

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

RODOLFO ANGELO SERAFIM

**QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DA  
AÇÃO ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS AQUOSOS DE ERVA-MATE  
(*ILEX PARAGUARIENSIS*)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA, 2013

RODOLFO ANGELO SERAFIM

**QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DA  
AÇÃO ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS AQUOSOS DE ERVA-MATE  
(*ILEX PARAGUARIENSIS*)**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2 do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, *campus* Londrina, como requisito para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientador Dr<sup>a</sup> Isabel Craveiro Moreira

LONDRINA, 2013

## TERMO DE APROVAÇÃO

QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS AQUOSOS DE ERVA-MATE (*ILEX PARAGUARIENSIS*).

RODOLFO ANGELO SERAFIM

Este(a) Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado(a) em preencher o dia de preencher o mês de preencher o ano como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. O(a) candidato(a) foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Dr.<sup>a</sup> Isabel Craveiro Moreira  
Prof.<sup>a</sup> Orientadora

---

Dr.<sup>a</sup> Caroline Maria Calliari  
Membro titular

---

Dr.<sup>a</sup> Margarida Masami Yamaguchi  
Membro titular

Dedico este trabalho a todos aqueles que  
eu posso, verdadeiramente, chamar de  
“amigo”.

## RESUMO

SERAFIM, Rodolfo A. Quantificação de compostos fenólicos e avaliação da ação antioxidante de extratos aquosos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*). 2013. 31 f. Projeto do Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2013.

Erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma árvore da família das Aquifoliaceae amplamente consumida no sul do Brasil na forma de chá ou de chimarrão, quando preparada com água quente, ou tereré, quando preparada com água fria ou gelada. Suas propriedades terapêuticas são reconhecidas e novas descobertas científicas surgem a respeito das variações de seus componentes e os efeitos disso na produção, beneficiamento e consumo da erva-mate. Este trabalho teve como objetivo quantificar os componentes fenólicos e a atividade antioxidante pela captura de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazina) de ervas-mates. As amostras foram classificadas como sendo plantas macho e fêmea, provindas de dois ambientes com luminosidades diferentes (sol e sombra). As ervas-mates machos não apresentaram uma diferença significativa na concentração de compostos fenólicos. As plantas fêmeas demonstraram uma diferença significativa na concentração de compostos fenólicos, em que a planta cultivada em sol apresentou maior concentração que a planta cultivada em sombra. A atividade antioxidante mostrou-se maior nas ervas-mates machos do que nas fêmeas. No entanto, as plantas cultivadas em sombra apresentaram maior poder de captura de radical DPPH. São necessários mais estudos que tratem do dimorfismo sexual da erva-mate e sua relação com a composição da mesma.

Palavras-chave: DPPH. Estímulos externos. Plantas cultivadas em sol ou sombra. Plantas macho ou fêmea.

## ABSTRACT

SERAFIM, Rodolfo A. Quantification of phenolic compounds and antioxidant activity evaluation of aqueous extracts of yerba mate (*Ilex paraguariensis*). 2013. 31f. Projeto do Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos). Federal Technology University of Paraná. Londrina, 2013.

Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) is a tree of the family Aquifoliaceae broadly consumed in south Brazil as tea or *chimarrão*, when prepared with hot water, or *tereré* when prepared with cold water. Their therapeutic properties are acknowledged and new scientific discoveries arise regarding the variance of its components and the effects of it in the production, processing and consumption of Yerba mate. This study aimed to quantify of phenolic compounds and the antioxidant activity through the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) capture of Yerba mate. The samples were classified as male and female plants came from two environments with different luminosities (sun and shadow). The female Yerba mates presented a significant difference in the concentration of phenolic compounds, the sun plant had a higher concentration than the shadow plant. The male plants not have presented a significant difference in the concentration of phenolic compounds. The antioxidant activity showed higher in the male yerba mate than in the female ones. However, the shadow plants presented higher capture power of DPPH radicals. In conclusion, there is a need of more studies about sexual dimorphism of Yerba mate and its relation with the plant's composition.

Keywords: DPPH. External stimuli. Sun and shadow plants. Male and female plants.

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Curva padrão de ácido gálico. ....	18
Gráfico 2 - Curva da atividade antioxidante do extrato aquoso de erva-mate fêmea cultivada em sol utilizando o método de sequestro de radicais DPPH. ....	22
Gráfico 3 - Curva da atividade antioxidante do extrato aquoso de erva-mate fêmea cultivada em sombra utilizando o método de sequestro de radicais DPPH. ....	23
Gráfico 4 - Curva da atividade antioxidante do extrato aquoso de erva-mate macho cultivada em sol utilizando o método de sequestro de radicais DPPH. ....	24
Gráfico 5 - Curva da atividade antioxidante do extrato aquoso de erva-mate macho cultivada em sombra utilizando o método de sequestro de radicais DPPH. ....	25
Gráfico 6 - Curva da atividade antioxidante da solução de ácido ascórbico utilizando o método de sequestro de radicais DPPH. ....	28

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diluição das soluções estoque dos extratos aquosos de erva-mate em tubos para as respectivas concentrações. ....	19
Tabela 2 - Concentração de sólidos solúveis nas amostras de erva-mate. ....	20
Tabela 3 - Quantificação de compostos fenólicos totais dos extratos de erva-mate. ....	20
Tabela 4 - Concentração de compostos fenólicos totais com relação a massa de erva-mate. ....	21
Tabela 5 - Absorbância e % de inibição de DPPH em razão da concentração do extrato de erva-mate fêmea cultivada em sol. ....	22
Tabela 6 - Absorbância e % de inibição de DPPH em razão da concentração do extrato de erva-mate fêmea cultivada em sombra. ....	23
Tabela 7 - Absorbância e % de inibição de DPPH em razão da concentração do extrato de erva-mate macho cultivada em sol. ....	24
Tabela 8 - Absorbância e % de inibição de DPPH em razão da concentração do extrato de erva-mate macho cultivada em sombra. ....	25
Tabela 9 - IC50 dos extratos aquosos de erva-mate. ....	26
Tabela 10 - IC50 das amostras de erva-mate em massa de folha seca para uma infusão de 100mL. ....	26
Tabela 11 - Absorbância e % de inibição de DPPH em razão da concentração da solução de Ácido Ascórbico. ....	28

## SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO .....	8
2.OBJETIVOS .....	9
2.1.OBJETIVO GERAL .....	9
2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	9
3.REFERENCIAL TEÓRICO .....	10
3.1.A ERVA-MATE.....	10
3.2.CULTIVO E CONSUMO .....	10
3.3.COMPOSIÇÃO E PRINCÍPIOS TERAPEUTICOS .....	11
3.4.ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	13
3.5.ESTÍMULOS EXTERNOS E A COMPOSIÇÃO DA ERVA-MATE .....	14
4.MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
4.1.MATERIAL EM ESTUDO.....	16
4.2.MÉTODOS DE ANALISE.....	16
4.2.1.Extração aquosa .....	16
4.2.2.Sólidos solúveis.....	17
4.2.3.Fenóis Totais.....	17
4.2.4.Ação antioxidante.....	18
5.RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	20
5.1.SÓLIDOS SOLÚVEIS .....	20
5.2.FENÓIS TOTAIS .....	20
5.3.AÇÃO ANTIOXIDANTE.....	22
6.CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS .....	30



## 1.INTRODUÇÃO

Devido às condições históricas e culturais, a erva-mate é o tipo de erva mais consumido no sul do Brasil e no sul da América Latina na forma de infusão.

São conhecidas como características fitoterápicas comuns dos chás o efeito diurético, anti-inflamatório, estimulante, digestivo, como também a presença de vitaminas e sais minerais, indispensáveis para a manutenção de um organismo saudável. Pode-se destacar como propriedade funcional a atividade antioxidante resultante dos diferentes compostos encontrados em infusões, além da sensação de saciedade que a infusão das folhas de erva-mate proporciona, podendo auxiliar na perda de peso.

Dentre os componentes da erva-mate, os compostos fenólicos compreendem até 11% e a estes podem ser atribuídos a atividade antioxidante. São maioria e comumente encontrados o ácido clorogênico e seus derivados e os derivados cafeoilquínicos como os fenóis mais característicos da erva-mate.

A composição da erva-mate pode variar em função de fatores como a diferença morfológica das plantas, o sexo, a idade, a região e a forma de plantio. Com isso seus metabolitos e os efeitos que eles causam no organismo também se alteram. Por isso, cada vez mais pesquisadores vem tentando compreender como esses fatores interferem na composição da erva-mate e caracterizá-los e informar as vantagens quanto ao consumo desta bebida.

Tendo em vista as possibilidades de pesquisas que o tema propõe, além do crescente interesse que os antioxidantes veem despertando nos últimos tempos quando aliados aos alimentos, o desenvolvimento deste estudo buscando a comparação de plantas de sexo diferentes e de distintas formas de plantio contribui e auxilia com informações relativas a essas propriedades funcionais.

## 2.OBJETIVOS

### 2.1.OBJETIVO GERAL

Quantificar os compostos fenólicos e a atividade antioxidante de folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A.), em plantas macho e fêmea, cultivadas em locais de sombra e sol.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a extração aquosa dos compostos presentes na erva-mate e quantificar sólidos solúveis.
- Utilizar métodos quimiométricos associados a dados espectroscópicos para quantificar os compostos fenólicos presentes na erva-mate, plantas macho e fêmea, plantas sol e sombra.
- Realizar a análise de capacidade antioxidante dos extratos de erva-mate através da captura do radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazina).

### 3.REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1.A ERVA-MATE

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hillaire) é uma árvore perene, de seis a oito metros de altura, da família das *Aquifoliaceae*, nativa da América do Sul. Sua área de ocorrência natural compreende as áreas do Noroeste Argentino, Leste do Paraguai e Sul do Brasil (SANTOS, 2004).

No Brasil, a ocorrência da erva-mate está limitada aos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, aparecendo também, mas de forma reduzida, no Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Rio de Janeiro (DARTORA, 2010).

A erva-mate foi classificada por Saint Hillaire como *Ilex paraguariensis* no início do séc. XVII sendo nativa do Paraguai e dos estados do sul do Brasil e já era conhecida pelos índios guaranis. Foi reconhecida como um valioso complemento alimentar pelos jesuítas por volta do séc. XVI (LIMA, 2010).

#### 3.2.CULTIVO E CONSUMO

A erva-mate é amplamente consumida como sucedâneo do chá (*Camellia sinensis*), na forma de chimarrão e tereré. Preparado como chá, é infusão obtida pela escalda das folhas secas e consumidas de diferentes maneiras, com ou sem adição de outras ervas, ou aromatizantes. Chimarrão é a infusão obtida pela escalda das folhas em cuia e ingerida por aspiração com cânula metálica (bomba, bombilha) provida de uma peneira que evita a passagem de partículas sólidas. O tereré ou tererê é infusão tal como o chimarrão, tomada em recipiente de chifre (guampas), mas preparada com água fria ou gelada (LIMA, 2010).

O cultivo e colheita do mate podem ser realizados de diversas formas, sendo diferente em cada região. As três maneiras principais para o cultivo e colheita são a exploração extrativista da floresta natural, sistema misto e monoculturas. No

Paraguai e no Brasil os sistemas mistos e a exploração extrativista são os mais utilizados, enquanto que os monocultivos, sistemas mais modernos, são a principal forma de produção na Argentina. O cultivo de erva mate na monocultura aumentou nos últimos quinze anos, especialmente as plantações densas, que sempre visam um lucro maior (RAKOCEVIC et al., 2008; DARTORA, 2010).

Dentre a tríade dos países produtores de erva-mate, o Brasil figura como o maior produtor, e a Argentina como a maior exportadora. O Paraguai produz basicamente para o autoconsumo, exportando menos que seus vizinhos.

Segundo dados do IBGE, em 2010 foram produzidos no Brasil cerca de 430 mil toneladas de erva-mate (folha verde). O maior produtor foi o Rio Grande do Sul que produziu 10.025 toneladas, seguido de São Paulo, com 5309 toneladas, e Minas Gerais, 4.968 toneladas. O estado do Paraná produziu 1.342 toneladas no ano de 2010 (IBGE, 2011).

### 3.3.COMPOSIÇÃO E PRINCÍPIOS TERAPEUTICOS

A infusão de erva-mate é uma bebida estimulante; elimina a fadiga, estimula a atividade física e mental, atuando benéficamente sobre os nervos e músculos e favorecendo o trabalho intelectual. Possui vitaminas do complexo B, que atuam nos músculos, nervos e atividade cerebral, e vitaminas C e E, que agem como defesa antioxidante e apresentam benefícios sobre os tecidos do organismo (DARTORA, 2010).

A presença de sais minerais, principalmente potássio, estimula o trabalho cardíaco, sendo interessante para pessoas hipertensas, ajudando na circulação do sangue e diminuindo a pressão arterial. Juntamente com a cafeína, atua como vasodilatador e estimulante. O magnésio, segundo em importância de concentração, exerce funções no organismo através da ativação de enzimas (cofator) ou por ser parte integrante do sistema enzimático. As maiores concentrações de sais minerais na infusão de erva-mate são potássio, magnésio, enxofre, cálcio e fósforo (HEINRICHS e MALAVOLTA, 2001).

São encontrados na erva-mate flavonoides e taninos, responsáveis pelo sabor adstringente, outros alcaloides, além da cafeína, como a teobromina e a teofilina, e todas as xantinas. Aminoácidos também estão presentes, como os ácidos aspártico e glutâmico, lipídios como os ácidos palmítico, oleico e linoleico, saponinas, enzimas, material nitrogenado, carotenoides, celulose, lignina e ácidos orgânicos (LIMA, 2010).

### 3.4.ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os chás tem atraído muita atenção nos últimos anos devido a sua capacidade antioxidante e sua abundância na dieta de milhares de pessoas em todo o mundo (MORAIS et al., 2009).

Os radicais livres, ou espécies redoxi-ativas são átomos ou moléculas que possuem um ou mais elétrons não pareados na região mais externa, geralmente formados pela perda ou ganho de elétrons. Em meio biológico, a maioria das moléculas não se apresentam em forma de radicais, permanecendo com elétrons pareados. Mas em alguns casos, as espécies redoxi-ativas são formadas, podendo reagir com biomoléculas tais como proteínas, carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos, e isto pode ter efeitos fisiológicos e patológicos sobre o organismo (SILVA, 2007).

Em reações normais, a formação de espécies redoxi-ativas, ou radicais livres, é mantida sob controle pelo próprio organismo, através de um sistema de defesa antioxidante. Este sistema é formado, em primeira estância, por enzimas antioxidantes, quelantes, proteínas e substâncias não enzimáticas, e em segunda estância por compostos fenólicos ou aminas aromáticas, como tocoferóis, flavonoides, principalmente flavonas e flavonóis (SILVA, 2007).

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo ser enzimáticos, como notadamente a SOD (enzima superóxidodismutase), CAT (enzimas catalase) e GPx (glutathione peroxidase), ou não enzimático, tais como  $\alpha$ -tocoferol (principal componente da vitamina E),  $\beta$ -caroteno, ascorbato (vitamina C), polifenóis e GHS (tripeptídeo composto de glutamato, cisteína e glicina (SILVA, 2007).

Dentro da ingestão diária de antioxidantes, se destacam os compostos fenólicos, produto do metabolismo secundário das plantas e presentes naturalmente na maioria destas. Esta propriedade redoxi-ativa está associada à presença de agrupamentos hidroxilas nestes compostos. A eles são atribuídas diversas propriedades biológicas tais como anti-inflamatórias, antibióticas, antitrombóticas, antimicrobianas, antialérgicas, antitumorais, antiasmáticas e antioxidantes (TRUEBA e SANCHEZ, 2001; MORAIS et al., 2009).

Dentro do grupo dos compostos fenólicos, os flavonoides se dividem em 13 subclasses com um total de mais de 5.000 compostos, sendo que todos apresentam em comum um esqueleto de hidrocarboneto do tipo C6-C3-C6 (difetilpropano) que se deriva do ácido chiquímico e de 3 restos de acetatos. É capaz de reduzir a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e do ácido linoleico, inibe a peroxidação de fosfolipídios da membrana celular, peroxidação lipídica microssomal e mitocondrial, peroxidação de eritrócitos e fotoxidação e peroxidação de cloroplastos. Possui potencial para proteção dos tecidos contra radicais livres, sugerindo seu emprego como estratégia na redução do risco de doenças cardiovasculares e risco de câncer (TRUEBA e SANCHEZ, 2001; MORAIS et al., 2009).

Do grupo dos compostos fenólicos, os ácidos fenólicos são um grupo de substâncias que se caracterizam por terem um anel benzênico, um agrupamento carboxílico e um ou mais agrupamentos de hidroxila e/ou metoxila. Estas características conferem a estes compostos propriedades antioxidantes tanto para alimentos quanto para o organismo, sendo indicados para o tratamento e prevenção do câncer e doenças cardiovasculares entre outras (SOARES, 2002).

Diversos autores relatam que a maior parte da atividade antioxidante da erva-mate é devido aos compostos polifenólicos presentes nesta, sendo que o potencial da atividade antioxidante não depende somente da quantidade, mas também do tipo destes compostos (HEINRICHS e MALAVOLTA, 2001; VIEIRA et al., 2009; MORAIS et al., 2009, RAKOCEVIC, 2010).

No que se refere aos polifenóis já identificados e de teores mais elevados podem ser citados: ácidos clorogênicos, ácido cafeico; ácido 3,4-dicafeoilquínico; ácido 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-dicafeoilquínico (DARTORA, 2010).

### 3.5. ESTÍMULOS EXTERNOS E A COMPOSIÇÃO DA ERVA-MATE

Estudos têm mostrado que estímulos decorrentes do ambiente, no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a síntese de diferentes compostos, modificando as características qualitativas e quantitativas. Dentre estes fatores, se destacam as interações planta/microrganismos,

planta/insetos e planta/planta; idade e estágio de desenvolvimento, fatores abióticos, como luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época e horário de coleta, bem como técnicas de colheita e pós-colheita. Estes fatores podem apresentar correlações entre si, não atuando isoladamente, podendo exercer influência conjunta no metabolismo secundário (MORAIS, 2009; DARTORA, 2010).

Rakocevic et al. (2008) demonstrou que todos os tipos de sombreamento (sombreamento florestal e auto-sombreamento, dentro da copa das plantas cultivadas em monocultura) resultou em sabor amargo característico das folhas de erva-mate processada comparadas com as folhas originadas sob a exposição direta ao sol. Geralmente, as folhas de plantas cultivadas em monocultura mostraram menos amargor do que as cultivadas na floresta.

O gosto está relacionado à fotossíntese, taxa de transpiração e temperatura foliar. Nas condições de sombra, a modificação do sabor está diretamente relacionada com o amargor, o que poderia ser explicado pela diminuição da temperatura da folha na escala diurna (RAKOCEVIC et al., 2008).

A erva-mate ainda apresenta dimorfismo sexual fisiológico relacionado com a produção de folhas, ou seja, a fotossíntese da folha é maior em fêmeas do que em machos, ocorrendo nos estádios vegetativos que antecedem à floração e à maturação dos frutos. Dimorfismo sexual é mesmo expresso, ao nível da folha, em sua composição química (RAKOCEVIC e MARTIM, 2010)

A análise prévia da qualidade da erva-mate, a partir do experimento conduzido exclusivamente com plantas de monocultura, mostrou que folhas provenientes de plantas do sexo masculino são menos amargas do que as das plantas fêmeas, enquanto esse dimorfismo sexual sensorial não é expresso em folhas provenientes de plantas cultivadas em manejo florestal (RAKOCEVIC et al., 2008).

Modificações de crescimento na erva-mate ocasionadas pelo ambiente eram muito mais facilmente observadas quando as plantas foram cultivadas em sistema de cultivo menos parecido com o habitat natural da erva-mate (monocultura) se comparado àquelas cultivadas em florestas de araucárias, mais parecidas com seu habitat natural. O exemplo disso, o dimorfismo sexual, em expressões morfogenéticas, está relacionado com o sistema de cultivo, sendo que os machos são mais sensíveis às mudanças ambientais do que as fêmeas, especialmente em monocultura (RAKOCEVIC e MARTIM, 2010).



## 4.MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1.MATERIAL EM ESTUDO

O material de estudo foi composto por amostras de *Ilex paraguariensis* St. Hil., fornecidas pelo Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) de Ponta Grossa-PR. O material vegetal foi separado em quatro amostras com diferenças morfológicas sexuais e luminosidade, sendo identificadas como:

- Planta macho cultivada em sol (MSOL);
- Planta macho cultivada em sombra (MSOM);
- Planta fêmea cultivada em sol (FSOL);
- Planta fêmea cultivada em sombra (FSOM).

As plantas denominadas como cultivadas em sol possuem uma maior incidência de radiação solar direta, o que caracteriza plantas cultivadas em monoculturas, e as plantas denominadas como cultivadas em sombra são aquelas com menor incidência de radiação solar direta, o que as caracteriza como plantas de sistema florestal ou mista.

### 4.2.MÉTODOS DE ANALISE

#### 4.2.1.Extração aquosa

A extração aquosa foi realizada em triplicata utilizando-se 5,00g do material vegetal de folhas secas e moídas e 100 mL de água destilada a 90°C. As amostras foram acondicionadas em Erlenmeyers onde se verteu a água sobre elas e agitou-se rapidamente. Aguardou-se um tempo de descanso de 10 minutos e durante esse tempo o Erlenmeyer foi coberto com um vidro de relógio para evitar uma perda muito grande de compostos voláteis. Em seguida os extratos foram filtrados em papel filtro

e resfriados. Após, foram transferidos para um balão volumétrico de 100 mL e o volume foi completado com água destilada.

Por último, os extratos foram acondicionados em frascos de vidro de cor âmbar, identificados e armazenados sob refrigeração por uma semana, quando as análises foram iniciadas.

#### 4.2.2.Sólidos solúveis

Para determinação de sólidos solúveis (AOAC, 1997) tomou-se 25mL de cada triplicata do extrato de cada amostra de erva-mate e transferiu-se para placas de Petri previamente taradas e colocadas em estufa a 105°C até que estas atingissem peso constante.

#### 4.2.3.Fenois Totais

O conteúdo de compostos fenólicos no extrato aquoso foi realizado baseado no método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (ANDRADE et al., 2007). O reagente de Folin-Ciocalteu, de coloração amarelo, forma um complexo de coloração azul na presença de agentes redutores, no caso os compostos fenólicos.

Alíquotas de extrato aquoso foram diluídas com água destilada para o preparo de soluções com concentrações de 10 a 100 µg/mL. A cada 0,5 mL de amostra foram adicionados 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu 2 N e 1,0 mL de água. Após um período de 2 a 5 minutos, foi acrescentado aos tubos de ensaio 0,5 mL de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a 10%. Após 1 hora de incubação à temperatura ambiente, a absorbância foi mensurada em um espectrofotômetro a um comprimento de onda de 760 nm, usando água destilada como branco. Foi utilizado Ácido gálico (10 a 80 µg/mL), dissolvido em água destilada, para elaboração da

curva padrão (Gráfico 1) e os valores de fenólicos totais são expressos como equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico/g de amostra).

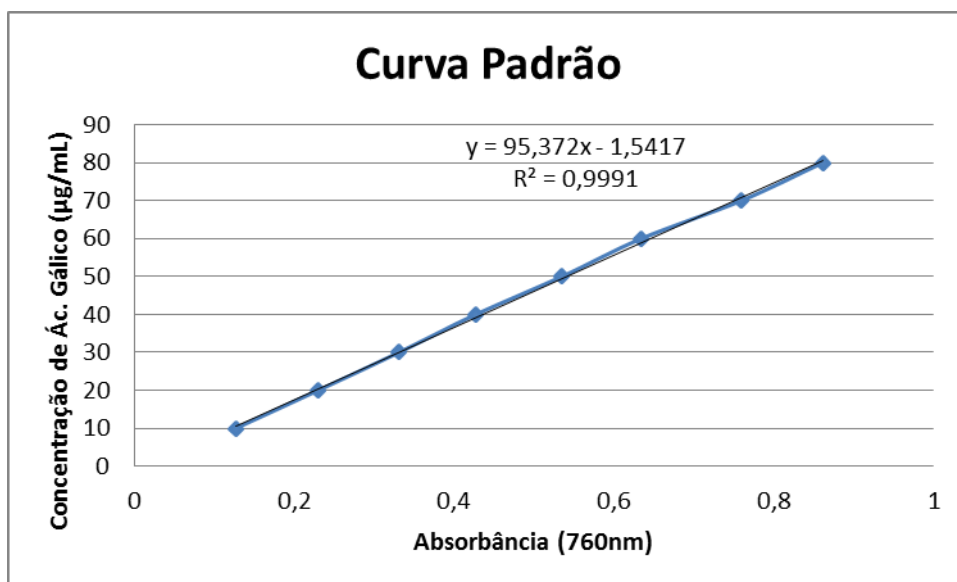


Gráfico 1 - Curva padrão de ácido gálico.

#### 4.2.4. Ação antioxidante

A ação antioxidante do extrato aquoso da erva-mate foi analisada através da capacidade dos antioxidantes presentes na amostra de capturarem o radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazina), conforme as metodologias descritas na literatura (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; MOLYNEUX., 2004; DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). O DPPH possui forte coloração arroxeadada, ao se reduzir, passa a ter uma coloração para amarelo, sendo esta mudança de cor monitorada pelo espectrofotômetro UV-VIS ( 515 a 517 nm). A variação da cor permite estimar o desaparecimento do radical livre DPPH em solução devido á formação de compostos mais estáveis.

Para a avaliação da atividade captadora do radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazina), os extratos aquosos foram diluídas com água destilada para se obter soluções estoque de cada amostra com concentração de 150 µg/mL. Para

realização do teste, as soluções estoques foram diluídas em concentrações de 1 a 35 µg/mL diretamente em tubos de ensaio segundo o esquema da tabela abaixo:

**Tabela 1 - Diluição das soluções estoque dos extratos aquosos de erva-mate em tubos para as respectivas concentrações.**

Tubo	Concentração	Solução Estoque	Etanol
1	1,0 µg/ml	20 µL	2980 µL
2	2,5 µg/ml	50 µL	2950 µL
3	5,0 µg/ml	100 µL	2900 µL
4	7,5 µg/ml	150 µL	2850 µL
5	10,0 µg/ml	200 µL	2800 µL
6	15,0 µg/ml	300 µL	2700 µL
7	20,0 µg/ml	400 µL	2600 µL
8	25,0 µg/ml	500 µL	2500 µL
9	30,0 µg/ml	600 µL	2400 µL
10	35,0 µg/ml	700 µL	2300 µL

Em cada tubo foram acrescentados 0,1 mL de solução etanólica do radical livre DPPH 1 mM. Após 30 minutos de incubação à temperatura ambiente, ao abrigo da luz, a redução do radical livre DPPH foi mensurada pela leitura da absorbância em 515 nm. Como controle, foi utilizado 0,1 mL de solução etanólica de DPPH 1 mM e 3 mL de etanol. A atividade antioxidante foi medida através da capacidade de extratos de descolorarem soluções diluídas do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazina - DPPH- conforme literatura.

## 5.RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1.SÓLIDOS SOLÚVEIS

Os resultados obtidos na análise dos sólidos solúveis dos extratos de erva-mate são apresentados na Tabela 1 a baixo:

**Tabela 2 - Concentração de sólidos solúveis nas amostras de erva-mate.**

Amostra de erva-mate	Sólidos solúveis (mg/mL de extrato)	Sólidos solúveis (g/100g erva-mate)
FSOL	10,57±0,146	21,14±0,293
FSOM	09,92±0,190	19,84±0,381
MSOL	10,65±0,431	21,30±0,863
MSOM	10,60±0,221	21,20±0,442

Com base nos dados da tabela acima pode-se observar que não houve diferença entre as plantas machos, porém as plantas fêmeas apresentaram uma pequena variação de valores. Os valores encontrados estão de acordo com os encontrados por Da Groce (2002) que obteve extratos aquosos de erva-mate com concentrações entre 25,21 a 41,16g para cada 100g de erva-mate.

### 5.2.FENÓIS TOTAIS

Os resultados para quantificação do conteúdo de compostos fenólicos totais dos extratos aquosos de erva-mate, usando a curva padrão do ácido gálico (Gráfico 1), são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 3 - Quantificação de compostos fenólicos totais dos extratos de erva-mate.**

Amostra de erva-mate	Concentração mg de Ác.Gálico/ g de extrato
FSOL	191,173±8,508
FSOM	191,205±6,054
MSOL	183,257±5,036
MSOM	184,339±8,639

Através do cálculo dos sólidos solúveis presente nos extratos, foi possível quantificar os compostos fenólicos com relação a massa de erva-mate:

**Tabela 4 - Concentração de compostos fenólicos totais com relação a massa de erva-mate. Médias seguidas por mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5%.**

Amostra de erva-mate	Concentração mg de Ác.Gálico/ g de erva-mate	% em massa de erva-mate
FSOL	40,41±1,799 <sup>aA</sup>	4,04±0,18
FSOM	37,93±1,201 <sup>bB</sup>	3,79±0,12
MSOL	40,73±1,073 <sup>aA</sup>	4,07±0,11
MSOM	39,08±1,832 <sup>aB</sup>	4,05±0,18

Observou-se uma diferença significativa na concentração de compostos fenólicos entre as ervas-mates fêmeas, em que a planta de sol obteve maior concentração de compostos fenólicos que a planta de sombra. Fato este que não ocorreu com as ervas-mates machos quando comparamos as diferentes luminosidades.

Entre as ervas-mates cultivadas em sol, as plantas macho e fêmea não apresentaram diferença. O mesmo ocorreu com as plantas cultivadas em sombra.

Os resultados estão de coerentes com os encontrados por diversos autores que relatam estudos onde as plantas com maior exposição a radiação solar, apresentam uma maior concentração de compostos (DARTORA, 2010; HECK, SCHMALKO e DEMEJIA, 2008; RACHWAL et al., 2000). Em contato direto ao sol, elas são expostas a uma maior concentração de radiação UV. A luz absorvida produz energia, ao invés de outras ondas eletromagnéticas mais energéticas, podendo gerar radicais livres e induzir a danos celulares. Para se proteger, a planta produz compostos antioxidantes, de modo que as plantas expostas diretamente ao sol contêm um maior nível de ácidos clorogênicos, que são compostos fenólicos encontrados amplamente na *Ilex paraguariensis* (HECK, SCHMALKO e DEMEJIA, 2008)

Segundo Meyer et al. (2006), em geral, as folhas provenientes do monocultivo (sol) apresentaram níveis mais elevados de quase todos os polifenóis. Vários compostos fenólicos são produzidos pelas plantas como uma resposta aos estímulos do ambiente, em geral, protegendo-as de fatores ambientais, como estresse, pragas e sol. Plantações expostas ao sol produzem níveis mais elevados

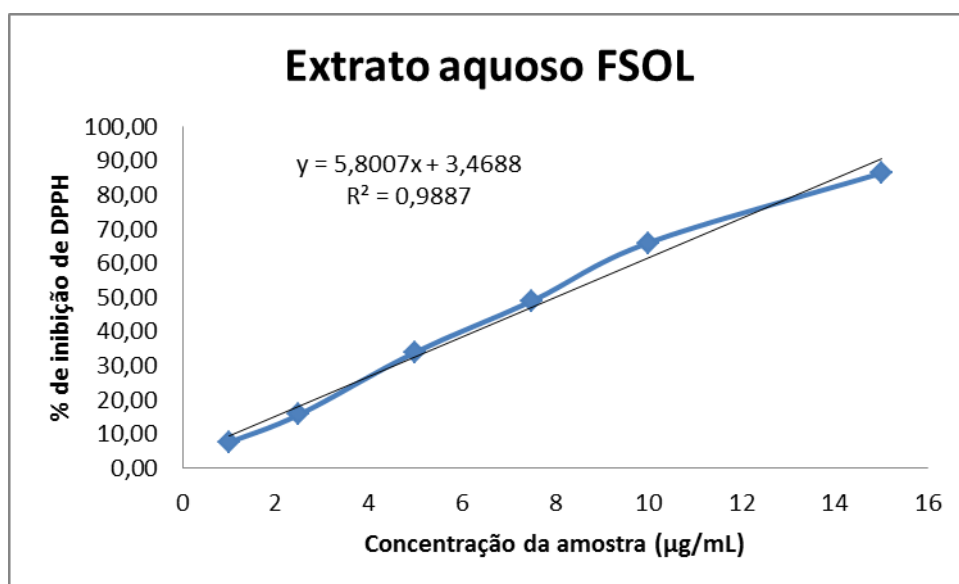
destes compostos, em comparação com as cultivadas em ambiente sombreado de floresta.

### 5.3.AÇÃO ANTIOXIDANTE

Foram realizadas leituras em triplicata dos extratos em triplicata de cada amostra, obtida a média de todas as leituras. Abaixo, os resultados obtidos:

**Tabela 5 - Absorbância e % de inibição de DPPH em razão da concentração do extrato de erva-mate fêmea cultivada em sol.**

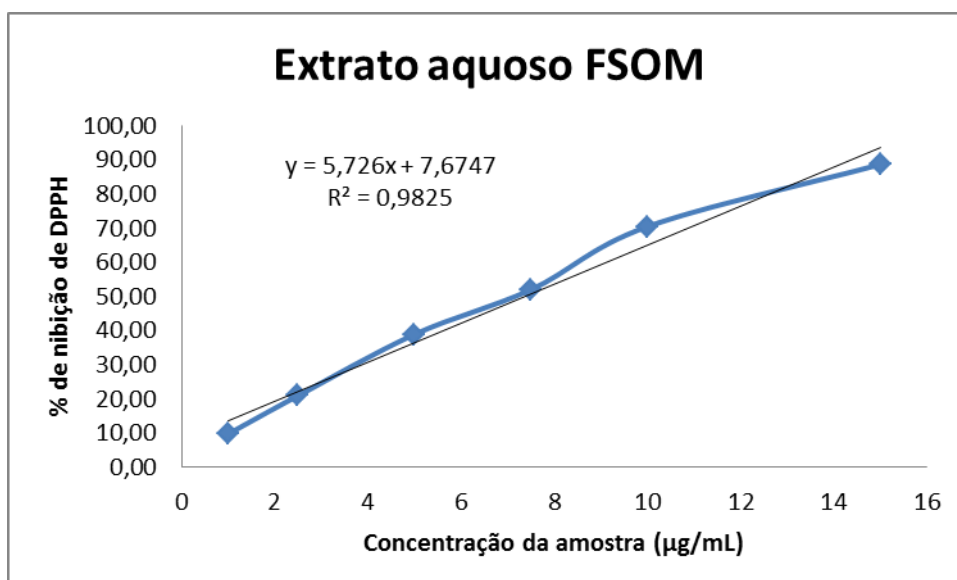
Concentração da amostra ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbância (515nm)	% de inibição de DPPH
1	0,347 $\pm$ 0,0002	07,12 $\pm$ 0,73
2,5	0,327 $\pm$ 0,0277	15,68 $\pm$ 7,12
5	0,256 $\pm$ 0,0290	33,99 $\pm$ 7,46
7,5	0,198 $\pm$ 0,0193	48,96 $\pm$ 4,97
10	0,132 $\pm$ 0,0011	66,01 $\pm$ 0,29
15	0,053 $\pm$ 0,0025	86,45 $\pm$ 0,66



**Gráfico 2 - Curva da atividade antioxidante do extrato aquoso de erva-mate fêmea cultivada em sol utilizando o método de sequestro de radicais DPPH.**

**Tabela 6 - Absorbância e % de inibição de DPPH em razão da concentração do extrato de erva-mate fêmea cultivada em sombra.**

Concentração da amostra ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbância (515nm)	% de inibição de DPPH
1	0,291 $\pm$ 0,0178	09,72 $\pm$ 5,53
2,5	0,255 $\pm$ 0,0208	20,95 $\pm$ 6,46
5	0,197 $\pm$ 0,0188	38,84 $\pm$ 5,83
7,5	0,155 $\pm$ 0,0159	52,01 $\pm$ 4,95
10	0,095 $\pm$ 0,0200	70,49 $\pm$ 6,22
15	0,036 $\pm$ 0,0030	88,71 $\pm$ 0,93

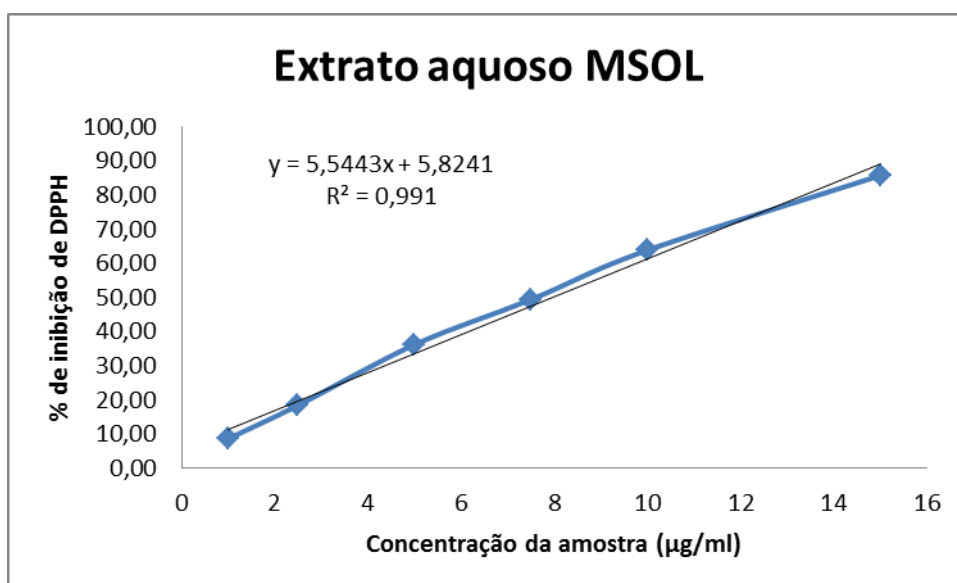


**Gráfico 3 - Curva da atividade antioxidante do extrato aquoso de erva-mate fêmea cultivada em sombra utilizando o método de sequestro de radicais DPPH.**



**Tabela 7 - Absorbância e % de inibição de DPPH em razão da concentração do extrato de erva-mate macho cultivada em sol.**

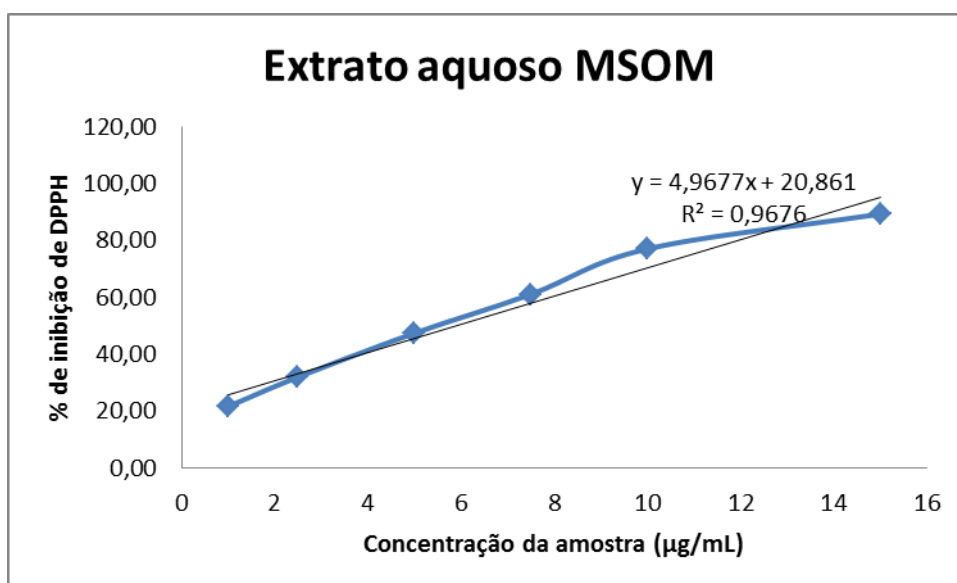
Concentração da amostra $\mu\text{g/mL}$	Absorbância (515nm)	% de inibição de DPPH
1	0,274 $\pm$ 0,0052	11,51 $\pm$ 1,68
2,5	0,240 $\pm$ 0,0138	22,61 $\pm$ 4,46
5	0,188 $\pm$ 0,0075	39,37 $\pm$ 2,42
7,5	0,147 $\pm$ 0,0081	52,66 $\pm$ 2,62
10	0,099 $\pm$ 0,0283	68,17 $\pm$ 9,12
15	0,044 $\pm$ 0,0107	85,77 $\pm$ 3,46



**Gráfico 4 - Curva da atividade antioxidante do extrato aquoso de erva-mate macho cultivada em sol utilizando o método de sequestro de radicais DPPH.**

**Tabela 8 - Absorbância e % de inibição de DPPH em razão da concentração do extrato de erva-mate macho cultivada em sombra.**

Concentração da amostra $\mu\text{g/mL}$	Absorbância (515nm)	% de inibição de DPPH
1	0,314 $\pm$ 0,0007	15,05 $\pm$ 0,19
2,5	0,251 $\pm$ 0,0008	32,04 $\pm$ 0,23
5	0,194 $\pm$ 0,0119	47,48 $\pm$ 3,22
7,5	0,144 $\pm$ 0,0107	61,14 $\pm$ 2,89
10	0,085 $\pm$ 0,0027	77,12 $\pm$ 0,74
15	0,039 $\pm$ 0,0021	89,37 $\pm$ 0,56



**Gráfico 5 - Curva da atividade antioxidante do extrato aquoso de erva-mate macho cultivada em sombra utilizando o método de sequestro de radicais DPPH.**

Os dados de IC50 indicam a quantidade de amostra necessária para reduzir 50% do DPPH. O IC50 dos extratos aquosos de erva-mate, que podem ser calculados através da equação da reta obtidos nos respectivos gráficos, apresentados na tabela a seguir:

**Tabela 9 - IC50 dos extratos aquosos de erva-mate.**

<b>Amostra de erva-mate</b>	<b>IC50</b> µg /mL de extrato
FSOL	8,02
FSOM	7,39
MSOL	7,59
MSOM	5,87

Com base nos concentrações de IC50 e através dos valores de sólidos solúveis presente nos extratos foi possível estimar a quantidade de massa de erva-mate necessária para o preparo de uma infusão de 100 mL que apresentasse a capacidade de inibição de 50% de radicais livres.

**Tabela 10 - IC50 das amostras de erva-mate em massa de folha seca para uma infusão de 100mL..**

<b>Amostra de erva-mate</b>	<b>IC50</b> mg de erva-mate
FSOL	3,794
FSOM	3,725
MSOL	3,563
MSOM	2,769

Quando comparados os resultados da atividade antioxidante, observou-se que a erva-mate macho possui maior atividade antioxidante que a erva-mate fêmea, sendo que entre as duas ervas-mates fêmeas, a luminosidade não trouxe uma diferença significativa na captura de radicais livres, fato contrario apresentado pelas ervas-mates macho. Quanto à condição de luminosidade, a erva-mate macho cultivada em sombra se mostrou com maior capacidade antioxidante que a erva-mate macho sol.

O resultado obtido esta de acordo ao apresentado por Saldanha (2005), demonstra que extratos aquosos de erva-mate seca apresentaram uma captação de DPPH acima de 90% em concentrações iguais a 50 µg de matéria seca/ mL. Visto que Miliauskas, Venskutonis e Van Beek (2004) já discutem que concentrações de extratos com 90% ou mais de captura de DPPH podem ser considerados concentrações com 100% de captura em função do método, pois o mesmo

apresenta uma absorção residual permanente que pode chegar a equivaler até 7% da absorção final total.

Hartwing et al. (2011) traz um estudo sobre as dificuldades de comparação entre os resultados obtidos em estudos da atividade antioxidante de erva-mate através do método de captura de radicais livres DPPH. Segundo ele, este método depende da concentração final do extrato, da concentração inicial da solução de DPPH, das alíquotas de extrato e solução de DPPH utilizados, da temperatura e do tempo de incubação.

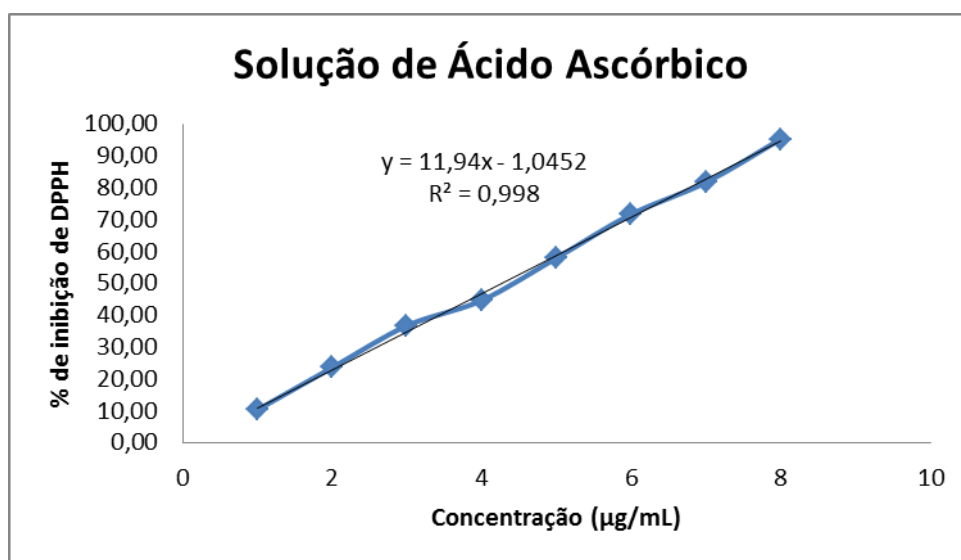
Saldanha (2005) observou que mesmo com o aumento da concentração de fenólicos totais, não há um aumento significativo na atividade antioxidante pelo método do DPPH. Mesmo resultado foi observado por Pajero et al. (2003), analisando a atividade antioxidante de plantas bolivianas também encontraram baixa relação entre o teor de fenólicos e a captação de radicais livres pelo método do DPPH. Isto mostra a existência de compostos fenólicos com distintos potenciais antioxidantes.

Identificar a grande parte dos componentes da planta através de abordagens comuns torna-se difícil devido à pequena quantidade de estudos na área (SIMÕES et al., 2002). A literatura não trouxe pesquisas que diferenciem a composição de fenóis totais e a atividade antioxidante de ervas-mates macho e fêmea. A erva-mate tem sido intensivamente estudada nos aspectos de produção, manejo e seleção genética, porém a fisiologia do dimorfismo sexual e intensidade luminosa necessitam ser aprofundadas (RAKOCEVIC et al., 2012). Sua diferenciação sexual pode ser expressa através de propriedades sensoriais, onde a bebida preparada com folhas provenientes de plantas de gênero masculino é menos amarga que a preparada com folhas de plantas femininas, (RAKOCEVIC et al., 2007) quando comparados em ambiente de monocultura (RAKOCEVIC et al., 2012).

Um teste de inibição de radicais livres DPPH foi realizado com ácido ascórbico (vitamina C) um poderoso e conhecido antioxidante natural para efeito de comparação com os extratos aquosos de erva-mate e os dados obtidos são apresentados na tabela e no gráfico abaixo:

**Tabela 11 - Absorbância e % de inibição de DPPH em razão da concentração da solução de Ácido Ascórbico.**

Concentração de Ác. Ascórbico $\mu\text{g/mL}$	Absorbância (515nm)	% de inibição de DPPH
1	0,305 $\pm$ 0,0085	10,29 $\pm$ 2,51
2	0,260 $\pm$ 0,0101	23,53 $\pm$ 2,98
3	0,215 $\pm$ 0,0199	36,67 $\pm$ 5,83
4	0,188 $\pm$ 0,0046	44,61 $\pm$ 1,40
5	0,143 $\pm$ 0,0053	57,94 $\pm$ 1,55
6	0,097 $\pm$ 0,0106	71,62 $\pm$ 3,11
7	0,063 $\pm$ 0,0021	81,62 $\pm$ 0,62
8	0,016 $\pm$ 0,0032	95,20 $\pm$ 0,92



**Gráfico 6 - Curva da atividade antioxidante da solução de ácido ascórbico utilizando o método de sequestro de radicais DPPH.**

Através da equação da reta obtida no Gráfico 6, pudemos calcular o IC50 da solução de ácido ascórbico como sendo igual a 4,10 $\mu\text{g/mL}$ , uma concentração mais baixa do que o extrato aquoso de erva-mate com maior potencial antioxidante, o MSOM, com IC50 igual a 5,87 $\mu\text{g/mL}$ .

Com relação aos outros extratos, o MSOL, o FSOL e o FSOM, o ácido ascórbico mostrou-se potencialmente 2 vezes mais com capacidade antioxidante, ou seja, seria necessário a metade da concentração dos extratos MSOL, FSOL ou FSOM em ácido ascórbico para inibir 50% dos radicais livres DPPH em uma solução.

Em comparação com a literatura o valor obtido para o ácido ascórbico demonstra que a metodologia usada foi adequada para esta análise (ARBOS et al., 2010).

## 6.CONCLUSÃO

A partir desse estudo foi possível verificar que as ervas-mates cultivadas em sol mostraram-se com maior concentração de compostos fenólicos que as cultivadas em sombra em planta fêmea, porém esta diferença não foi observada nas plantas macho.

Quanto à atividade antioxidante, as ervas-mates macho mostraram maior capacidade de capturar radicais livres do que as ervas-mates fêmeas, sendo que as plantas cultivadas em sombra se mostraram com maior capacidade antioxidante que as plantas de sol. Observou-se que a relação entre compostos fenólicos e atividade antioxidante não foram proporcionais, pois o as plantas cultivadas em sombra apresentaram maior eficiência na ação antioxidante, porém não demonstraram a maior concentração de fenólicos totais.

Mais estudos são necessários para melhor elucidar como dimorfismo sexual modifica a composição da planta, qualitativamente e quantitativamente. O estudo desse fator, aliado aos estudos sobre os modos e locais de cultivo, poderiam estabelecer condições de processo para manutenção dos compostos bioativos na erva-mate influenciando e repercutindo de forma favorável em toda a sua cadeia produtiva.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, C. A.; SILVA, V. C.; PEITZ, C.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G.; KERBER, V. A. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoidea do gênero *Acacia* - **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 17(2): 231-235, Abr./Jun. 2007.
- AOAC –Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists**. Cunniff, P (ed), Washington, 1997.
- ARBOS, Kettelin A., et al. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciênc. Tecnol. Alimentos**. n.2 vol.30 p.501-506. 2010.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. Technol.**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- DA GROCE, Dorli M. Características físico-químicas de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St Hill) no estado de Santa Catarina. **Revista Ciência Florestal**. n.2 v.12 p.107-113, Santa Maria. 2002.
- DARTORA, Nessana. **Avaliação dos polissacarídeos e metabolitos secundários das folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em diferentes estados fisiológicos e de processamento**. 2010. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Bioquímicas) – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- DUARTE-ALMEIDA J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v.26, n.2, p. 446-452, 2006.
- HARTWIG, V. G., et al. **Estandarización del ensayo del radical DPPH en extractos de yerba mate (*Ilex paraguariensis*)**. 5º Congresso Sudamericano de la yerba mate. Disponível em: [www.infoyerbamate.com/acta.pdf](http://www.infoyerbamate.com/acta.pdf). Acesso em: 20/05/2013.
- HECK, C. I.; SCHMALKO, M.; DEMEJIA, E. G. Effect of growing and drying conditions on the phenolic composition of mate teas (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8394-8403, 2008.

HEINRICHS, Reges; MALAVOLTA, Eurípedes. Composição mineral do produto comercial erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 31, n. 05, p. 781-785. 2001.

IBGE. **Produção agrícola municipal** – Culturas temporárias e permanentes. Brasil 2010. v.37. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010\\_Publicacao\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010_Publicacao_completa.pdf). 2011.

LIMA, Urgel de A. Bebidas estimulantes. In: VENTURI FILHO, Waldemar G. **Bebidas não alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Editora Blucher, 2010. p. 39-56.

MEYER, S.; et al. Relationships between optically assessed polyphenols and chlorophyll contents and leaf mass per area ratio in woody plants: A signature of the carbon-nitrogen balance within leaves. **Plant Cell & Environment**, v. 29, p. 1338-1348, 2006.

MILIAUSKAS, G., VENSKUTONIS, P. R., VAN BEEK, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**. n.85, p.231-237. 2004

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** n.26, v.2, p.211-219. 2004.

MORAIS, Lilia A. S. de. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**. v. 27, n. 02, ago. 2009.

MORAIS, Selene M. de et al. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Fortaleza, v.19, n. 1B, p. 315-320, jan./mar. 2009.

PAJERO, I. et al. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidation activity. **Life Sciences**. n.73, p. 1667-1681. 2003.

RACHWAL, M. F. G.; COELHO, G. C.; DEDECEK, R. A.; CURCIO, G. R.; SCHENKEL, E. P. Influencia da luminosidade sobre a produção de massa foliar e teores de macronutrientes, fenóis totais, cafeína e teobromina em folhas de erva-mate. Colombo: **EMBRAPA CNPFlorestas**. Com. Tec. 5 p. 2002.



RAKOCEVIC, Miroslava et al. Intensity of bitterness of processed yerba mate leaves originated in two contrasted light environments. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Curitiba, v. 51, n. 03, p. 569-579, maio-jun. 2008.

RAKOCEVIC, Miroslava; MARTIM, Simoni F. Time series in analysis of yerba-mate biennial growth modified by environment. **International Journal of Biometeorology**. v. 55, n. 02, p. 161-171, jun. 2010.

RAKOCEVIC, M.; JANSSENS, M.; SCHERER, R. Light responses and gender issues in the domestication process of yerba-mate, a subtropical evergreen. *In Evergreens*. Nova Science Publishers, Inc, Hauppauge, NY, p. 63-96, 2012.

ROSSA, Uberson B. **Produtividade e compostos foliares de erva-mate sob efeitos de luminosidade e fertilização**. Tese (Doutor em Engenharia Florestal) – Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, 2013.

SALDANHA, Luciane A. **Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) verde e tostada e chá verde (*Camellia sinensis*)**. Dissertação (Mestre em Nutrição) – Pós-Graduação em Saúde pública, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São paulo, 2005.

SANTOS, Kleber A. dos. **Estabilidade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) em embalagens plásticas**. 2004. 108 f. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, 2004.

SILVA, Francilene A. da. **Avaliação tecnológica e atividade antioxidante de produtos secos por *spray-drying* de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. – Aquifoliácea (erva-mate)**. 2007. 212 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 4 ed, Porto Alegre, Florianópolis: Ed. Universidade UFRGS, Ed. Da UFSC, 2002.

SORAES, Sergio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 15, n. 01, p. 71-81, jan/abr. 2002.

TRUEBA, Gilberto P.; SÁNCHEZ, Gregorio M. Los flavonoides como antioxidantes naturales. **Acta Farmacéutica Bonaerense**. v. 20, n. 04, p. 297-306, jul. 2001.

VIEIRA, M. A. et al. **Análise de compostos fenólicos, metilxantina, tanino e atividade antioxidante de resíduo de processamento da ervamate; uma nova fonte potencial de antioxidantes**. In: 2<sup>o</sup> International Workshop Advances in Cleaner Production, São Paulo, 2009. Disponível em: <http://www.advancesincleanerproduction.net/second/files/sessoes/5b/4/M.%20A.%20Vieira%20-%20Resumo%20Exp%20-%205B-4.pdf>. Acesso em: 20/04/2012.