET, C., 1995 Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss Technol.* 22, 25-30.

BRAVO; L., GOYA, L., LECUMBERRI, E., 2007. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Res. Int.* 40, 393-405.

CABRERA, C., GIMÉNEZ, R., LÓPEZ, M. C., 2003. Determination of tea components with antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4427-4435.

CLIFFORD, M.N., RAMIREZ-MARTINEZ, J.R., 1990. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. *Food Chemistry* 35, 13-21.

DONADUZZI, C. M., JUNIOR, E. L. C., DONADUZZI, E. M., SILVA, M. M.; STURION, J. A., CORREA, G., 2003. Variação nos teores de polifenóis totais e taninos em dezesseis progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) cultivadas em três municípios do Paraná. *Arquivo Ciência Saúde Unipar* 2.

FILIP, R., LOPEZ, P., GIBERTI, G., COUSSIO, J., FERRARO, G., 2001. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterap.* 72, 774-778.

GORZALCZANY, S., FILIP, R., ALONSO, M. R., MINÖ, J., FERRARO, G. E., 2001. Acevedo, C. Choloretic effect and intestinal propulsion of 'mate' (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. *Journal of Ethnopharmacology.* 75, 291-294.

GUGLIUCCI, A., DEBORA, H. M. B. Chlorogenic acid protects paraoxonase 1 activity in high density lipoprotein from inactivation caused by physiological concentrations of hypochlorite. *Fitoterapia.* Doi: [10.1016/j.fitote.2009.01.001](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.01.001)

HECK, C. I., MEJIA, E. G., 2007. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations. *Journal of food science*, 72, 138-151.

JACQUES, R. A., KRAUSE, L. C., FREITAS, L. S., DARIVA, C., OLIVEIRA, J. V., CARAMÃO, E. B., 2007. Influence of drying methods and agronomic variable on the chemical composition of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) obtained from highpressure CO2 extraction. *J. Agric. Food Chem.* 55, 10081- 10085.

KHOKHAR, S., MAGNUSDOTTIR, S. G. M., 2002. Total phenol, catequin, and caffeine contents of teas commonly consumed in United Kingdom. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 50, 565-570.

MAZZAFERA, P., 1994. Caffeine, theobromine and theophylline distribution in *Ilex paraguariensis*. *Rev. Bras. Fis. Veg.* 6, 149- 151.

MEJIA, E. G., SONG, Y. S., RAMIREZ-MARES, M. V., KOBAYASHI, H., 2005. Effect of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) Tea on Topoisomerase Inhibition and Oral Carcinoma Cell Proliferation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 1966-1973.

MONTERO, M. C., TRUGO, L. C., 2005. Determinação de compostos bioativos comerciais de café torrado. *Quim. Nova*, 28, 637- 641.

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

PRICE, M. L., SCOYOC, S. V., BUTLER, L. G., 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.* 26, 1214-1218.

RAGAE, S., ABDEL-AAL, E-S.M., NOAMAN, M., 2006. Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry*. 98, 32–38.

RAMIREZ-MARES, M. V., CHANDRA, S., MEJIA, E. G., 2004. In vitro chemopreventive activity of *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis* and *Ardisia compressa* tea extracts and selected polyphenols. *Mutation Research*. 554, 53–65, 2004.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C., 1999. Antioxidant activity applying improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 26, 1231-1237.

REGINATTO, F. H., ATHAYDE, M. L., GOSMANN, G., SCHENKEL, E. P., 1999. Methylxanthines accumulation in *Ilex speciosa* caffeine and theobromine in erva-mate (*Ilex paraguariensis*) and other *Ilex* species. *J. Braz. Chem. Soc.*, 10, 443–446.

ROBB, C. S., GELDART, S. E., SEELENBINDER, J. A., BROWN, P. R., 2002. Analysis of green tea constituents by HPLC-FTIR. *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol*, 25, 787–801.

SALDAÑA, M. D. A., ZETZL, C., MOHAMED, R. S., BRUNNER, G., 2002. Extraction of methylxanthines from guaraná seeds, mate leaves, and cocoa beans using supercritical dioxide and ethanol. *J. Agric. Food Chem.*, 4820–4826.

SANTOS, S. DA C., MELLO, J. C. P. de Taninos In: Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P., Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. (Org). 1999. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre: Editora da Universidade; Florianópolis: EdUFSC, 323-354.

SCHINELLA, A. G., FANTINELLIB, J. C., MOSCA, S. M., 2004. Cardioprotective effects of *Ilex paraguariensis* extract: evidence for a nitric oxide-dependent mechanism. *Clinical Nutr.*, 24, 360–366.

SCHULDT, E. Z., BET, Â. C., HORT, M. A., IANSEN, C., MARASCHIN, M, CKLESS, K., RIBEIRO-DO-VALLE, R. M., 2005. Na ethyl acetate fraction obtained from a Southern Brazilian red wine relaxes rat mesenteric arterial bed through hyperpolarization and NO-cGMP pathway. *Vascular pharmacology*, 43, 62-68.

SILVA, E. L. DA, NEIVA, T. J. C., SHIRAI, M., TERAQ, J., ABDALLA, D. S. P., 2008. Acute ingestion of yerba mate infusion (*Ilex paraguariensis*) inhibits plasma and lipoprotein oxidation. *Food Research International*, 41,973–979.

SINGLETON, V. L. ROSSI, J. A., 1965. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *AM. J. Enol. Viticul.*, 16, 144-58.

SLAVIN, M., CHENG, Z., LUTHER, M., KENWORTHY, W., YU, L., 2009. Antioxidant properties and phenolic, isoflavone, tocopherol and carotenoid composition of

Maryland-grown soybean lines with altered fatty acid profiles. *Food Chemistry*, 114, 20–27.

SOARES, S. E., 2002. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição, Campinas*, 15, 71-81.

SOUZA, V. C., LORENZI, H., 2005. *Botânica sistemática: guia ilustrado, baseado em APG II*, Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.

STREIT, N. M., HECKTHEUER, L. H. R., CANTO, M. W., MALLMANN, C. A., STRECK, L., PARODI, T. V., CANTERLE, L. P., 2007. Relation among taste-related compounds (phenolics and caffeine) and sensory profile of erva-mate (*Ilex paraguariensis*). *Food Chemistry*. 102, 560–564.

TURKMEN, N., SÁRI, F., VELIOGLU, Y. S., 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of Black and Black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, 99, 835-841.

VIEIRA, M. A., ROVARIS, A. A., MARASCHIN, M., SIMAS, K. N., PAGLIOSA, C. M., PODESTÁ, R., AMBONI, R. D. M. C., BARRETO, P. L. M., AMANTE, E. R., 2008. Chemical Characterization of Candy Made of Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) Residue. *J. Agric. Food Chem.* 56, 4637–4642.

XING, Y., WHITE, P. J., 1997. Identification and Function of Antioxidants from Oat Groats and Hulls. *JAACS*, 74, 3, 303-307.

XU, F., SUN, R., SUN, J., LIU, C., HE, B., FAN, J., 2005. Determination of cell wall ferulic and *p*-coumaric acids in sugarcane bagasse. *Analytica Chimica Acta*. 552 207–217.

YAO, L. H., JIANG, Y.M., CAFFIN, N., D'ARCY, B., DATTA, N., LUI, X., Singanusong, R., Xu, Y., 2006. Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets. *Food Chemistry*. 96, 614-620.

YAO, L., JIANG, Y., DATTA, N., SINGANUSONG, R., LIU, X., DUAN, J., 2004. HPLC analyses of flavonols and phenolic acids in the fresh young shoots of tea (*Camelia sinensis*) grown in Australia. *Food Chemistry*. 84, 253-263.