

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS**

**ESTUDO DO PODER ANTIOXIDANTE EM INFUSÕES
DE ERVAS UTILIZADAS COMO CHÁS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Luciana de Abreu

Santa Maria, RS, Brasil

2013

ESTUDO DO PODER ANTIOXIDANTE EM INFUSÕES DE ERVAS UTILIZADAS COMO CHÁS

por

Luciana de Abreu

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Área de Concentração em Qualidade de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de

Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Auri Brackmann

Santa Maria, RS, Brasil

2013

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

de Abreu, Luciana
Estudo do Poder Antioxidante em Infusões de Ervas
Utilizadas como Chás / Luciana de Abreu.-2013.
87 p.; 30cm

Orientador: Auri Brackmann
Coorientadores: Luisa Helena, R. Kecktheur
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2013

1. antioxidante 2. Camellia sinensis 3. Radical livre
4. DPPH 5. chá I. Brackmann, Auri II. Luisa Helena,
III. , R. Kecktheur IV. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos
Alimentos**

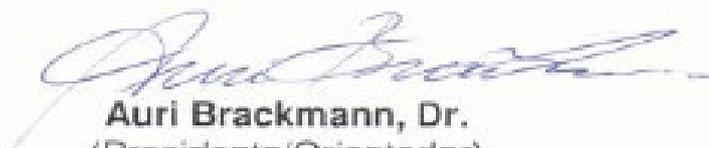
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**ESTUDO DO PODER ANTIOXIDANTE EM INFUSÕES DE ERVAS
UTILIZADAS COMO CHÁS**

elaborada por
Luciana de Abreu

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA:


Auri Brackmann, Dr.
(Presidente/Orientador)


Cláudia Kaehler Sautter, Dr^a (UFSM)


Fernanda Leal Leães, Dr^a (UERGS)

Santa Maria, 28 de março de 2013

Dedico este trabalho
ao meu marido Mastrângello
e minha filha Vitória,
por todo amor, dedicação e carinho!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar ao meu lado em todas as horas, principalmente nas horas mais difíceis, amigo fiel e que me garantiu esta vitória, renovando a cada dia as minhas forças.

Aos meus amores, Mastrângello Enivar Lanzasova, meu esposo, e Vitória, minha filha, que Deus nos abençoou com sua vinda em meio a esta caminhada, pela força, ajuda, incentivos irrestritos e incondicionais. Obrigada de coração pela compreensão nas horas de dedicação ao trabalho que muitas vezes a ausência ao lado de vocês foi necessária. Porém, quero que saibam que são as pessoas mais importantes da minha vida. Mastrângello, meu amor, obrigada por estar sempre ao meu lado em momentos felizes de muitas realizações, mas também nos momentos difíceis. Sem vocês, este trabalho não seria possível.

À toda minha família, minhas madrinhas Istel de Abreu Thomas, Noely Bender e a grande Tia e amigona Elizabete de Abreu Silveira (Tia Beti), minha prima e mana Cristiane de Abreu e em especial aos meus pais Vilarim e Alice Abreu que nos mostraram sempre que o conhecimento é imprescindível para uma ótima formação humana, social e educacional.

À minha comadre, irmã de coração, companheira, amiga de todas as horas, madrinha de casamento, Nadir Anschau, pela amizade, carinho, dedicação ilimitada nos cuidados com minha filha Vitória, com certeza este carinho, amor e dedicação é algo abençoado por Deus, obrigada por você existir em nossas vidas.

Ao meu mestre e orientador prof. Dr. Auri Brackmann, exemplo de profissional, docente, pesquisador e pessoa. Obrigada pelo conhecimento, amizade, motivação, confiança, compreensão, persistência e pelos muitos ensinamentos transmitidos desde o âmbito da pesquisa, até os horizontes mais amplos. O meu muito obrigada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da UFSM, pela oportunidade de seqüenciar minha formação acadêmica.

Aos colegas do Departamento de Fitotecnia e do Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita da UFSM, em especial a Elizandra Pavanello e Vanderlei Both, com certeza este trabalho não seria possível sem o esforço incansável de vocês dois, que sempre estiveram ao meu lado para me auxiliar não importando o dia, hora, necessidades particulares, enfim, este trabalho tem muito de vocês, obrigada.

À empresa Chá Prenda do Brasil Ind. Com. Ltda. pela cedência do material utilizado para o estudo, pela liberação parcial do tempo requisitado pelo curso e para o desenvolvimento do projeto de pesquisa, e pelo incentivo a pesquisa e geração de conhecimento, em uma área que ainda carece de dados científicos contundentes.

À empresa Vier Indústria e Comércio do Mate Ltda. pela cedência de material utilizado para o estudo.

Às minhas queridas e grandes amigas Luciana Patias e Tais Cristina Unfer, que me acolheram com muito amor e carinho em Santa Maria e também nesta nova caminhada, nossa amizade é um sentimento que o tempo nunca irá apagar, vocês serão sempre amigas “di catigoria”.

Às amigas e colegas Luiza Sawitzki Schossler, Marlene Lovatto e Marlene Gomes Pereira, obrigada pela amizade, companheirismo e apoio em todas as horas.

A todos e todas as pessoas e instituições que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

“Procure a sabedoria e aprenda a escrever capítulos mais importantes de sua história nos momentos mais difíceis de sua vida”

Augusto Cury

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

ESTUDO DO PODER ANTIOXIDANTE EM INFUSÕES DE ERVAS UTILIZADAS COMO CHÁS

Autor: Luciana de Abreu

Orientador: Auri Brackmann

Data e Local da Defesa: Santa Maria - RS, 28 de março de 2013

O chá é uma das bebidas mais antigas e consumidas do mundo, sendo referido como uma das melhores fontes de compostos fenólicos. Estas substâncias têm sido alvo de estudo especialmente por apresentarem atividade antioxidante. O conceito de chá refere-se ao produto de infusões de plantas do gênero *Camellia sp.*, sendo que as variações em suas denominações são relativas ao tipo de processo que estas plantas sofrem. Antioxidantes são substâncias usadas para conservar alimentos através do retardo da deterioração, rancidez e descoloração, decorrentes da auto-oxidação, ao mesmo tempo em que protegem os sistemas biológicos contra os efeitos danosos de reações das espécies reativas ao oxigênio. Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas. Um dos mais utilizados consiste em avaliar a atividade seqüestradora do radical livre estável DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil). Outras metodologias utilizadas para avaliar a capacidade antioxidante de um extrato são a determinação dos compostos fenólicos totais, o conteúdo de polifenóis totais, e a técnica de redução do ferro. O objetivo do presente trabalho foi determinar o teor de compostos bioativos, caracterizados pelo seu respectivo valor de atividade antioxidante, compostos fenólicos e flavonóides, em chás oriundos de 20 diferentes plantas, incluindo a *Camellia sinensis* (chá verde, chá preto, chá branco, chá amarelo e chá vermelho). O experimento foi realizado no Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita, localizado no departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, RS. As amostras foram extraídas através da infusão de sachês de papel filtro contendo

3 g da planta em 200 mL de água destilada e deionizada por 10 minutos de infusão, a 85°C. Após a extração as amostras foram acondicionadas em recipientes de vidro protegidos da ação da luz e armazenadas a temperatura de 0,5°C. A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método DPPH, e pela atividade quelante de íons Fe^{+2} . Como resultado, o chá branco apresentou a maior atividade antioxidante entre os chás avaliados, considerando o seqüestro de radical DPPH. Este chá apresentou também os maiores teores de flavonóides e polifenóis totais. O chá verde apresentou maior atividade antioxidante quando avaliada pela porcentagem de atividade quelante de íons ferroso. Entre os 20 tipos de chás avaliados, o chá de hibiscus praticamente não apresenta propriedades antioxidantes. Entre os chás oriundos da *Camellia sinensis*, o chá vermelho foi o que apresentou os menores valores de atividade antioxidante, independente do método ou avaliação realizada, porém não diferindo do chá preto, branco e amarelo na porcentagem de atividade quelante de íons ferroso. Considerando os resultados de EC50, chás de erva mate, carqueja e boldo apresentaram poder antioxidante intermediário em relação aos chás da planta *Camellia sinensis* e aos demais chás avaliados no presente trabalho.

Palavras-chave: Antioxidantes, *Camellia sinensis*, plantas medicinais, radicais livres.

ABSTRACT

Master of Science Dissertation
Graduate Program in Food Technology Science
Federal University of Santa Maria

STUDY OF ANTIOXIDANT POWER IN HERBAL INFUSIONS USED AS TEA

Author: Luciana de Abreu

Adviser: Auri Brackmann

Date and Local: Santa Maria - RS, March 28, 2013

Tea is one of the oldest and most consumed beverages in the world, being mentioned as one of the best sources of phenolic compounds. These substances have been studied especially because they have antioxidant activity. The term refers to tea product herbal infusions the genus *Camellia* sp. Being that variations in their designations are relative to the type of process that these plants suffer. Antioxidants are substances used to preserve food through the retardation of deterioration, rancidity and discoloration resulting from autoxidation, while biological systems that protect against the damaging effects of reactions of reactive oxygen species. Various methods are used to determine the antioxidant activity of extracts and compounds isolated. One of the most widely used is to evaluate the scavenging activity of the stable free radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl). Other methodologies used to evaluate the antioxidant capacity of an extract are the determination of total phenolic compounds, total polyphenol content, and iron reduction technique. In this context, the objective of this study was to determine the content of bioactive compounds, characterized by its value of antioxidant activity, flavonoids and phenolic compounds in different types of tea come from the *Camellia sinensis* plant, namely: green tea, black tea, white tea, yellow tea and red tea. The experiment was conducted in the post harvest fruit core research, located in the Department of Plant Science, Federal University of Santa Maria, RS. The samples were extracted by infusion sachets of filter paper containing 3 g of the plant in 200 ml

of distilled and deionized water by 10 minutes of infusion, at 85 °C. After extraction the samples were placed in glass containers protected from light and stored at a temperature of 0.5 °C. Determination of antioxidant activity by DPPH method was performed by evaluation of polyphenols and flavonoids (colorimetric method), and the chelating activity of Fe⁺². As a result, white tea showed the highest antioxidant activity among teas evaluated considering the kidnapping of DPPH. This tea also showed the highest levels of flavonoids and phenolic compounds. Green tea showed higher antioxidant activity as measured by the percentage of ferrous ion chelating activity. Among the 20 types of teas evaluated, hibiscus tea has lowest antioxidant properties. Among the teas originating from *Camellia sinensis*, the red tea showed the lowest values of antioxidant activity, regardless of the method or evaluation performed, but did not differ from black tea, white and yellow in the percentage of ferrous ion chelating activity. Considering the results of EC50, ilex tea, bilberry and gorse showed intermediate antioxidant power in relation to the *Camellia sinensis* teas and other teas evaluated in this work.

Key words: Antioxidants, *Camellia sinensis*, medicinal plants, free radicals

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Nome comum, nome científico e principais partes da planta utilizadas na produção de chás para consumo humano.....	17
TABELA 2 - Grupos de Diluição, plantas utilizadas como chás e concentração na solução necessária para proceder à determinação da curva de ação antioxidante.....	35
TABELA 3 - Diluição de extratos de plantas utilizadas como chás e concentração na solução necessária para proceder à determinação da curva de ação antioxidante.....	36
TABELA 4 - Equação da Reta, Coeficiente de Determinação e valor de EC50 para chás obtidos de diferentes plantas, partes de plantas e processos de fabricação.....	38

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Atividade Quelante de Íons Ferroso em 20 diferentes tipos de chás. *Barras seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).....	24
FIGURA 2 – Atividade quelante de íons ferroso, em porcentagem, em 14 diferentes tipos de chá. *Barras seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).....	25
FIGURA 3 – Atividade quelante de íons ferroso em diferentes processos de produção de chá a partir da planta <i>Camellia sinensis</i> . *Barras seguida de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).....	26
FIGURA 4 – Conteúdo de Flavonóides Totais, pelo método da catequina, em 15 tipos diferentes de chás. *Barras seguida de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).....	28
FIGURA 5 – Conteúdo de Flavonóides Totais em cinco tipos de chá oriundos da planta <i>Camellia sinensis</i> . *Barras seguida de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).....	30
FIGURA 6 – Conteúdo de Polifenóis Totais em 9 diferentes tipos de chás. *Barras seguida de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).....	32
FIGURA 7 – Conteúdo de Polifenóis Totais em 12 diferentes tipos de chá. *Barras seguida de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).....	33
FIGURA 8 – Curva padrão de porcentagem de seqüestro do radical DPPH pelo ácido ascórbico. Regressão Não Linear.....	37

FIGURA 9 – Atividade Antioxidante dada pela % de Seqüestro do Radical DPPH, nos extratos de chás de maçã, camomila, erva doce, marcela e carqueja. *Resultados apresentados como média e desvio padrão.....	39
FIGURA 10 – Atividade Antioxidante dada pela % de Seqüestro do Radical DPPH, nos extratos de chá mate, boldo e melissa. *Resultados apresentados como média e desvio padrão.....	40
FIGURA 11 – Atividade Antioxidante dada pela % de Seqüestro do Radical DPPH, nos extratos de cidreira e de endro. *Resultados apresentados como média e desvio padrão.....	42
Figura 12 - Atividade Antioxidante dada pela % de Seqüestro do Radical DPPH, nos extratos de chá amarelo, chá preto, chá branco, chá vermelho e chá verde. *Resultados apresentados como média e desvio padrão.....	43
Figura 13 - Relação entre o conteúdo de Flavonóides Totais e Polifenóis Totais, obtido de dados médios de chás oriundos da planta <i>Camellia sinensis</i>	45
Figura 14 - Relação entre o conteúdo de Flavonóides Totais e Atividade Quelante de Íons Ferroso, obtido de dados médios de chás oriundos da planta <i>Camellia sinensis</i>	46
Figura 15 - Relação entre o conteúdo de Polifenóis Totais e Atividade Quelante de Íons Ferroso, obtido de dados médios de chás oriundos da planta <i>Camellia sinensis</i>	47
Figura 16 - Relação entre o conteúdo de Flavonóides Totais e Polifenóis Totais, obtido de dados médios de 13 diferentes tipos de chás.....	48
Figura 17 - Relação entre a porcentagem de Atividade Quelante de Íons Ferroso e a porcentagem de Seqüestro de Radical DPPH, obtido de dados médios dos chás oriundos da planta <i>Camellia sinensis</i>	49

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Apêndice A. Detalhe de folhas e talos da planta <i>Camellia sinensis</i> na fase vegetativa.....	65
APÊNDICE B – Resumo das etapas de produção de diferentes tipos de chás oriundos da planta <i>Camellia sinensis</i> . Fonte: Hilal & Engelhardt, (2007).....	65
APÊNDICE C – Detalhe das folhas da planta erva mate (a) e da planta hortelã (b).....	66
APÊNDICE D - Detalhe das folhas da planta carqueja (a) e da planta marcela (b).....	67
APÊNDICE E - Detalhe das folhas da planta boldo (a) e da planta hibiscus (b).....	68
APÊNDICE F - Detalhe das folhas da planta endro (a) e da planta funcho (b).....	69
APÊNDICE G - Detalhe das folhas da planta melissa (a) e da planta camomila (b).....	70

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	3
2.1 HIPÓTESES.....	3
2.2 OBJETIVO GERAL.....	3
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.1 Histórico e Caracterização do Chá.....	4
3.2 Legislação de Chás no Brasil.....	6
3.3 Atividade Antioxidante.....	7
3.3.1 Antioxidantes.....	7
3.3.2 Mecanismo de Ação dos Antioxidantes.....	7
3.3.3 Radicais Livres: Formação de EROS e Oxidação.....	8
3.3.4 Antioxidantes em Alimentos.....	10
3.3.5 Antioxidantes Naturais.....	11
3.3.6 Compostos Fenólicos e Flavonóides.....	13
3.4 Determinação de Compostos Fenólicos.....	15
3.5 Métodos para Avaliação da Atividade Antioxidante <i>in vitro</i>	15
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
4.1 Caracterização da Matéria Prima Utilizada.....	17
4.2 Propriedades Bioativas Avaliadas.....	19
4.2.1 Atividade Antioxidante.....	19

4.2.1.1 Atividade Antioxidante Determinada pelo Método DPPH.....	20
4.2.1.2 Atividade Quelante de Íons Fe ⁺²	20
4.2.2 Flavonóides Totais.....	21
4.2.3 Teor de Polifenóis Totais.....	22
4.3 Análise Estatística.....	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
5.1 Atividade Antioxidante Avaliada pelo Método da Redução do Ferro (Atividade Quelante de Íons Fe ⁺⁺).....	23
5.2 Conteúdo de Flavonóides - Método da Catequina.....	28
5.3 Determinação do Teor de Polifenóis Totais.....	31
5.4 Atividade Antioxidante Avaliada pelo Método DPPH.....	34
5.5 Relações entre os indicadores de Ação Antioxidantes.....	44
6. CONCLUSÕES.....	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
8. APÊNDICES	64

1. INTRODUÇÃO

Com a demanda crescente por “alimentos saudáveis”, a pesquisa e desenvolvimento de novas categorias de produtos têm sido estimulados 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 (SANDERS, 1998; HALSTED, 2003).

Recentemente diversos estudos com espécies de origem vegetal e suas partes, como frutos, folhas, sementes e óleos, receberam atenção por serem fontes de substâncias biologicamente ativas como, por exemplo, os antioxidantes. Dentre os principais antioxidantes naturais estão os compostos fenólicos, o ácido ascórbico, o α tocoferol e os carotenóides.

Segundo a legislação brasileira, chás são produtos constituídos de partes de vegetais, inteiras, fragmentadas ou moídas, obtidos por processos tecnológicos adequados a cada espécie, utilizados exclusivamente na preparação de bebidas alimentícias por infusão ou decocção em água potável, não podendo ter finalidades farmacoterapêuticas (BRASIL, 2005).

Os chás têm atraído muita atenção nos últimos anos, devido à sua capacidade antioxidante e sua abundância na dieta de milhares de pessoas em todo o mundo. Estes são ricos em catequinas, que por sua vez são flavonóides que apresentam propriedades biológicas como atividade antioxidante e seqüestradora de radicais livres. A ação antioxidante destes constituintes tem sido relacionada à proteção do organismo contra os radicais livres, gerados *in vivo*, que estão envolvidos na instalação de várias doenças degenerativas, como câncer, arteriosclerose, artrite reumática, desordens cardiovasculares entre outros (TAPIERO et al., 2002; HALLIWEL, 1996).

Chás ingeridos na forma de infusão contribuem para a extração dos compostos fenólicos, considerados benéficos à saúde (HIGDON, FREI, 2003; MENDEL; BUNKOVA et al., 2005). O interesse pela descoberta de novos antioxidantes, seguros e de fontes naturais, especialmente aqueles extraídos de plantas, tem aumentado nos últimos anos, principalmente para prevenir o dano oxidativo às células vivas. O uso de antioxidantes sintéticos tem diminuído devido à suspeita de que estes podem ter atividade promotora de carcinogênese.

O efeito benéfico da bebida extraída de plantas, como os chás verde e branco, já é conhecido há milhares de anos, principalmente em países da Ásia e Oriente Médio, onde inclusive são consideradas bebidas sagradas, tamanha a importância que apresentam a população e a sua saúde. No Brasil cresce constantemente o consumo dessa bebida, extraída das folhas e partes da planta em geral, sendo notória a influência de países orientais e, também, dos países vizinhos, constituintes do MERCOSUL, em especial a Argentina.

Como uvas, maçãs e cacau, o chá pode ser uma rica fonte de flavonóides e outros polifenóis. No entanto, os teores de flavonóides podem ser afetados por diferentes tipos de processamento. Folhas do chá recém colhidas são tratadas de forma diferente para produzir determinados tipos de chá (verde, oolong e chá preto) (ZHU et al. 2002).

Nesse contexto surge a importância da identificação e conhecimento detalhado de novos produtos, bem como sua composição química, sua concentração em compostos antioxidantes, flavonóides e polifenóis e seu conseqüente benefício à saúde. Plantas antes consideradas sem importância medicinal, como o alecrim, hoje são cultivadas e delas extraídas essas substâncias de fundamental importância ao bom funcionamento do organismo humano (HALLIWEL 1994).

Qual o melhor chá? Qual é mais rico em substâncias benéficas ao organismo? Quanto tempo deixar a infusão em repouso antes de consumir? Quantas vezes ao dia recomendam-se a ingestão? Que quantidade torna-se tóxica ao corpo? Estes e outros questionamentos são temas apresentados e discutidos em trabalhos científicos recentes. Além da disseminação do conhecimento e informações, estes trabalhos buscam apresentar à população uma nova maneira de manter e melhorar sua saúde, sem prejuízo a sua qualidade de vida.

Considerando a escassez de estudos sobre o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em infusões de chás de diferentes espécies de plantas e a importância da ingestão destes fitoquímicos, o presente trabalho teve como objetivo quantificar os teores destas substâncias em infusão aquosa de diferentes plantas utilizadas como chás, assim como suas respectivas capacidades antioxidantes.

2. HIPÓTESES E OBJETIVOS

2.1 Hipóteses

O presente trabalho tem como hipóteses:

- Os diferentes tipos de plantas utilizadas na fabricação da bebida chá apresentam diferenciado conteúdo de compostos bioativos com efeito antioxidante;
- As diferentes partes da planta *Camellia sinensis* e o método de processamento adotado originam chás com diferentes teores de compostos bioativos.

2.2 Objetivo Geral

- O objetivo geral do trabalho é determinar o teor de compostos bioativos, caracterizados pelo seu respectivo valor de atividade antioxidante, compostos fenólicos e flavonóides, em diferentes plantas e partes de plantas utilizadas na fabricação da bebida chá.

2.3 Objetivos Específicos

- Avaliar a atividade antioxidante de diferentes plantas utilizadas na produção da bebida chá;
- Avaliar os compostos fenólicos e os flavonóides totais em diferentes plantas e partes de plantas utilizadas para a fabricação da bebida chá;
- Determinar qual tipo de chá a partir da planta *Camellia sinensis* mantém os maiores níveis de compostos bioativos;
- Comparar a atividade antioxidante de diferentes plantas através de diferentes métodos de detecção;

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Histórico e Caracterização do Chá

O chá é uma das bebidas mais consumidas e mais antigas do mundo, sendo referido na literatura como uma das melhores fontes de compostos fenólicos (WEISBURGER, 1997). Estas substâncias têm sido alvo de grande atenção nos últimos anos, especialmente por apresentarem atividade antioxidante (HIGDON; FREI, 2003; DREOSTI, 2000; SERAFINI et al., 2000; BRAVO, 1998; VINSON; DABBAGH, 1998).

O conceito de chá refere-se ao produto de infusões de plantas do gênero *Camellia sp.*, sendo que as variações em suas denominações são relativas ao tipo de processo que estas plantas sofrem. Chá preto, oolong e chá verde são os principais tipos de produtos obtidos desta planta e diferenciam-se pela reação que têm com um processo que recebe o nome de fermentação. No entanto, este nome não reflete a realidade, pois tal processo não envolve atividade microbológica, mas apenas a inativação enzimática. O primeiro é fermentado, o segundo semi-fermentado e o terceiro não é fermentado, preservando suas características originais (WITTID DE PENNA; ZUNIGA; FUENZALIDA, 2005).

Segundo WEISBURGER (1997), a história do chá como bebida data do ano de 2700 a.C. na China. Da China a tradição foi levada para o Japão no século VI. Após isto, e por um longo período, o chá foi consumido apenas pela sociedade privilegiada, tornando-se popular somente 700 anos depois. O consumo de chá se difundiu na Ásia e das colônias asiáticas para suas metrópoles, de onde, em meados do século XVII, os ingleses divulgaram e popularizaram a bebida para o mundo. Desde então a produção e o consumo de chás evoluiu muito. Em 1904 o conceito de chá gelado foi criado em St Louis, EUA, e no final do mesmo século aproximadamente 75 % do consumo de chá pelos norte-americanos era gelado. No Japão o chá gelado também se modernizou e popularizou, passando a ser vendido nas ruas, em máquinas automáticas.

Historicamente o consumo de chá no Brasil está relacionado a práticas curativas, tendo suas origens principais nas culturas indígenas, negras e européias (SILVA, BUITRÓN; OLIVEIRA; MARTINS, 2009). No fim do século XX, o consumo no país cresceu e se modernizou, surgindo inclusive uma legislação específica, porém ainda convivendo com o comércio de espécies medicinais em feiras e o plantio em quintais para o consumo familiar.

O chá-mate ou a erva-mate (*Ilex paraguariensis*), este último diferenciando-se do primeiro pela ausência da etapa de tostagem durante o seu processamento, destacam-se por serem os mais comercializados na América do Sul, onde há referência de que, aproximadamente, 30% da população desse continente consome, em média, um litro dessa bebida por dia (FILIP et al., 2000).

Os chás têm atraído muita atenção nos últimos anos devido à sua capacidade antioxidante e sua abundância na dieta de milhares de pessoas em todo o mundo. É considerada uma das mais antigas bebidas produzidas por via biotecnológica e praticada pelo ser humano. É rica em catequinas que, por sua vez, são flavonóides que apresentam propriedades biológicas como atividade antioxidante e seqüestradoras de radicais livres. Os chás ingeridos na forma de infusão contribuem para a extração dos compostos fenólicos, considerados benéficos à saúde (HIGDON, FREI, 2003; MENDEL, YAUDIM, 2004; BUNKOVA et al., 2005). Efeitos benéficos da bebida chá em relação ao colesterol plasmático, lipídios plasmáticos e pressão sanguínea foram já encontrados em seres humanos, em dois estudos, no Japão e na Noruega (KONO et al., 1997). Efeitos benéficos foram encontrados também por STAVRIC (1994), com a ingestão simultânea de chá com outros produtos alimentícios, o que proporcionou reações de nitrosação (ligações entre grupos nitrosos e moléculas orgânicas) no interior do estômago de humanos.

3.2 Legislação de Chás no Brasil

Os chás tem chamado a atenção no meio científico para estudos nos últimos anos devido à quantidade de compostos bioativos e também sua abundância na dieta atual. Com esta demanda crescente, houve necessidade de estudos para a descoberta de novos princípios ativos, aplicações e funções, dentre eles o potencial antioxidante das infusões, sendo que estes podem substituir na íntegra ou parcialmente os antioxidantes sintéticos, na conservação de inúmeros alimentos.

Em 1998 a Secretaria de Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde, aprova a Portaria nº 519, de 26 de junho de 1998, que regulamenta os PADRÕES TÉCNICOS PARA FIXAÇÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE “CHÁS” e quais as Plantas Destinadas à Preparação de Infusões ou Decocções (BRASIL, 1998).

Em 22 de setembro de 2005 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária publica a Resolução RDC nº 277, que Aprova o “REGULAMENTO TÉCNICO PARA CAFÉ, CEVADA, CHÁ, ERVA-MATE E PRODUTOS SOLÚVEIS”, conceituando o chá como sendo um “produto constituído de uma ou mais partes de espécie(s) vegetal(s) inteira(s), fragmentada(s) ou moída(s), com ou sem fermentação, tostada(s) ou não, constantes de Regulamento Técnico para o Preparo de Chás. O Produto pode ser adicionado de aroma e ou especiarias para conferir aroma e sabor (BRASIL, 2005).

Também em 22 de setembro de 2005, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária publica a Resolução RDC nº 267, que Aprova o “REGULAMENTO TÉCNICO DE ESPÉCIES VEGETAIS PARA O PREPARO DE CHÁS”, excluindo deste Regulamento as espécies vegetais com finalidade medicamentosa ou terapêutica (BRASIL, 2005).

3.3 Atividade Antioxidante

3.3.1 Antioxidantes

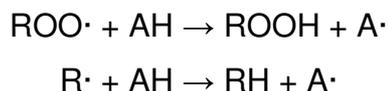
Antioxidantes são substâncias usadas para conservar alimentos através do retardo da deterioração, rancidez e descoloração, decorrentes da auto oxidação (ADEGOKE et al., 1998). Antioxidantes protegem os sistemas biológicos contra os efeitos potencialmente danosos de reações das espécies reativas ao oxigênio, com diversos alvos celulares. Existe uma grande quantidade de compostos, tanto naturais quanto sintéticos com propriedades antioxidantes e vários podem ser usados na indústria de alimentos, porém para isso certos requerimentos devem ser cumpridos, entre eles, a segurança para a saúde do consumidor (NAWAR, 1996).

A ação antioxidante pode ser desenvolvida como aceptores de radicais livres, interrompendo a reação em cadeia provocada por estes radicais livres, além da atuação nos processos oxidativos catalizados por metais, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (SOARES, 2002). A ação antioxidante destes constituintes tem sido relacionada à proteção do organismo contra os radicais livres, gerados *in vivo*, que estão envolvidos na instalação de várias doenças degenerativas, como câncer, aterosclerose, artrite reumática, desordens cardiovasculares entre outros (TAPIERO et al., 2002; HALLIWELL, 1996; JACOB; BURRI, 1996).

3.3.2 Mecanismo de Ação de Antioxidantes

Os antioxidantes primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia. Os principais e mais conhecidos antioxidantes deste grupo são os polifenóis, usados para retardar a deterioração de produtos cárneos e estender sua validade. Dentre eles podemos citar o BHT (butilhidroxitolueno), BHA (butilhidroxianisol) e TBHQ (butilhidroquinona terciária), o

PG – Propil Galato (MILANI et al., 2002), que são sintéticos, e os tocoferóis, componentes derivados da vitamina E, que são naturais (PORTER et al., 1995). Segundo MORRISEY et al. (1998), o mecanismo de ação dos antioxidantes pode ser descrito conforme a equação abaixo:



onde:

ROO· e R· = radicais livres
AH = antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo
A = radical inerte

O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres R e ROO com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Assim, formam-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte (A) procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas (RAMALHO, JORGE, 2006).

3.3.3 Radicais Livres: Formação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) e Oxidação

Os primeiros relatos sobre radicais livres ocorreram aproximadamente por volta do ano de 1924, porém apenas a partir da década de 70 é que se começou a dar maior importância ao efeito dos radicais livres para os seres vivos, especialmente os aeróbios (BAST et al., 1991). A partir daí o interesse pelo conhecimento dessas substâncias começou a crescer e se intensifica cada vez mais. A associação entre a presença de radicais livres e a patogênese de certas doenças, bem como a proteção de certas substâncias antioxidantes gera o interesse da

pesquisa e da ciência, sendo objeto de estudo de diversas instituições e autores (HALLIWEL, 1996).

Radicais livres podem ser definidos também como moléculas ou átomos que possuem um elétron desemparelhado na última camada, ocupando um único orbital atômico ou molecular (HALLIWEL, GUTTERIDGE, 2000).

O processo de formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas durante os processos de transferência de elétrons. Isto acontece no metabolismo celular, e pela exposição a fatores exógenos, como ozônio, radiações gama e ultravioleta, tabaco e alguns tipos de medicamentos (CERUTTI, 1991).

Entre os diferentes tipos de radicais livres estão principalmente os metais de transição como o ferro, cobre e manganês, e as espécies derivadas do oxigênio. São denominados, em geral, de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), quando são derivados do oxigênio, ou Radicais Livres de Oxigênio (RLOs) (SALDANHA, 2005). EROs podem também referir-se a espécies que não são derivadas de radicais livres, e sim algumas moléculas derivadas de O₂ capazes de gerar radical livre, como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂). As principais EROs são as seguintes: radical superóxido (O₂⁻); peróxido de hidrogênio (H₂O₂); radical hidroxila (OH⁻) e oxigênio singlete (¹O₂) (FERRERA & MATSUBARA, 1997). Essas formas de oxigênio são muito prejudiciais aos constituintes celulares, incluindo o DNA, os lipídios, os ácidos graxos e as proteínas.

A deterioração de materiais orgânicos e de alimentos expostos ao ar ocorre devido ao oxigênio atmosférico. Essas moléculas orgânicas, suscetíveis ao ataque do oxigênio, terminam formando hidroperóxidos e são eles os responsáveis pela perda da função de membranas celulares e das próprias células, bem como pela deterioração (LARSON, 1988). Radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio como o peróxido de hidrogênio são naturalmente e continuamente produzidos. Porém, os organismos desenvolvem sistemas de defesa antioxidantes para a proteção e também sistemas de reparação, limitando assim o acúmulo de moléculas alteradas pela oxidação (HALLIWEL, GUTTERIDGE, 2000).

Radical livres causam lesões em praticamente todas as moléculas orgânicas, em especial às membranas lipídicas. As principais alterações oxidativas nos alimentos, segundo VANNUCCHI et al., (1997) são:

- perdas nutricionais devido à oxidação de vitaminas e ácidos graxos insaturados essenciais;

- oxidação de pigmentos e de compostos aromáticos;
- escurecimento enzimático (muito importante em vegetais consumidos *in natura*);
- oxidação de lipídios (óleos vegetais e produtos de panificação, cárneos e lácteos).

3.3.4 Antioxidantes em Alimentos

Segundo ADEGOKE et al. (1998), substâncias antioxidantes são usadas para preservar alimentos através do retardo da deterioração, rancidez e descolorações decorrentes da auto oxidação. Porém, como a ação dos antioxidantes não se limita apenas à inibição da peroxidação dos lipídios, mas também à oxidação de outras moléculas, como proteínas e o ácido desoxirribonucléico (DNA), dentre outras. Pode-se definir antioxidantes como substâncias que em pequenas concentrações (< 0,01 %), em presença de substratos oxidáveis, retardam ou previnem significativamente a oxidação dos mesmos (HALLIWEL, 1996). Ainda, deve atender aos seguintes requisitos: ser compatível com o substrato, não conferir odor ou sabor estranho ao produto, ser efetivo durante o período de armazenamento do produto alimentício, ser estável ao processo de aquecimento, e ser facilmente incorporado ao alimento (MELO & GUERRA, 2002).

Do ponto de vista químico, os antioxidantes são compostos aromáticos que contêm pelo menos uma hidroxila, podendo ser sintéticos como, por exemplo, o butil-hidroxianisol (BHA) e o butil-hidroxitolueno (BHT), largamente utilizados pela indústria de alimentos, ou naturais (substâncias bioativas), como os compostos organosulfurados, fenólicos, carotenóides e terpenos, que fazem parte da constituição de diversos alimentos (KITTS, 1994). Segundo RAJALAKSHMI & NARASIMHAN (1995), os antioxidantes não podem reverter o processo oxidativo, bem como não previnem a rancidez hidrolítica.

O uso de agentes antioxidantes artificiais na indústria de alimentos é frequentemente criticado em função de sua toxicidade-inocuidade. A pesquisa recente tem focado a busca de agentes antioxidantes presentes em compostos naturais, sendo que estes poderão rapidamente substituir os artificiais produzidos industrialmente, ou então formar combinações com estes, para que a concentração dos artificiais pelo menos diminua nos alimentos (CANTERLE, 2005).

Os vegetais apresentam naturalmente uma diversidade de compostos fenólicos bioativos, dentre eles destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos e o tocoferol. Estes podem atuar como agentes redutores, seqüestradores de radicais livres, quelantes de metais ou desativadores do oxigênio singlete. Podem também exibir, ao mesmo tempo, mais de uma dessas funções anteriormente citadas. Compostos fenólicos bioativos apresentam atividade antioxidante diferenciada em função do substrato lipídico em que atuam e das características químicas inerentes a cada um deles (MELO & GUERRA, 2002).

Paralelamente, é aceito que a maior ingestão de frutas e legumes pode ajudar a prevenir vários tipos de doenças. A inferência de que os antioxidantes presentes em alguns alimentos da dieta humana possam ser responsáveis por tais efeitos benéficos tem ocasionado uma busca significativa da ciência e da pesquisa no sentido de identificar e quantificar o conteúdo de antioxidantes nos mais variados tipos de alimentos, e seu efeito também em bebidas (VINSON et al., 1998), assim como os mecanismos responsáveis por tais efeitos benéficos.

3.3.5 Antioxidantes Naturais

A determinação da atividade antioxidante de produtos naturais teve início com CHIIPPAULT et al. (1952) em especiarias, ingredientes utilizados em alimentos desde os primórdios da história, não somente para melhorar ou ressaltar as características sensoriais dos alimentos, mas também para preservá-los.

O interesse pelos antioxidantes naturais teve início na década de 80 diante da comprovação de efeitos maléficos causados por doses elevadas de butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA) e butilhidroquinona terciária (TBHQ) sobre o peso do fígado e significativo aumento do retículo endoplasmático, entre outras (DURÁN; PADILLA, 1993). Como consequência, ênfase foi dada à identificação e purificação de novos compostos com atividade antioxidante, provenientes de fontes naturais, que pudessem atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (POKORNÝ et al., 1991).

Estudos preliminares demonstraram que alguns extratos de ervas são tão eficientes quanto os antioxidantes sintéticos (HERNÁNDEZ et al., 2009). No Brasil, o chá-mate, bem como o chá de ervas, flores e frutos são bastante apreciados, principalmente, em virtude de suas propriedades terapêuticas. A utilização de plantas com fins medicinais teve influência da cultura indígena, africana e européia, constituindo a base da medicina popular que vem sendo retomada pela medicina natural. Fatores econômicos e sociais também têm contribuído para o uso de chás de ervas, popularmente conhecidas por seus efeitos curativos (MARTINS et al., 1998).

Pesquisas sobre polifenóis em chás encontram-se mais direcionadas para os produzidos a partir das folhas de *Camellia sinensis* (CHERUBINI et al., 1999; VINSON; DABBAGH, 1998; ZANDI; GORDON, 1999). Em função do processamento aplicado a essas folhas, obtém-se o chá verde, “oolong” e preto. O primeiro origina-se das folhas secas, sem a ocorrência da oxidação enzimática, e os demais são resultantes do processo fermentativo, no qual ocorre moderada e exaustiva oxidação enzimática, respectivamente (ZHU et al., 2002). No chá verde são encontradas, principalmente, as catequinas que, são convertidas a teaflavinas e tearubigenas durante o processo para obtenção do chá preto (DEKKER et al., 1999). As catequinas presentes no chá verde ajudam a regular a pressão sanguínea e podem ajudar a diminuir os níveis de glicose sanguínea.

Na década de 1990, os chás preto e verde eram considerados mutagênicos em testes específicos de mutagenicidade com *Salmonella*. Entretanto, recentemente através de testes mais específicos, descobriu-se que não apenas esses chás apresentam propriedades antimutagênicas como também anticarcinogênicas, em especial o chá verde. O principal responsável por este efeito, presente no chá verde, é denominado Epigalo-Catequina Galato (EGCG) (KATIYAR et al., 1992).

3.3.6 Compostos Fenólicos e Flavonóides

A formação e a presença de compostos voláteis e fenólicos responsáveis pelo gosto dos alimentos são influenciadas diretamente por alguns fatores, dentre eles, condições climáticas, práticas de cultivo, maturidade dos frutos, condições de estocagem e as técnicas de processamento (SANTOS et al., 2009; SIQUEIRA et al., 2007).

A separação, identificação, quantificação e a utilização de diferentes compostos fenólicos em alimentos tem sido alvo de pesquisa de diversos autores nos últimos anos. Devido à diversidade de substâncias envolvidas (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos e ligninas) uma grande gama de dificuldades é relatada, entre elas a grande polaridade e reatividade e a suscetibilidade à ação enzimática (SOARES, 2002). Segundo NAMIKI (1990), os compostos fenólicos presentes em vegetais e demais especiarias, são os principais responsáveis pela sua atividade antioxidante. Com exceção do tocoferol, a maioria desses compostos possui grupos funcionais ativos na posição “orto”, enquanto que nos antioxidantes artificiais, com exceção dos galatos, esses grupos encontram-se na posição “para”, sem que seja detectada alteração na sua ação.

A presença de compostos fenólicos nos vegetais tem sido pesquisada em razão da sua participação em processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma de vários alimentos, da atividade farmacológica, nutricional e da capacidade de inibir a oxidação lipídica e a proliferação de fungos (PELEG et al., 1998).

Ácidos fenólicos são algumas das substâncias que constituem o grupo dos compostos fenólicos que se caracterizam por apresentarem um anel benzênico, um grupamento carboxílico, um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, o que lhe confere propriedades antioxidantes, tanto para alimentos como para o organismo. Por isso, estes compostos são recomendados para o tratamento de prevenção do câncer, doenças cardiovasculares e de outras doenças (FERGUSON, HARRIS, 1999).

Os flavonóides possuem uma estrutura básica formada por C6-C3-C6, sendo os compostos de maior diversificação do reino vegetal. Neste grupo encontram-se as antocianinas, flavonas, flavonóis e, com menos intensidade, as auronas, chalconas e isoflavonas, dependendo do lugar, número e combinação dos

agrupamentos participantes da molécula (SOARES, 2002). O estudo das propriedades sequestrantes de radicais livres em termos de flavonóides, tem permitido a sua caracterização como um antioxidante de ocorrência natural (RICE-EVANS et al., 1997). A avaliação *in vitro* e *in vivo* de flavonóides tem demonstrado a existência de propriedades antioxidantes e antimutagênicas, assim como, sua capacidade de reduzir o risco de doenças cardiovasculares e apoplexia (PETERSON, DWYER, 1998).

Simplificadamente, os flavonóides realizam a inibição da fase I das enzimas que ativam a carcinogênese e proliferação de células cancerígenas. Inibem também a formação de estrogênio do tipo II, que está envolvido com a regulação do crescimento celular e a genotoxicidade das radiações gama, assim como evitam a formação de DNA defeituoso, quando submetido à exposição de benzopireno (PETERSON, DWYER, 1998). Entre todos os flavonóides, a quercetina é o composto mais comumente pesquisado.

Os polifenóis são o grupo mais abundante de compostos nas folhas de algumas plantas, como o chá. Entre todos os polifenóis, os flavonóides (catequinas) constituem os maiores componentes quantitativamente, ou seja, acima de 30 % da matéria seca de folhas frescas. Os flavonóides têm importante contribuição especialmente para o gosto amargo e adstringente do chá verde (FINGER et al., 1992). Esses compostos são apresentados como catequinas, alguns dos quais são convertidos para compostos fenólicos de alto peso molecular, designados teaflavinas e tearubiginas durante o processo de fabricação do chá preto.

Os maiores compostos fenólicos no chá pertencem à família das catequinas, também conhecidas por flavan-3-ol. As catequinas são encontradas, em altos níveis, em chás verdes juntamente com ácidos clorogênicos, como o ácido 5-cafeoilquinico (5-CQA), o qual é o maior composto fenólico no café, acompanhado por vários outros compostos já relatados (KILMARTIN, HSU, 2003).

Os flavonóis ou catequinas correspondem a 75 % do conteúdo de flavonóides encontrados no chá verde. Esses compostos conferem sabor à bebida, e por esse motivo, no oriente médio, seu teor nas folhas é indicativo de qualidade e valor agregado ao produto. No processamento da folha e no preparo, as catequinas podem sofrer epimerização. Tal fenômeno é uma reação estereoquímica, que resulta na conversão das catequinas majoritárias em seus correspondentes isômeros (WANG et al., 1996). Esse fenômeno ocorre na posição 2 do anel

aromático devido a diferentes causas, entre elas os altos valores de pH e temperatura, e presença de íons.

3.4 Determinação de Compostos Fenólicos

Existe uma variedade de técnicas para a quantificação espectrofotométrica de compostos fenólicos, sendo a mais usada a que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu (ROGINSKY; LISSI, 2005). O reagente consiste de mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotunguístico, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação 6⁺ porém, em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 e 6 e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, que não necessariamente precisam ter natureza fenólica (IKAWA et al., 2003).

3.5 Métodos para Avaliação da Atividade Antioxidante *in vitro*

Por definição, atividade antioxidante é a capacidade de um composto de inibir a degradação oxidativa, isto é, a peroxidação lipídica (DESCALZO; SANCHO, 2008). Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas. Um dos mais utilizados consiste em avaliar a atividade seqüestradora do radical livre estável DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil), de coloração púrpura, que absorve a 515 nm (ROGINSKY; LISSI, 2005). Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar, o DPPH é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou seqüestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional (BRAND-WILLIANS et al., 1995).

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (CE_{50}), também chamada de concentração inibitória (CI_{50}). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua CE_{50} e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007).

A técnica de redução do ferro (redução do Fe^{3+}) é freqüentemente usada como um indicador de atividade de doação de elétron, o qual é um importante mecanismo de ação de antioxidantes fenólicos e pode ser fortemente correlacionada com outras propriedades antioxidantes (DORMAN et al., 2003). Neste método, a coloração amarela da solução teste muda para várias tonalidades de verde e azul, dependendo do poder de redução de cada composto. A presença de redutores (antioxidantes) causa a redução do complexo Fe^{3+} /ferrocianeto para a forma ferrosa (Fe^{2+}). Portanto, a medida espectrofotométrica em comprimento de onda de 593 nm pode monitorar a concentração de Fe^{2+} (FERREIRA et al., 2007).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da Matéria Prima Utilizada

O trabalho foi realizado com 14 diferentes espécies de plantas, como pode ser observado na Tabela 1, sendo que todas as amostras avaliadas pertenceram ao mesmo lote de fabricação, dentro de cada tipo de chá.

Tabela 1. Nome comum, nome científico e principais partes da planta utilizadas na produção de chás para consumo humano.

Nome Comum	Nome Científico	Parte da Planta Utilizada
Marcela	<i>Achyrocline satureoides</i> D.C	Capítulos florais
Camomila	<i>Matricaria recutita</i> L.	Capítulos florais
Melissa	<i>Melissa officinalis</i> L.	Folha
Erva doce	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Frutos
Boldo	<i>Peumus boldus</i> Molina	Folha
Hortelã	<i>Mentha piperita</i> L.	Folhas e ramos
Mate tostado	<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.	Folhas e talos
Erva mate chimarrão	<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.	Folhas e talos
Chá verde	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	Folhas e talos
Chá verde tipo Banchá	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	Folhas e talos
Chá vermelho	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	Folhas e talos
Chá branco	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	Folhas e talos
Chá amarelo	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	Folhas e talos
Chá preto	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	Folhas e talos
Endro	<i>Anethum graveolens</i> L.	Semente
Hibiscus	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Flores
Funcho	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Frutos
Malva	<i>Sida cordifolia</i> L.	Folhas
Carqueja	<i>Baccharis genistteloides</i> (Lamarck) Persoon	Folhas
Maçã	<i>Pyrus malus</i> L.	Frutos

A escolha destas plantas deu-se em função da quantidade em que as mesmas são consumidas pela população brasileira e gaúcha, estando estas entre as mais procuradas tanto pelo paladar, quanto pelas propriedades fitoterápicas.

Ao total, 20 diferentes tipos de chás foram avaliados, uma vez que a planta *Ilex paraguariensis* St. Hil. origina dois tipos de chá diferentes, e a planta *Camellia sinensis* (L.) Kuntze origina 6 tipos diferentes de chás, sendo que para isto ambas são submetidas a diferentes métodos de processamento na indústria, como pode ser observado no Quadro 1.

Quadro 1. Características de produção e componentes dos diferentes tipos de chá oriundos da planta *Camellia sinensis*.

CARACTERÍSTICA	CHÁ VERDE	CHÁ BRANCO	CHÁ VERMELHO	CHÁ PRETO	BANCHÁ
Sinônimo	Green Tea	White Tea	Red Tea, Pu Erh Tea, Dark Tea	Black Tea	Sencha, Steamed Tea
Parte utilizada	Folha	Folha e Caule	Folha	Folha e Caule	Folha e Caule
Época de Colheita	Os chás são produzidos três vezes ao ano: no outono, na primavera e no verão.				
Primeira Colheita	A primeira colheita ocorre quando a árvore de <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze atinge 3-5 anos.				
Última Colheita	Geralmente, as colheitas são realizadas até as árvores de <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze atingirem 50 anos.				
Método de Secagem	Vento quente e Estufa.	Vento quente e Estufa.	Vento quente.	Evaporação da água presente nas folhas e caules (Evaporador).	Sol, ao tempo.
Grau de Fermentação	0%	5%	80%	95%	0%
Eliminação de Enzima	Sim.	Não.	Sim.	Não.	Parcialmente.
Polifenóis	10%	16%	7%	14%	13%
Taninos	8%	10%	4%	9%	8%
Cafeína	1,5%	2%	1,5%	1,8%	0,3%

China Fornecedor; (2) Quimer – Valores aproximados.

Fonte: Embrafarma, (2013).

As amostras de chás foram fornecidas pela empresa Chá Prenda do Brasil Indústria e Comércio Ltda., localizada no município de Senador Salgado Filho, na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Todas as determinações foram realizadas no laboratório do Núcleo de Pesquisa em Pós-colheita, localizado no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, RS.

Os extratos foram obtidos através da infusão de sachês de papel filtro contendo 3 g da planta em 200 mL de água destilada e deionizada por 10 minutos de infusão, sendo a temperatura da água de aproximadamente 85°C. Após a extração as amostras foram acondicionadas em recipientes de vidro protegidos da ação da luz e armazenadas a temperatura de 0,5°C. A determinação da atividade antioxidante e atividade quelante de íons Fe^{+2} foi realizada no dia da extração e a do conteúdo de flavonóides e polifenóis posteriormente. Não foi seguido nenhum delineamento experimental específico.

4.2 Propriedades Bioativas Avaliadas

4.2.1 Atividade Antioxidante

Existem vários métodos para avaliar a capacidade antioxidante em alimentos, contudo, tendo em vista que antioxidantes não atuam separadamente, a possível interação entre eles pode fazer com que a determinação da capacidade antioxidante individualmente seja menos efetiva do que o estado antioxidante total (PRIOR; CAO, 1999).

Um dos métodos mais utilizados para a determinação da capacidade antioxidante *in vitro* é através da atividade antioxidante frente a substâncias cromógenas de natureza radicalar; onde o desaparecimento da cor ocorre de forma proporcional à concentração de antioxidantes (ARENA et al., 2001).

4.2.1.1 Atividade Antioxidante Determinada pelo Método DPPH

O método do DPPH (diphenyl-2-picrylhydrazyl) (BRAND-WILLIAMS et al, 1995) é baseado na redução do radical DPPH na presença de antioxidante doador de hidrogênio. Este método tem sido considerado um dos mais representativos para o emprego em modelos de radicais na avaliação da capacidade de remoção de radicais livres (GENOVESE et al, 2008).

A atividade de seqüestro do radical DPPH das amostras dos extratos foi medida de acordo com a metodologia descrita por Choi et al. (2002), com algumas alterações, descritas a seguir. Primeiramente realizou-se a curva padrão com ácido ascórbico, em seguida as diluições para cada chá, compatível com as diluições do composto padrão. Para cada diluição, adicionou-se ao tubo de ensaio uma alíquota de 2,5 mL da solução do extrato adequadamente diluída mais 1 mL da solução metanólica de DPPH 0,3 mM. A mistura foi agitada por meio de inversão do tubo de ensaio e incubada ao abrigo da luz em temperatura ambiente (25°C) por 30 minutos. Para o controle negativo foi utilizado 2,5 mL de etanol mais 1 mL da solução metanólica de DPPH 0,1 mM e incubada nas mesmas condições da amostra. Para o branco foi utilizado 2,5 mL de extrato e 1 mL de etanol.

O decréscimo da absorbância de cada solução foi medida a 518 nm em espectrofotômetro da marca Femto® modelo 600S (mono feixe) e comparada com a curva de calibração do padrão de ácido ascórbico (faixa de 1,5 a 18,8 µg L⁻¹). A capacidade de seqüestro de radical DPPH foi calculada de acordo com a equação: Capacidade de seqüestro de radical DPPH (%) = [(Ab da amostra – Ab do branco)/Ab do controle] x 100. Todas as leituras foram realizadas em duplicata.

4.2.1.2 Atividade Quelante de Íons Fe⁺²

Outro método utilizado para medir a atividade antioxidante é a capacidade de redução do ferro (atividade quelante de íons Fe⁺²). Nessa técnica ocorre a redução do íon férrico para íon ferroso, em pH baixo, causando o aparecimento de

um complexo colorido ferroso-tripiridiltriazina (BENZIE, STRAIN, 1996). O complexo Fe^{+2} tem uma coloração azul intensa e pode ser monitorado a 593 nm.

A atividade quelante foi determinada de acordo com a metodologia descrita por TANG et al. (2002) com modificações. As amostras foram diluídas em etanol, obtendo-se a concentração de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$. Uma alíquota de 1 mL das amostras foi transferida para tubos de ensaio e adicionou-se 3,7 mL de água deionizada; 0,1 mL de FeSO_4 (Fe^{2+}) 2 mM e 0,2 mL de ferrozina (3-(2-piridil)-5,6-bis(4-ácido fenil-sulfônico)-1,2,4-triazin 5 mM. A mistura foi agitada e após 20 min de incubação ao abrigo da luz foi realizada a leitura a 562 nm. A baixa absorbância indica atividade quelante. As análises foram realizadas em duplicata e utilizou-se EDTA (200 mg mL^{-1}) como controle.

A atividade do controle foi considerada 100 % e a atividade quelante (% AQ) das amostras foi calculada segundo a equação:

$$\% \text{ AQ} = ((\text{Ac} - \text{Aa})100)/\text{Ac},$$

onde, Ac: absorbância do controle; Aa: absorbância da amostra.

4.2.2 Determinação do teor de Flavonóides Totais

O conteúdo de flavonóides foi determinado usando o método colorimétrico descrito por DEWANTO et al. (2002) com modificações. Procedeu-se da seguinte maneira: em um tubo de ensaio 0,25 mL da solução do extrato adequadamente diluída foi misturada a 1,25 mL de água deionizada e a 75 μL de nitrito de sódio (NaNO_3) 5 %. Após 6 minutos de repouso no escuro, adicionou-se então 150 μL de tricloreto de alumínio (AlCl_3) 10 % e aguardou-se 5 minutos ao abrigo da luz. Adicionou-se então 0,5 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 1 M e 2,5 mL de água deionizada. Em seguida submeteu-se as amostras à agitação e repouso por uma hora ao abrigo da luz. Após esse período foi determinada a absorbância à 510 nm em espectrofotômetro da marca Femto® modelo 600S (mono feixe) e comparada com a curva de calibração de (+)-catequina (faixa de 50-200mg/L). Os resultados

foram expressos em mg equivalente de (+)- catequina por grama de extrato (mg ECAT/g). Todas as leituras foram realizadas em duplicata.

4.2.3 Determinação do teor de Polifenóis Totais

A combinação do tempo (10 minutos) e temperatura inicial da infusão (85°C) utilizada neste estudo tem sido descrita por vários autores como sendo eficiente para a extração de compostos fenólicos em ervas (LIMA et al., 2004; KATALINIC et al., 2006; SU et al., 2006).

A determinação da concentração dos polifenóis totais foi determinada utilizando-se o método colorimétrico (SINGLETON et al., 1965). Em um tubo de ensaio, 400 µL da solução do extrato adequadamente diluída, em água destilada e deionizada, foi misturada a 2000 µL de reagente de Folin-Ciocalteu 0,1 N diluído (1:10) em água destilada e deionizada. Aguardou-se por 8 min e adicionou-se 1600µL de solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) 7,5 %. Após agitação e incubação ao abrigo da luz e a temperatura ambiente (25°C) por 2 horas, a absorbância foi medida a 765 nm em espectrofotômetro da marca Femto® modelo 600S (momo feixe) e comparada com a curva de calibração de ácido gálico (faixa de 50-250 mg L⁻¹). A concentração de polifenóis foi expressa em mg 100 g⁻¹. Todas as leituras foram realizadas em duplicata.

4.3 Análise Estatística

Os resultados obtidos no experimento foram submetidos à análise de variância, sendo que para os dados de natureza qualitativa as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (P<0,05).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Atividade Antioxidante Avaliada pelo Método da Redução do Ferro (Atividade Quelante de Íons Fe^{++})

Os resultados das avaliações da capacidade antioxidante por diferentes métodos, bem como a quantificação de compostos bioativos em extratos de plantas, é de interesse cada vez maior no meio científico, uma vez que saúde e alimentação são consideradas prioridade máxima nas demandas da população mundial.

Na Figura 1 são apresentados os resultados da avaliação da atividade antioxidante dos 20 tipos de chás, pelo método da redução do ferro.

Como pode ser observado, os valores de atividade quelante de íons ferroso são apresentados em ordem decrescente, sendo que a maior média foi apresentada pelo chá verde (59,81%), e este porém não diferiu estatisticamente dos chás mate tostado, boldo chá preto e chá branco. A segunda maior média (mate tostado, 58,79%) não diferiu do chá de boldo, chá preto, chá branco, chá amarelo e chá vermelho. Nota-se que esse grupo de chás apresentou valores elevados de atividade quelante de íons ferroso em relação às demais plantas. A partir do chá de hortelã (36,95%) as médias continuaram diferindo-se estatisticamente, sendo que os chás de endro (35,56%), carqueja (33,76%) e melissa (30,42%) foram semelhantes entre si, mas superiores aos chás de funcho (26,5%), banchá (24,65%), marcela (23%), erva mate (20,11%), malva (19,02%), camomila (16,92%) e erva doce (12,93%). O chá de maçã (3,29%) e o chá de hibiscus (0,01%) apresentaram-se com valores muito abaixo dos demais chás, sendo dessa maneira praticamente inexpressivas em relação ao poder antioxidante da bebida oriunda de sua infusão.

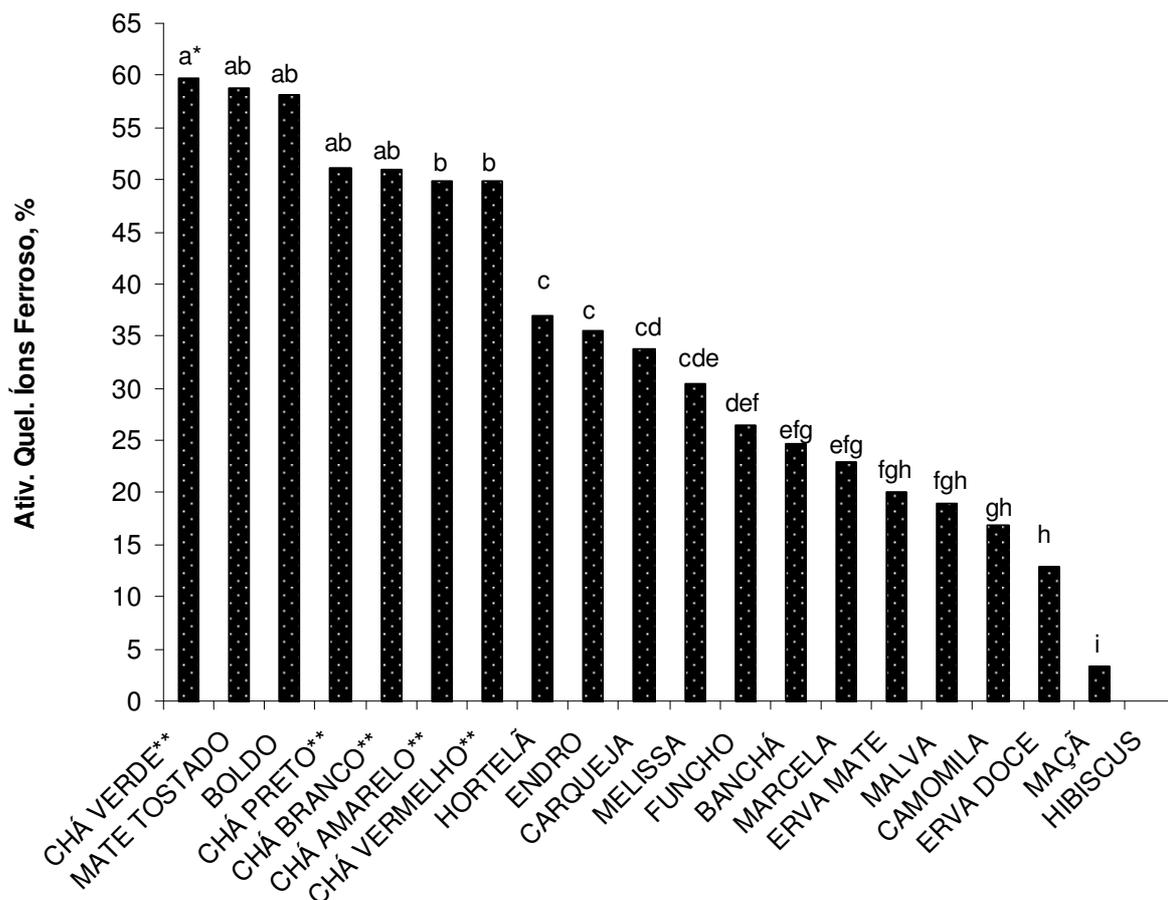


Figura 1. Atividade Quelante de Íons Ferroso em 20 diferentes tipos de chás. *Barras seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). **Corresponde aos chás oriundos da planta *Camellia sinensis*.

Na Figura 1 compara-se todas as plantas testadas no experimento, objetivando agrupar as que apresentaram as maiores médias, para poder posteriormente avaliar cada grupo distinto.

A comparação apresentada na Figura 2 desconsidera o grupo de chás oriundos da planta *Camellia sinensis*, que apresentou os maiores valores de atividade quelante de íons ferroso (Figura 1). Assim, observa-se que a análise estatística muda, e o mate tostado (58,79%), juntamente com o boldo (58,19%), apresentam-se superiores aos demais chás avaliados. O chá oriundo da *Camellia sinensis* já é tradicionalmente conhecido como detentor de alto poder antioxidante. Por isso é necessário a determinação de outras infusões que apresentem característica semelhante e que seja opção alternativa ao consumidor que busca o efeito benéfico dessa substância ao organismo.

Os dados apresentados são semelhantes aos encontrados por Pereira (2009), na avaliação da atividade antioxidante dada por este método, em diferentes extratos de plantas aplicados na conservação de carnes.

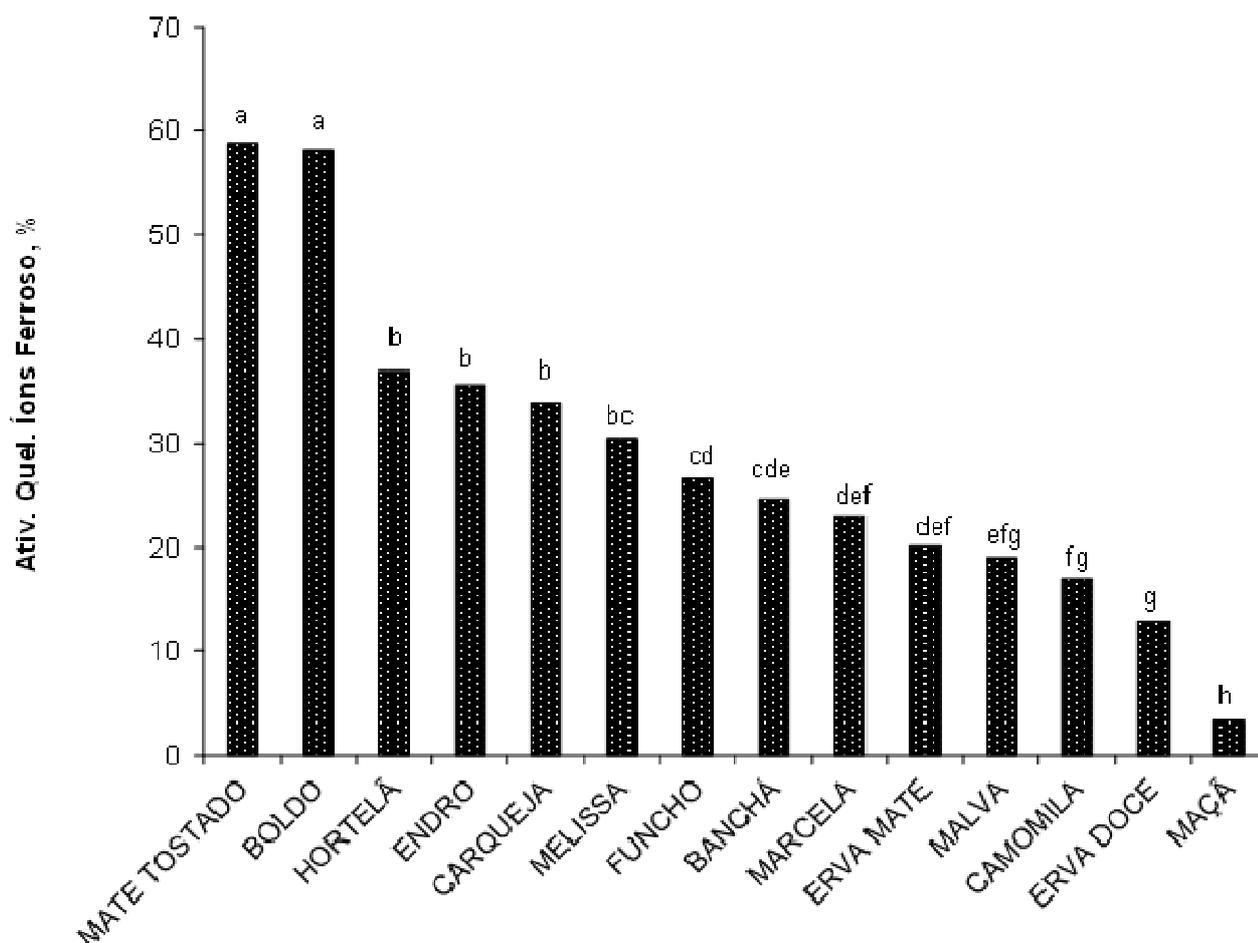


Figura 2. Atividade quelante de íons ferroso, em porcentagem, em 14 diferentes tipos de chá. *Barras seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Segundo Lado et al, (2004) a atividade antioxidante avaliada pela redução de íons ferroso é influenciada pela solubilidade dos componentes solúveis em cada extrato aquoso, que por sua vez é influenciado pela presença de outros componentes acíclicos, monocíclicos, e monoterpênicos bicíclicos, derivados de propano fenílicos e lactonas sesquiterpênicas. Porém, os autores não encontraram

correlação significativa entre terpenos e atividade quelante de íons ferroso, sugerindo haver outro mecanismo químico atuando no processo.

Na Figura 3 é apresentada a avaliação de atividade quelante de íons ferroso nos chás oriundos da *Camellia sinensis*. O chá verde apresentou maior valor de atividade antioxidante, diferindo estatisticamente do chá preto, chá branco, chá amarelo e chá vermelho, que por sua vez não diferiram entre si. Tal constatação é reforçada pelos resultados obtidos por SAIGG & SILVA (2009), e SCHMITZ et al (2005).

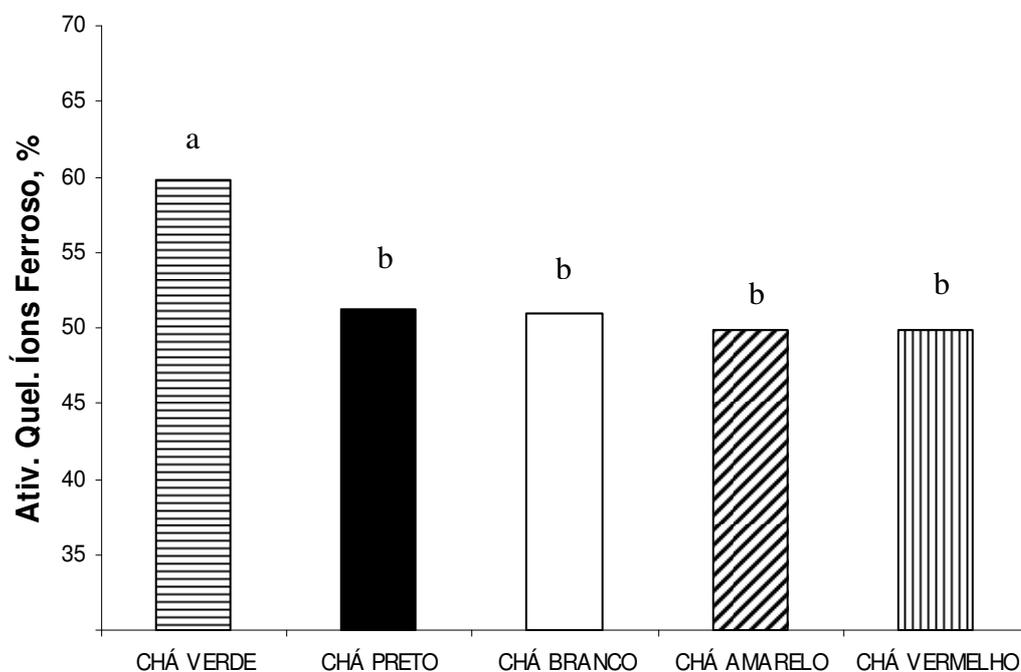


Figura 3. Atividade quelante de íons ferroso em diferentes processos de produção de chá a partir da planta *Camellia sinensis*. *Barras seguida de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

O chá verde possui elevada quantidade de compostos fenólicos funcionais, assim como o chá branco, porém apresenta maior concentração de cafeína em seu extrato, devido ao processo de produção, sendo que quanto maior a ocorrência de fermentação e/ou oxidação, menor a quantidade de cafeína e conseqüentemente a atividade quelante do ferro (ABRAHÃO et al, 2012; PIMENTEL-SOUZA et al, 2012). CIZKOVA et al., (2008) avaliando a autenticidade de

componentes químicos em produtos comerciais à base de chá e também em extratos de chá preto e chá verde, encontraram concentrações semelhantes no teor de cafeína dos dois tipos de chá. Os autores citam, porém, diversos trabalhos publicados na literatura internacional em que o chá verde apresenta valores superiores no teor de cafeína em relação ao chá preto, inferindo ser este o comportamento normal dos resultados desta avaliação em relação a este componente químico.

5.2 Conteúdo de Flavonóides - Método da Catequina

Na Figura 4 são apresentados os resultados da avaliação do conteúdo de flavonóides totais em 15 tipos de chás oriundos de diferentes espécies de plantas. O chá de hortelã apresentou a maior média, que não diferiu da erva mate, que por sua vez não diferiu da terceira e quarta maiores médias, carqueja e marcela, respectivamente.

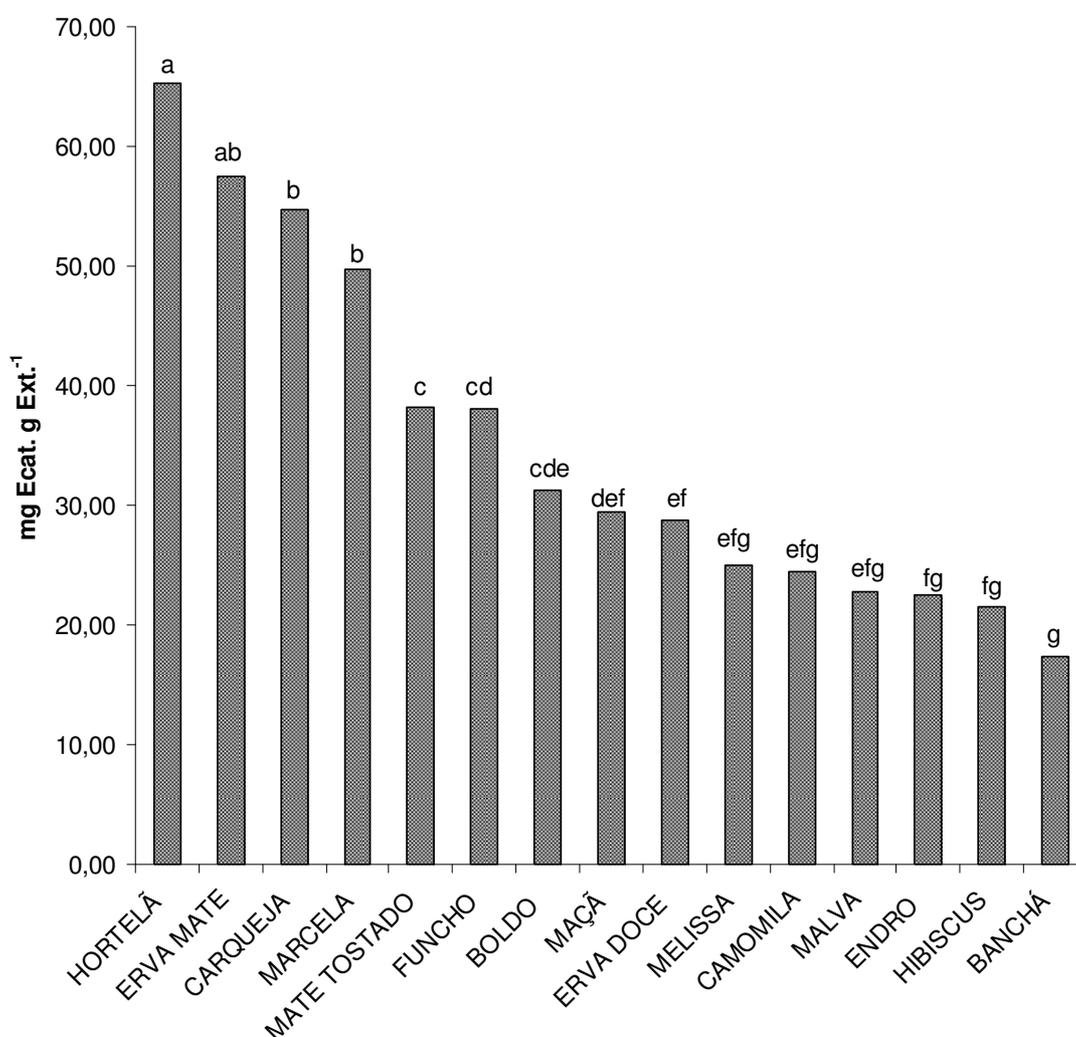


Figura 4. Conteúdo de Flavonóides Totais, pelo método da catequina, em 15 tipos diferentes de chás. *Barras seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Observa-se que este grupo de chás (hortelã, erva mate, carqueja e marcela) apresenta valores significativamente maiores do que os demais chás avaliados, formando um grupo distinto em relação ao conteúdo de flavonóides totais. Os chás de mate tostado, funcho e boldo podem ser considerados um grupo intermediário, enquanto os demais chás (maçã, erva doce, melissa, camomila, malva, endro, hibiscus e banhcá) apresentam-se como o grupo de menores valores de flavonóides totais.

Segundo Hertog, Hollman e Venema (1992), o conteúdo de flavonóides totais é composto basicamente pelos flavonóis quercetina, campferol e miricetina, os quais são encontrados prioritariamente em folhas, frutos e outras partes aéreas dos vegetais utilizados na fabricação da bebida chá, podendo algumas dessas plantas apresentar alto poder antioxidante ao mesmo tempo em que não apresenta presença desses flavonóides.

Moraes-de-Souza (2007) avaliou propriedades bioativas de 10 espécies de plantas utilizadas na fabricação de chás no Brasil, entre elas o funcho, anis, erva mate, camomila, melissa, menta, hortelã, capim-cidreira, chá verde e chá preto. O autor determinou o conteúdo de flavonóides nas plantas que apresentaram maior atividade antioxidante (método DPPH), as quais foram camomila, chá preto, chá verde e funcho, encontrando o maior conteúdo no chá preto (11,38 mg g⁻¹), seguido do chá verde (9,64 mg g⁻¹), da camomila (5,38 mg g⁻¹), e do funcho (4,07 mg g⁻¹). Os resultados do presente trabalho coincidem para os chás oriundos da *Camellia sinensis* [chá verde (28,43 mg g⁻¹) e preto (30,04 mg g⁻¹)], porém são contrários em relação aos chás de camomila (6,14 mg g⁻¹) e funcho (3,13 mg g⁻¹).

A Figura 5 apresenta o resultado da avaliação do teor de flavonóides totais nos extratos obtidos dos diferentes chás oriundos da planta *Camellia sinensis*. Nesta avaliação o chá branco apresentou a maior média, significativamente superior aos demais chás. Os chás preto, amarelo e verde, em ordem decrescente de valor, apresentaram médias semelhantes entre si, e maiores que o chá vermelho.

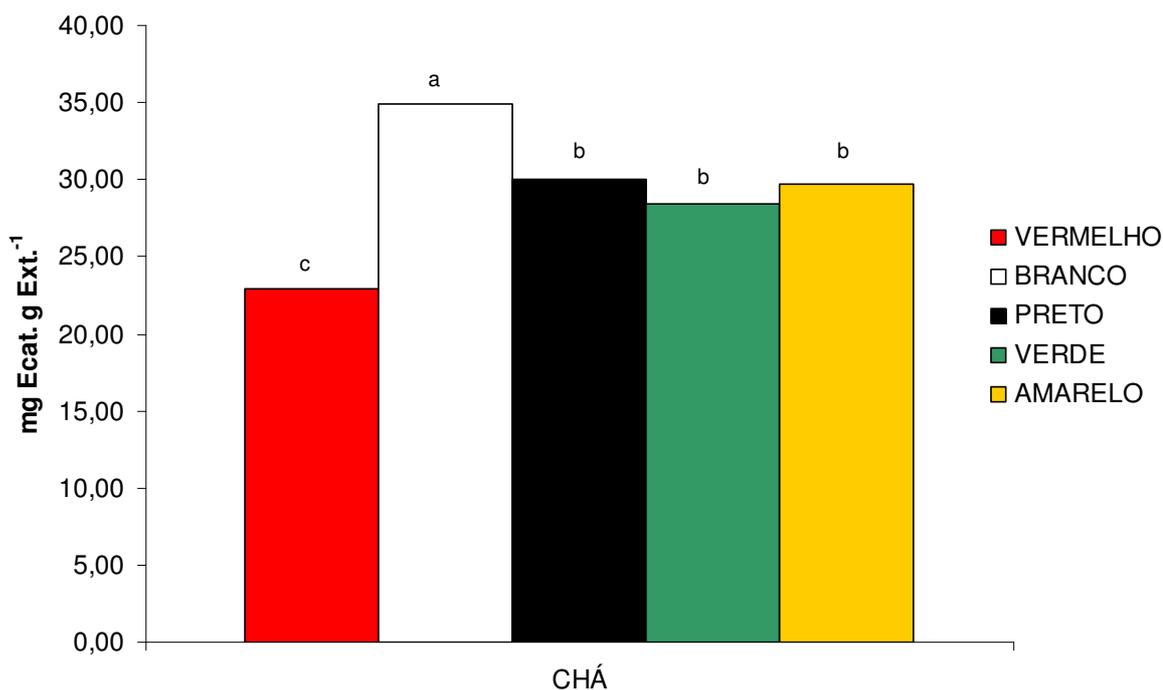


Figura 5. Conteúdo de Flavonóides Totais em cinco tipos de chá oriundos da planta *Camellia sinensis*. *Barras seguida de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os diferentes métodos de processamento e fabricação de chá a partir da planta *Camellia sinensis* exercem forte influencia nos teores de compostos fenólicos e flavonóides, como já foi constatado em outros trabalhos (KODAMA et al., 2010; PEREIRA et al., 2009; MORAES-de-SOUZA, 2007). Os flavonóides são compostos polifenólicos biossintetizados (DORNAS et al., 2007), e são subdivididos em classes, entre elas as flavonas, flavonóis, chalconas, flavanonas, e flavanas (BRAVO, 1998), sendo os flavonóis canferol, quercetina, e miricetina os mais abundantemente encontrados em vegetais como a *Camellia sinensis* (FENNEMA, 1992).

Fatores ambientais, como sazonalidade, radiação, temperatura, altitude e umidade podem influenciar o metabolismo vegetal, e indiretamente podem alterar a produção de compostos químicos pelas plantas (SANTOS et al., 2009; SIQUEIRA et al., 2007). Condições de estresse para as plantas também podem causar distúrbios no metabolismo vegetal e proporcionar a produção de substâncias de defesa, ao invés de outras que seriam produzidas em condições normais, como os flavonóides e polifenóis (DICKE & HILKER, 2003). Desta maneira, para realizar comparações

consistentes entre os diferentes tipos de chás, é necessário saber a autenticidade da origem de cada matéria prima (ENGELHARDT, 2007).

O chá branco, por conservar as características originais das folhas e talos jovens da planta, e por não sofrer processo de oxidação e/ou fermentação, como ocorre nos demais tipos de chás, concentra além de maior conteúdo de polifenóis totais (Figura 6), maior conteúdo de flavonóides totais (Figura 4), considerando todos os seus componentes, como já fora apresentado por Hilal & Hengelhardt, (2007).

5.3 Determinação do Teor de Polifenóis Totais

O resultado da avaliação do conteúdo de polifenóis totais em 9 tipos de chás é apresentado na Figura 6.

A avaliação do conteúdo de polifenóis totais foi determinada a partir da divisão das plantas utilizadas como chás em dois grupos principais, conforme a diluição empregada na metodologia para realizar as leituras de absorvância. Tal procedimento foi necessário devido a impossibilidade de leitura dos valores de absorvância de cada extrato pelo equipamento, dificultando de certa maneira a comparação dos resultados entre todas as plantas avaliadas.

Assim, um grupo de 9 plantas foi avaliado na diluição de 1:30 (Figura 6), onde o chá branco apresentou isoladamente e estatisticamente o maior conteúdo de polifenóis totais, com 53,27 mg EAG g extrato⁻¹.

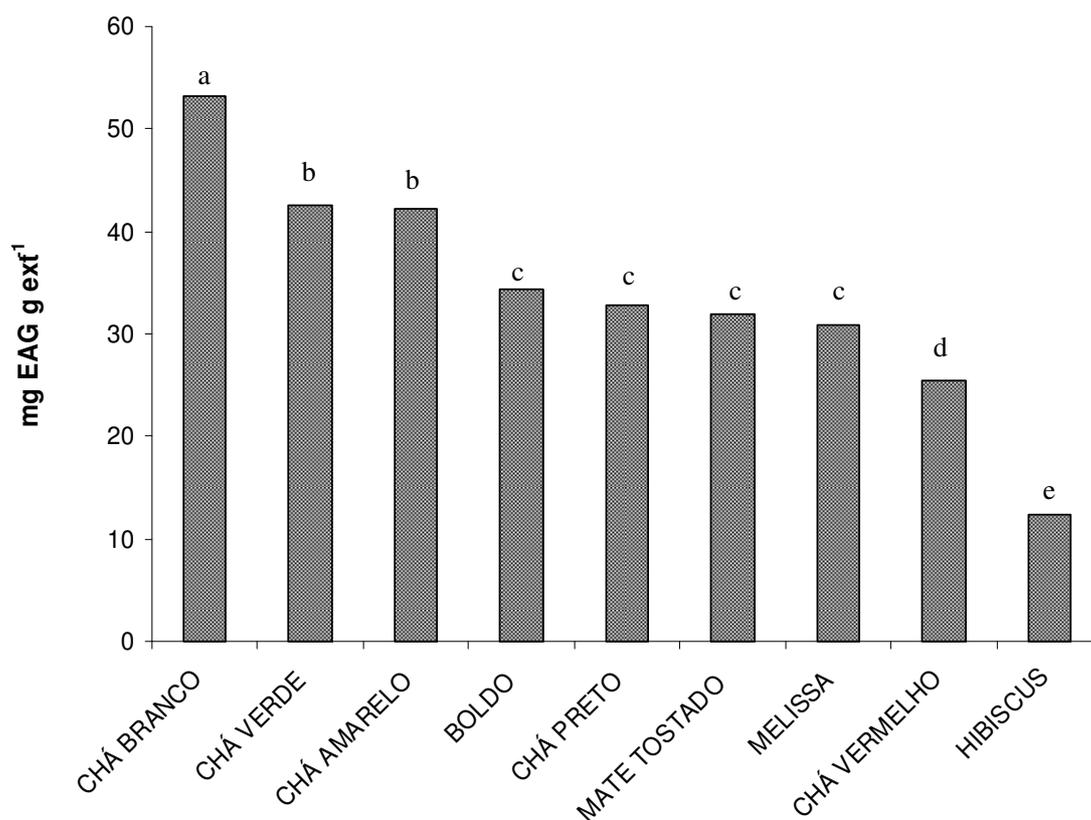


Figura 6. Conteúdo de Polifenóis Totais em 9 tipos de chás. *Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Em seguida, chá verde e chá amarelo apresentaram a segunda e terceira maior concentração de polifenóis totais, com $42,62 \text{ mg EAG g extrato}^{-1}$ e $42,20 \text{ mg EAG g extrato}^{-1}$, respectivamente, e semelhantes entre si perante a estatística. Boldo, chá preto, mate tostado e melissa que apresentaram os valores de $34,30$; $32,86$; $31,95$ e $30,94 \text{ mg EAG g extrato}^{-1}$, respectivamente, foram semelhantes entre si, e superiores ao chá vermelho ($25,54 \text{ mg EAG g extrato}^{-1}$) e ao hibiscus ($12,34 \text{ mg EAG g extrato}^{-1}$) que apresentou a menor de todas as médias.

Diversos fatores podem interferir na concentração de compostos fenólicos das plantas, como por exemplo, as condições de solo e clima onde as mesmas foram cultivadas, as condições fisiológicas das plantas durante seu ciclo de crescimento, a maneira da preparação da planta para a extração, o tempo da infusão (PEREIRA et al., 2009) o processo de extração, e a metodologia *in vitro* utilizada para a identificação do seu conteúdo (MADSEN; BERTELSEN, 1995).

HILAL & HENGELHARDT (2007) compararam resultados da literatura que avaliaram diversos componentes e características dos chás verde, preto e branco. Os resultados médios apontaram que o chá branco apresenta maior conteúdo de polifenóis totais e catequinas do que o chá preto e verde, coincidindo com o que foi encontrado e apresentado na figura 6.

Na Figura 7 é apresentado o resultado do conteúdo de polifenóis totais em 12 plantas utilizadas na fabricação da bebida chá.

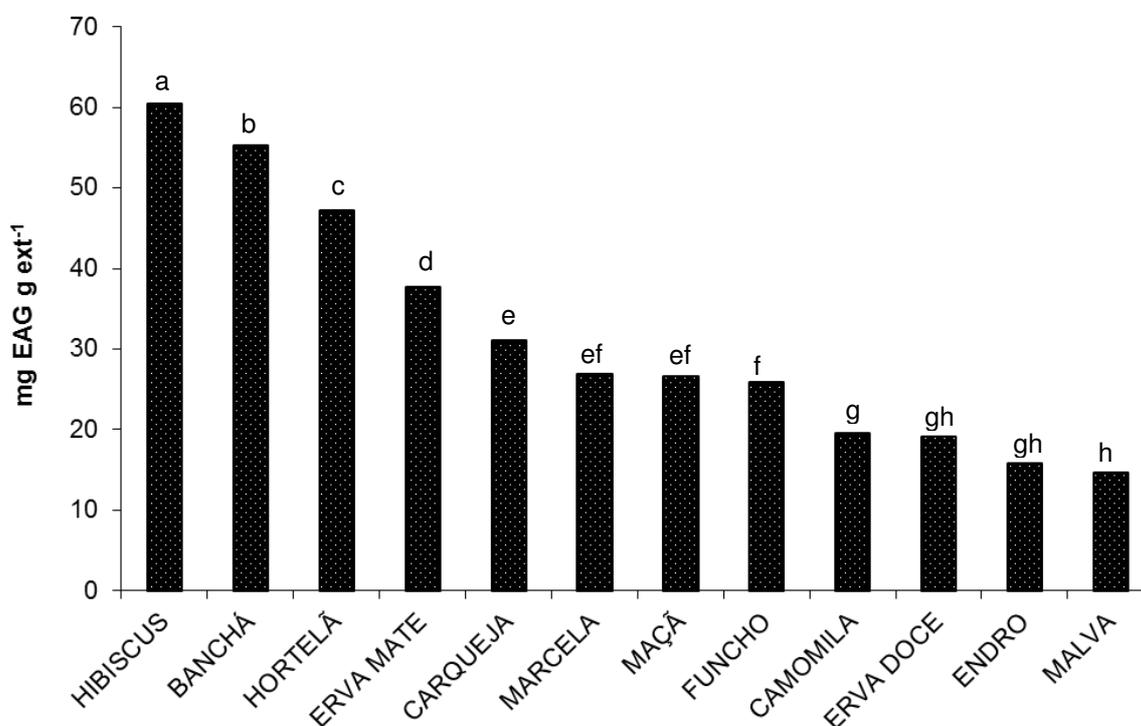


Figura 7. Conteúdo de Polifenóis Totais em chás de 12 espécies de plantas. *Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Este grupo abrangeu as plantas em que foi utilizada a diluição de 1:05 na metodologia empregada para a determinação do seu conteúdo. O extrato de hibiscus apresentou significativamente o maior conteúdo de polifenóis totais (60,46 mg EAG g extrato⁻¹), seguido do banchá (55,32 mg EAG g extrato⁻¹), que diferiu estatisticamente do chá de hortelã (47,2 mg EAG g extrato⁻¹), que por sua vez, foi maior que a erva mate (37,8 mg EAG g extrato⁻¹). Carqueja (31,1 mg EAG g extrato⁻¹).

¹), marcela (26,99 mg EAG g extrato⁻¹) e maçã (26,71 mg EAG g extrato⁻¹) foram semelhantes entre si e superiores aos chás de erva doce (19,13 mg EAG g extrato⁻¹), endro (15,88 mg EAG g extrato⁻¹) e malva (14,74 mg EAG g extrato⁻¹), que apresentaram o menor conteúdo de polifenóis totais entre todas as plantas avaliadas.

Asolini et al. (2006) avaliaram o conteúdo de polifenóis totais em extratos de chás obtidos de diferentes tipos de plantas (arruda, camomila, macela, erva mate, alcachofra, tansagem, malva, salvia, capim limão, e alecrim). As maiores concentrações de compostos fenólicos foram encontradas na erva mate, macela, alecrim e malva, coincidindo em parte com os resultados obtidos no presente trabalho, pois se for considerado a comparação entre os chás que foram avaliados na figura 7 (erva mate, macela e malva), observa-se que a erva mate apresenta-se na faixa de maior conteúdo de polifenóis totais, enquanto a malva apresenta-se como a planta com menor conteúdo.

5.4 Atividade Antioxidante Avaliada pelo Método DPPH

Os resultados da avaliação de atividade antioxidante pelo método DPPH necessitaram de vários testes prévios para que fosse possível enquadrar cada planta utilizada na produção de chá em uma determinada faixa de diluição, para que assim sua curva de comportamento antioxidante em função da concentração na solução ficasse visível em comparação com a curva do ácido ascórbico, que foi o reagente utilizado na metodologia empregada. Foi necessária, após a realização dos testes prévios, a classificação das plantas em quatro grupos de diluição, conforme pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2. Grupos de diluição, plantas utilizadas como chás e concentração na solução necessária para proceder à determinação da curva de ação antioxidante.

Grupo de Diluição	Plantas (nome comum)	Diluição	Concentração na Solução (mg L ⁻¹)
1	Maçã, Camomila, Erva Doce, Marcela, Carqueja	1	500
		2	200
		3	100
		4	66,6
		5	50
		6	40
2	Mate Tostado, Boldo, Melissa	1	50
		2	20
		3	12,5
		4	9,1
		5	7,1
		6	5,9
3	Chá Amarelo, Chá Verde	1	10
		2	6,6
		3	5
		4	4
		5	3,3
		6	2,8
4	Cidreira, Endro	1	500
		2	200
		3	125
		4	90,1
		5	71,4
		6	58,9

No grupo 1 estão a Maçã, Camomila, Erva Doce, e Marcela. No grupo 2 Mate Tostado, Melissa e Boldo. O grupo 3 é composto pelo Chá Verde e o Chá Amarelo, e o grupo 4 pelo Endro e pela Cidreira. Para as plantas restantes foram necessárias diluições próprias, para que fosse possível fazer a determinação de DPPH conforme pode ser visto na Tabela 3.

Tabela 3. Diluição de extratos de plantas utilizadas como chás e concentração na solução necessária para proceder a determinação da curva de ação antioxidante.

Plantas (nome comum)	Diluição	Concentração na Solução (mg L ⁻¹)	Plantas (nome comum)	Diluição	Concentração na Solução (mg L ⁻¹)
Chá Branco	1	6,6	Erva Mate	1	100
	2	5		2	66,6
	3	4		3	50
	4	3,3		4	40
	5	2,8		5	33,3
	6	2,5		6	28,5
Chá Preto	1	20	Funcho	1	200
	2	10		2	100
	3	6,6		3	66,6
	4	5		4	50
	5	4		5	40
	6	3,3		6	33,3
Chá Vermelho	1	20	Hortelã	1	200
	2	12,5		2	66,6
	3	9,1		3	40
	4	7,1		4	28,5
	5	5,8		5	22,2
	6	5		6	18,1
Banchá	1	100	Hibisco	1	71,4
	2	33,3		2	55,5
	3	20		3	45,4
	4	14,3		4	38,4
	5	11,1		5	33,3
	6	9,1		6	29,4
Malva	1	500			
	2	250			
	3	166,6			
	4	125			
	5	100			
	6	83,3			

Na Figura 8 é apresentada a curva de seqüestro de DPPH obtida com a solução padrão de ácido ascórbico, realizada para a calibração das leituras com os demais extratos avaliados no trabalho.

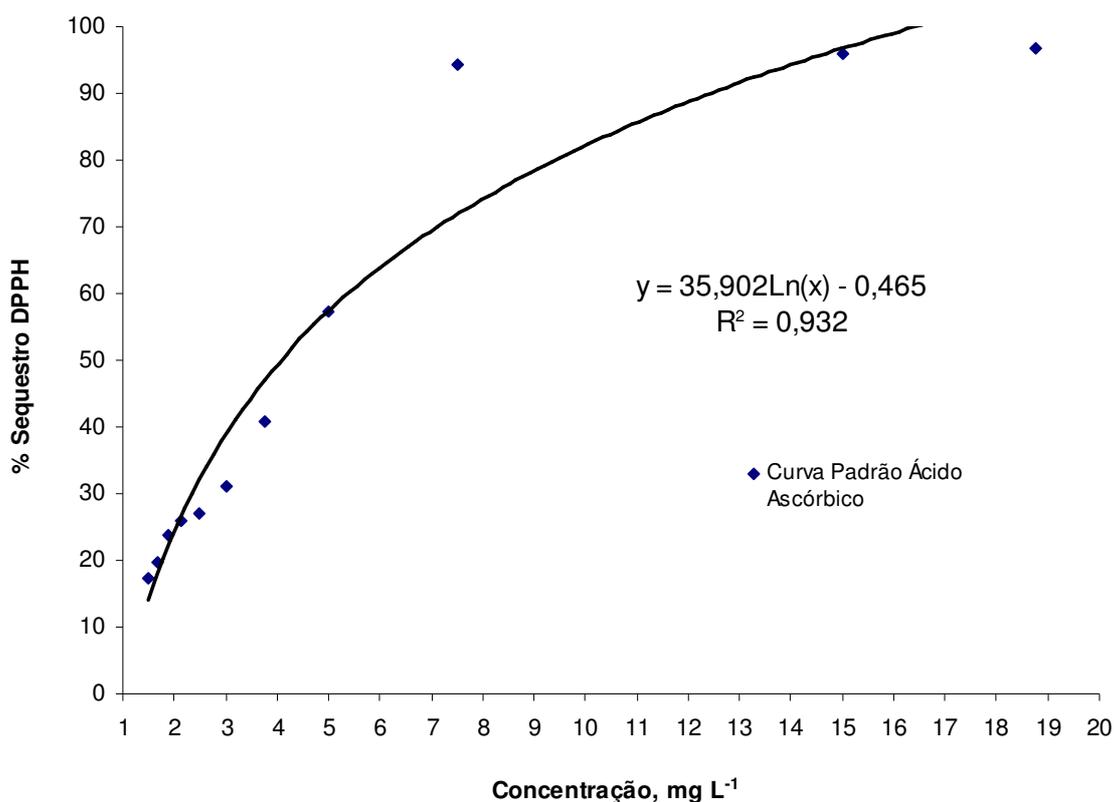


Figura 8. Curva padrão de porcentagem de seqüestro do radical DPPH pelo ácido ascórbico. Regressão Não Linear.

Diversos tipos de reagentes tem sido utilizados na literatura para se obter a curva padrão de seqüestro de radical DPPH, entre eles ácido gálico (SOUZA et al, 2007), ácido linoléico (DUARTE-ALMEIDA et al, 2006), +- catequina, BHA (PEREIRA, 2009), e o ácido ascórbico (NAMITA et al, 2012), este último utilizado no presente trabalho. Todos os reagentes devem ter como característica elevada correlação entre sua concentração na solução e o seqüestro de radical DPPH.

A concentração efetiva 50 (EC50), que expressa a concentração mínima de antioxidante necessária para reduzir em 50 % a concentração inicial de DPPH, para os chás avaliados no presente trabalho, é apresentada na Tabela 4. Os valores de EC50 foram obtidos através de equações lineares oriundas das curvas de seqüestro de DPPH plotadas para cada tipo de chá, sendo que estas equações e seus respectivos Coeficientes de Determinação (R^2) são também apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Equação da Reta, Coeficiente de Determinação e valor de EC50 para chás obtidos de diferentes plantas, partes de plantas e processos de fabricação.

Chá	Equação da Reta	R ²	EC ₅₀ (mg L ⁻¹)
Maçã	Y = 0,1303x + 40,587	0,7221	72,20
Erva Doce	y = 0,122x + 39,072	0,6328	89,57
Carqueja	y = 0,0897x + 51,233	0,5129	13,70
Camomila	y = 0,1355x + 33,69	0,7155	120,37
Marcela	y = 0,0899x + 56,08	0,5176	67,60
Mate	y = 0,6987x + 63,712	0,4261	19,62
Boldo	y = 0,6861x + 65,2	0,4724	22,15
Melissa	y = 0,378x + 75,905	0,3450	68,53
Cidreira	y = 0,0952x + 38,654	0,5490	119,18
Endro	y = 0,1331x + 28,246	0,6840	163,44
Amarelo	y = 3,956x + 60,45	0,7197	2,64
Verde	y = 5,9251x + 40,24	0,8590	1,64
Branco	y = 7,0923x + 53,05	0,7518	0,43
Preto	y = 2,8488x + 44,25	0,7203	5,87
Vermelho	y = 3,4052x + 31,09	0,8796	5,55

Como pode ser observado, os chás oriundos da planta *Camellia sinensis* apresentaram os menores valores de EC50, comprovando que estes possuem elevado poder antioxidante mesmo em baixas concentrações nos extratos. Entre este grupo de chás, o chá branco foi o que mais apresentou poder antioxidante (EC50 = 0,43 mg L⁻¹), seguido do chá verde (EC50 = 1,64 mg L⁻¹) e do chá amarelo (EC 50 = 2,64 mg L⁻¹). Os chás preto e vermelho apresentaram valores bastante próximos, EC50 = 5,87 e 5,55 mg L⁻¹, respectivamente. Os resultados obtidos corroboram os encontrados por Pereira (2009), que constatou maior poder de seqüestro de radical DPPH e EC50 no extrato de chá verde, seguido do extrato de erva mate. Moraes-de-Souza (2007), também avaliou o poder antioxidante de extratos de diferentes chás, e encontrou maior EC50 nos extratos de chá verde seguido do chá preto. Os demais chás avaliados na Tabela 4 apresentaram valores elevados de EC50, com exceção do chá de carqueja (EC50 = 13,70 mg L⁻¹), mate (EC50 = 19,62 mg L⁻¹), e boldo (EC50 = 22,15 mg L⁻¹).

Na figura 9 é apresentado o resultado da avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH, para os chás do grupo 1 de diluição.

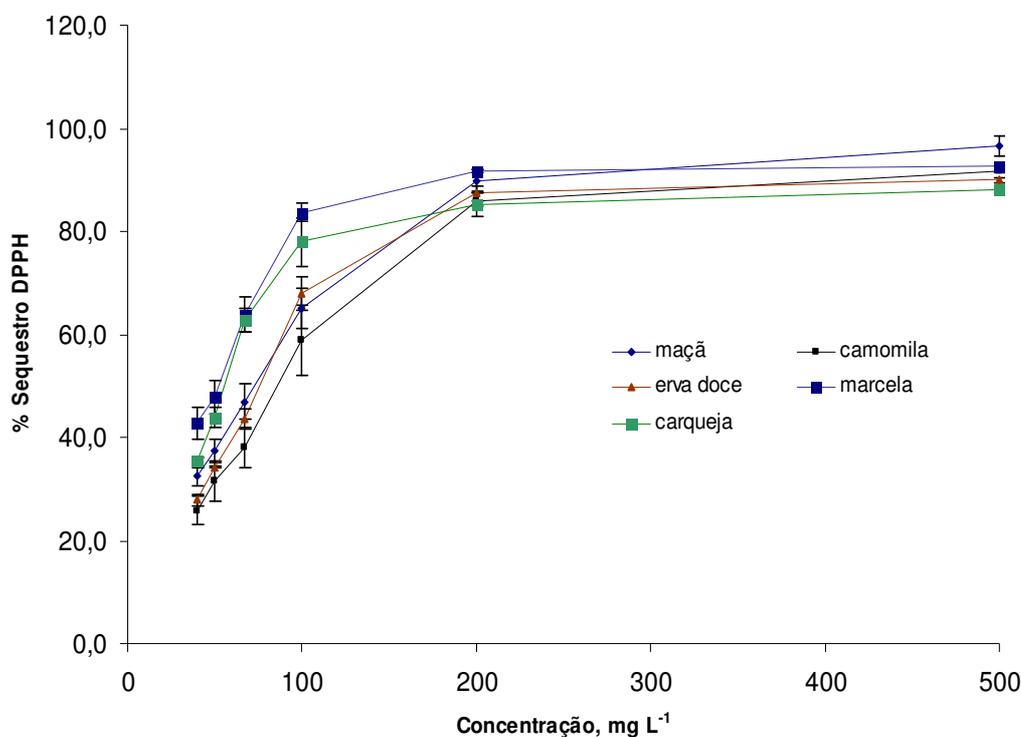


Figura 9. Atividade Antioxidante avaliada pela % de Seqüestro do Radical DPPH, nos extratos de chás de maçã, camomila, erva doce, marcela e carqueja. *Resultados apresentados como média e desvio padrão.

Este grupo de chás (Grupo 1 – Tabela 2) apresentou as menores médias de atividade antioxidante, de maneira que foi preciso elevar a concentração dos extratos em proporções bem maiores do que os outros chás, para poder realizar as leituras do seqüestro de DPPH. Não houve diferença significativa na avaliação da atividade antioxidante dentro deste grupo de chás, o que reforça as referências encontradas na literatura que citam estas espécies de plantas na fabricação de chás com outras finalidades medicinais, excluindo os benefícios advindos do seqüestro de radicais livres no organismo (DEGASPARI et al, 2002; LEITAO et al, 2006; LUCCA et al, 2010).

Como neste grupo todas as avaliações foram realizadas com as mesmas concentrações dos extratos na solução, foi possível realizar teste estatístico com as

médias para verificar a existência de diferenças significativas, porém as mesmas não foram constatadas pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Na Figura 10 pode ser observado o resultado da avaliação da atividade antioxidante dada pela % de seqüestro do radical DPPH no segundo grupo de diluição (Tabela 2).

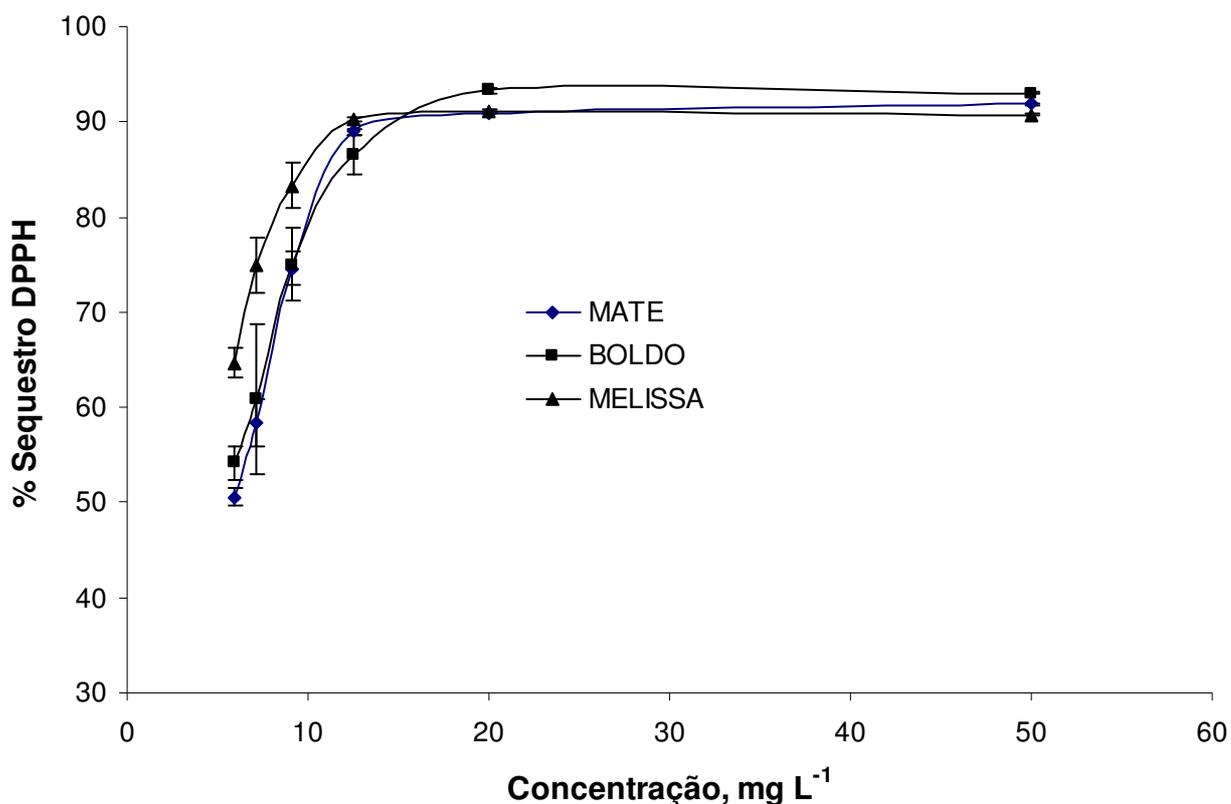


Figura 10. Atividade Antioxidante avaliada pela % de Seqüestro do Radical DPPH, nos extratos de chá mate, boldo e melissa. *Resultados apresentados como média e desvio padrão.

Não houve diferença significativa entre os chás avaliados neste grupo quanto à atividade antioxidante, de maneira semelhante ao que foi obtido pelo grupo 1 de diluição (Figura 9). Zeraik et al. (2008) avaliaram e compararam a atividade antioxidante do chá mate com garapa de cana de açúcar e suco de maracujá, e encontraram maior potencial de seqüestro de radical DPPH no extrato do chá mate (12,5 a 89,6 %), na faixa de concentração entre 52 e 82,7 mg L⁻¹, ou seja, condizente com os resultados apresentados por este chá na Figura 10.

Souza (2009) avaliou os compostos bioativos do chá mate e sua ação antioxidante e concluiu que este é uma excelente fonte de compostos bioativos com atividade biológica, porém encontrou variação da concentração de compostos bioativos em função da marca comercial analisada. Essa variação, no entanto, não influenciou na atividade antioxidante da bebida, avaliada pelo método DPPH.

O chá de boldo tem sido relatado na literatura como um excelente agente contra males e distúrbios do trato digestivo, má digestão, distúrbios hepáticos, manifestações reumáticas e inflamações urinárias (MORAIS et al, 2009), mas também apresenta consideráveis teores de componentes bioativos, como quercetina, canferol e eugenol (MATSUBARA et al., 2006), o que lhe confere a atividade antioxidante semelhante ao chá mate, como fora constatado na Figura 10.

O chá de melissa apesar de apresentar atividade antioxidante semelhante ao chá mate e ao chá de boldo, avaliado pelo método do seqüestro de radical DPPH, tem sido mais relatado em estudos como uma bebida com propriedades calmantes e soníferas, do que propriamente um potencial agente na prevenção de oxidação celular.

Na Figura 11 é apresentado o resultado da avaliação do seqüestro de radical DPPH para os chás de endro e cidreira. Houve diferença estatística significativa apenas na diluição 1 e 2, onde o chá de endro apresentou média superior ao chá de cidreira. Como pode ser observado pelos valores elevados da concentração dos extratos e pelos valores de % de seqüestro de radical DPPH, em comparação com os demais chás avaliados nas figuras 10 e 12, esses dois tipos de chá apresentam baixos potenciais de atividade antioxidante, condizendo com estudos anteriores sobre essas plantas, onde as mesmas são mais relacionadas a outras propriedades, como tranqüilizante, sonífero e auxiliar ao controle de distúrbios gastrointestinais (MORAIS et al., 2009).

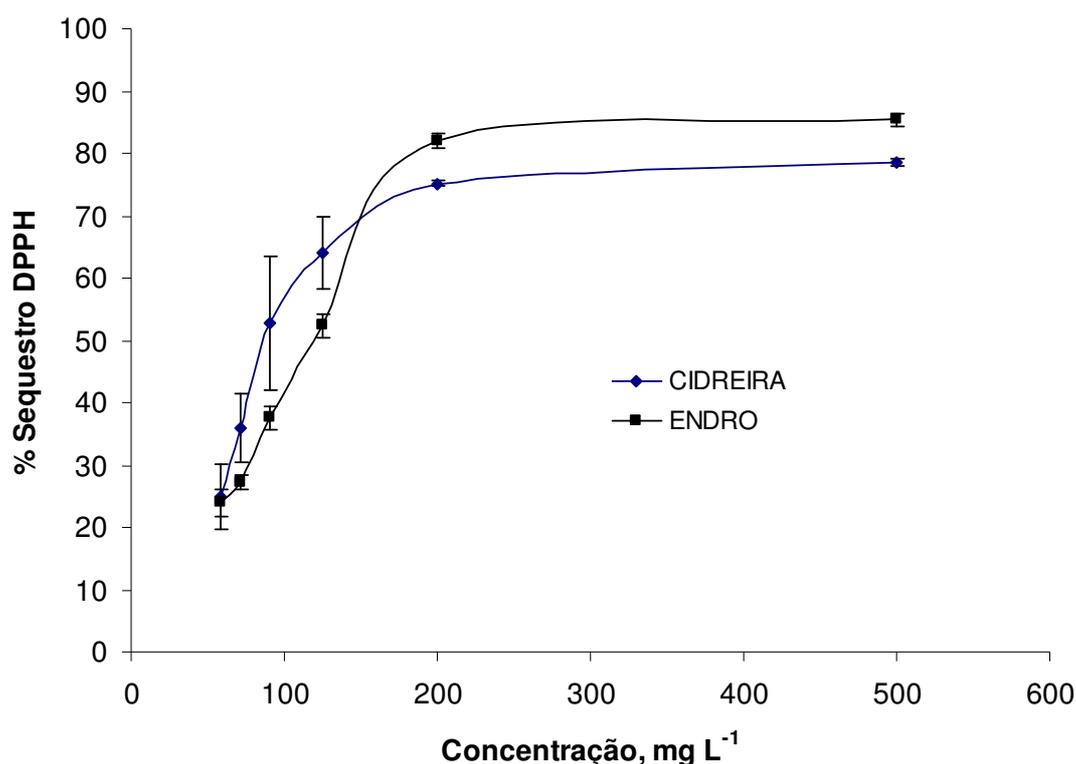


Figura 11. Atividade Antioxidante avaliada pela % de Seqüestro do Radical DPPH, nos extratos de cidreira e de endro. *Resultados apresentados como média e desvio padrão.

O endro é uma planta largamente utilizada como condimento ou especiaria, sendo seu consumo realizado “in natura” ou adicionado a outros alimentos, com a finalidade de retardar oxidação lipídica, como comprovado por Ravelli (2011), que testou a adição de extratos de diferentes condimentos e especiarias ao óleo refinado de soja. Moraes-de-Souza et al., (2005) relata que os principais componentes da maioria das especiarias e condimentos consumidos no Brasil são os flavonóides, especialmente os flavonois e os glicerídeos, sendo que para os flavonóides totais (Figura 5) ocorre a presença deste componente no chá de endro, embora em valores baixos em relação aos demais chás.

Na Figura 12 é apresentado o resultado da avaliação da porcentagem de seqüestro do radical DPPH nos chás oriundos da planta *Camellia sinensis*.

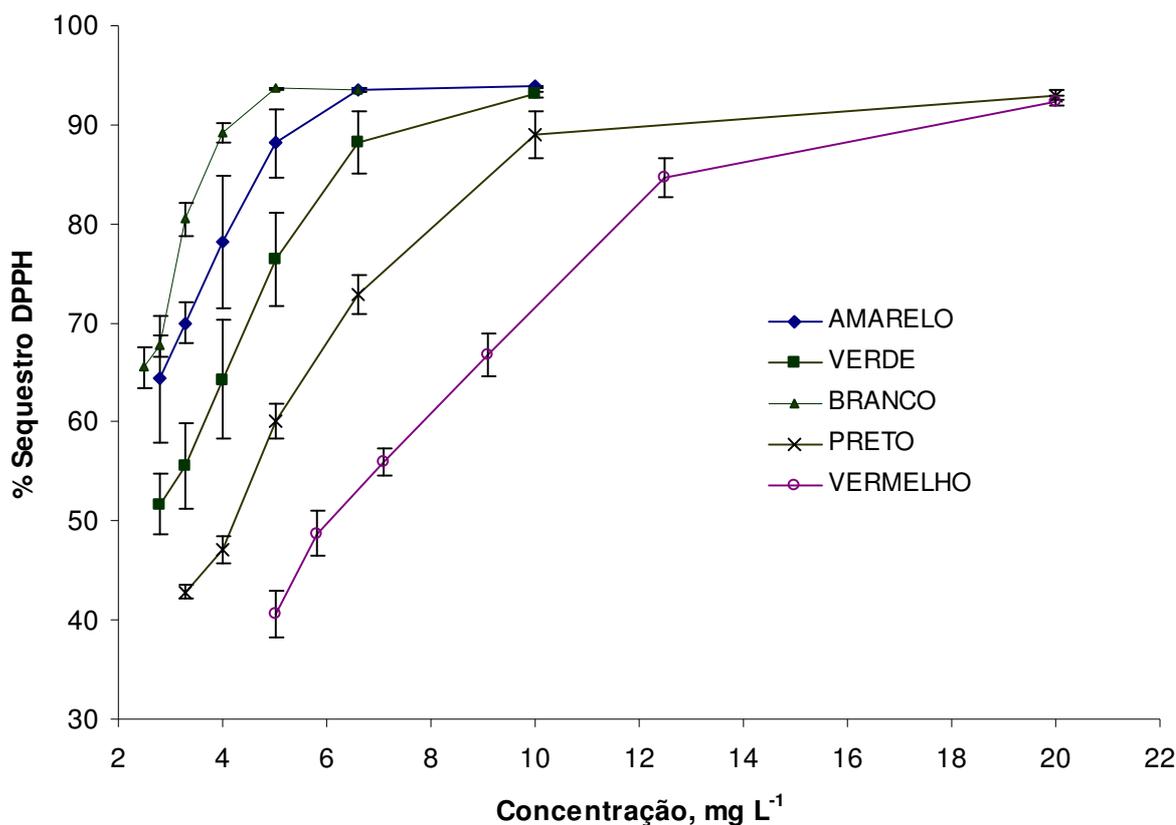


Figura 12. Atividade Antioxidante avaliada pela % de Seqüestro do Radical DPPH, nos extratos de chá amarelo, chá preto, chá branco, chá vermelho e chá verde. *Resultados apresentados como média e desvio padrão.

O chá preto e o chá vermelho foram avaliados em extratos mais concentrados, em relação aos demais chás, devido a sua curva de calibração utilizada para realizar as leituras de absorbância. Mesmo assim, apresentaram menor potencial de seqüestro do radical DPPH em relação aos demais chás. O chá verde apresentou curva de resultado intermediário aos chás preto e vermelho, e branco e amarelo, respectivamente. O chá branco foi o que apresentou a curva mais significativa em relação ao seqüestro de DPPH, seguido pelo chá amarelo.

Estudos comparando diretamente o potencial antioxidante dos chás estudados no presente trabalho são raros. Pereira (2009) comparou extratos de chá verde, macela, erva mate e própolis e encontrou maior potencial antioxidante pelo método DPPH no extrato de chá verde. Diversos fatores influenciam a qualidade do chá e os teores dos seus compostos bioativos, ditos antioxidantes, como por exemplo, as práticas agrônômicas realizadas durante a fase produtiva da planta,

especialmente em relação ao chá verde (LIMA et al, 2004; WANG et al, 1996), sendo esta uma hipótese viável para explicar o comportamento apresentado por este chá na figura 4. Outro fator determinante dos resultados apresentados por cada chá diz respeito ao tempo de infusão que cada erva é submetida (NISHIYAMA et al, 2010), podendo também influenciar os resultados da Figura 4.

A preservação das características originais dos brotos jovens, durante o processo de produção e a concentração elevada de compostos bioativos nestes brotos ou folhas jovens, levam a resultados superiores de atividade antioxidante no chá branco, como fora evidenciado em todas as avaliações realizadas no presente trabalho, acordando com resultados de literatura apontados por Hilal & Hengelhardt, (2007) e Rusak et al., (2008).

5.5 Relações entre os indicadores de Ação Antioxidante

A relação obtida dos dados médios de flavonóides totais e do conteúdo de polifenóis totais nos chás oriundos da planta *Camellia sinensis* é apresentado na Figura 13.

Analisando a figura 13, observa-se que a relação obtida foi significativa, indicando haver nessas espécies de plantas avaliadas utilizadas na fabricação de chá, boa quantidade de seus polifenóis representada pelos flavonóides totais. Lamarao & Fialho (2009) citam que aproximadamente 30 % dos polifenóis totais dos chás oriundos da planta *Camellia sinensis* são representados pelos flavonóides totais.

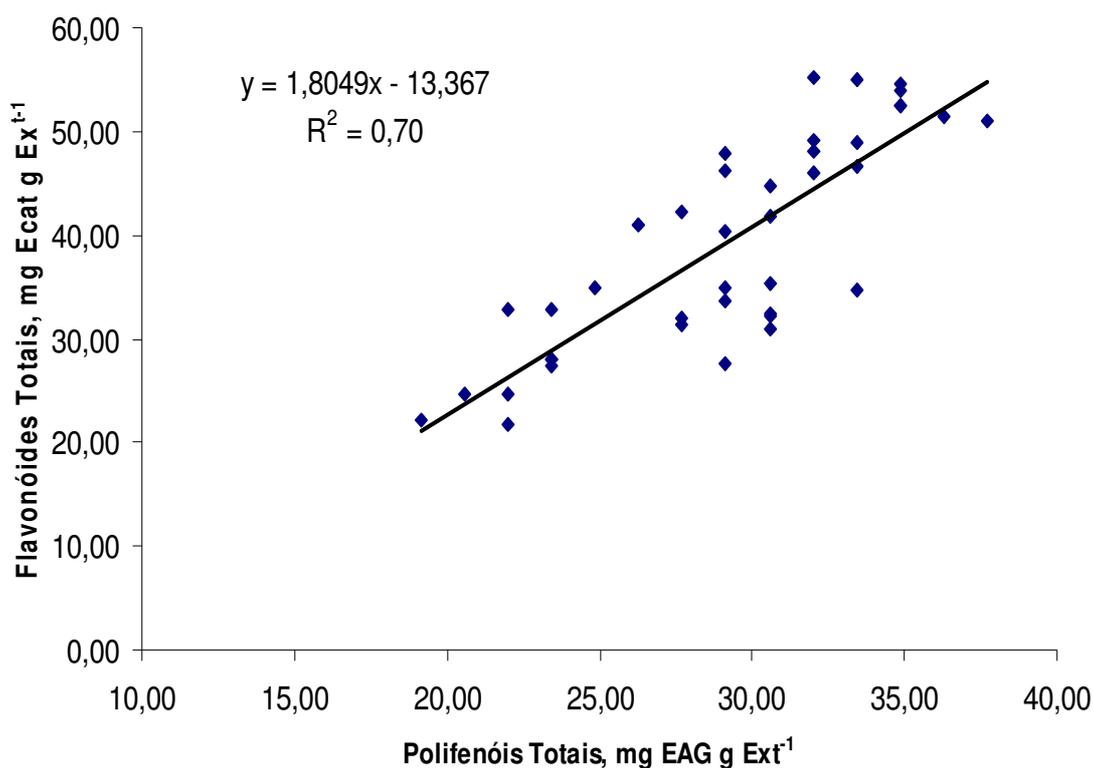


Figura 13. Relação entre o conteúdo de Flavonóides Totais e Polifenóis Totais, obtido de dados médios de chás oriundos da planta *Camellia sinensis*.

Na Figura 14 é apresentada a relação obtida entre o conteúdo de flavonóides totais e a porcentagem de atividade quelante de íons ferroso, nos chás obtidos da planta *Camellia sinensis*. Pelo exposto observa-se que estas duas variáveis são completamente independentes, não exercendo influência da presença de uma sobre a outra.

A relação encontrada na Figura 14 foi insignificante provavelmente devido à constituição química da planta avaliada para a produção de chá, no caso, a *Camellia sinensis* e o mecanismo de como ocorre a quelação do ferro. Os principais agentes promotores de quelação de ferro são citados como os terpenos (mono e diterpenos) e terpenóides (LADO et al, 2004) e também pode ser relacionado em função da concentração de quercetina, kempferol e compostos voláteis, sendo que estes compostos não foram quantificados no presente trabalho, e assim impossibilitando a afirmação consistente de que razão ocorre para este resultado.

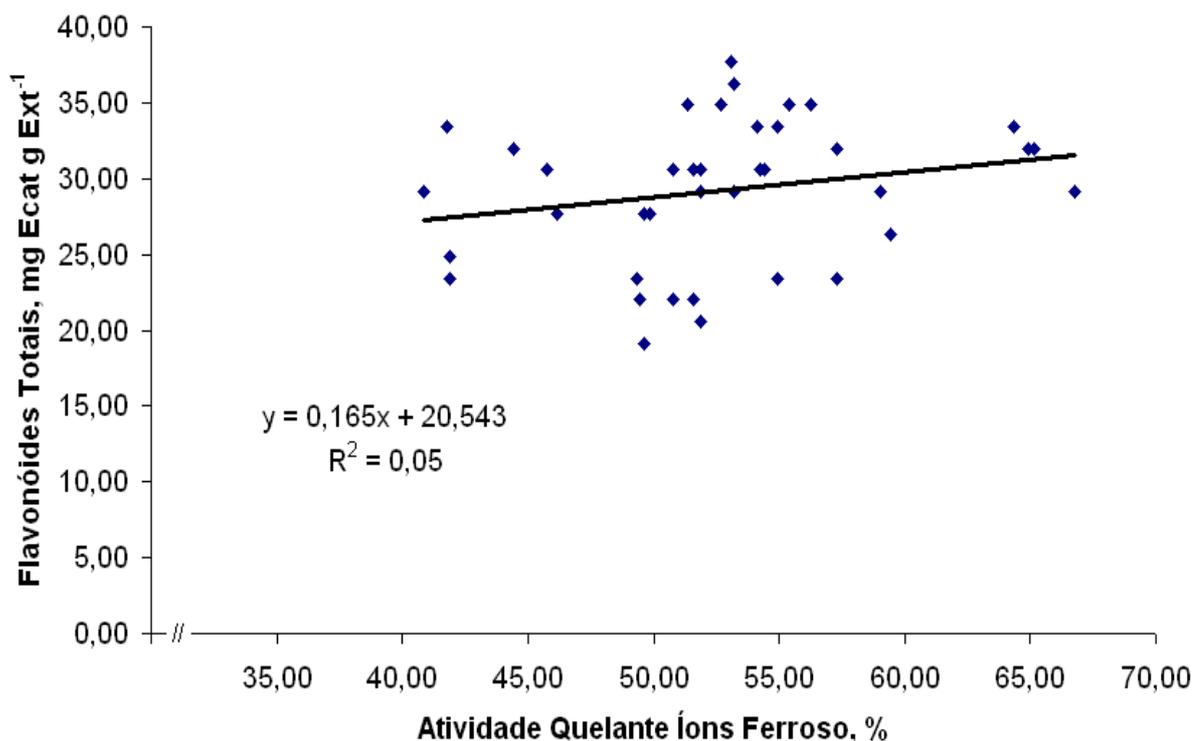


Figura 14. Relação entre o conteúdo de Flavonóides Totais e Atividade Quelante de Íons Ferroso, obtido de dados médios de chás oriundos da planta *Camellia sinensis*.

De maneira semelhante à Figura 14, a relação entre os dados de polifenóis totais e de atividade quelante de íons ferroso, obtida através dos dados médios obtidos dos chás da planta *Camellia sinensis* (Figura 15), foi muito baixa, o que infere e reforça a necessidade de quantificar e especificar os elementos constituintes dos extratos de chás a serem avaliados. Tal necessidade é reforçada pelas conclusões de MATSUBARA & RODRIGUES-AMAYA (2006), que avaliaram o conteúdo de quercetina, miricetina, e kaempferol em chás comercializados no Brasil.

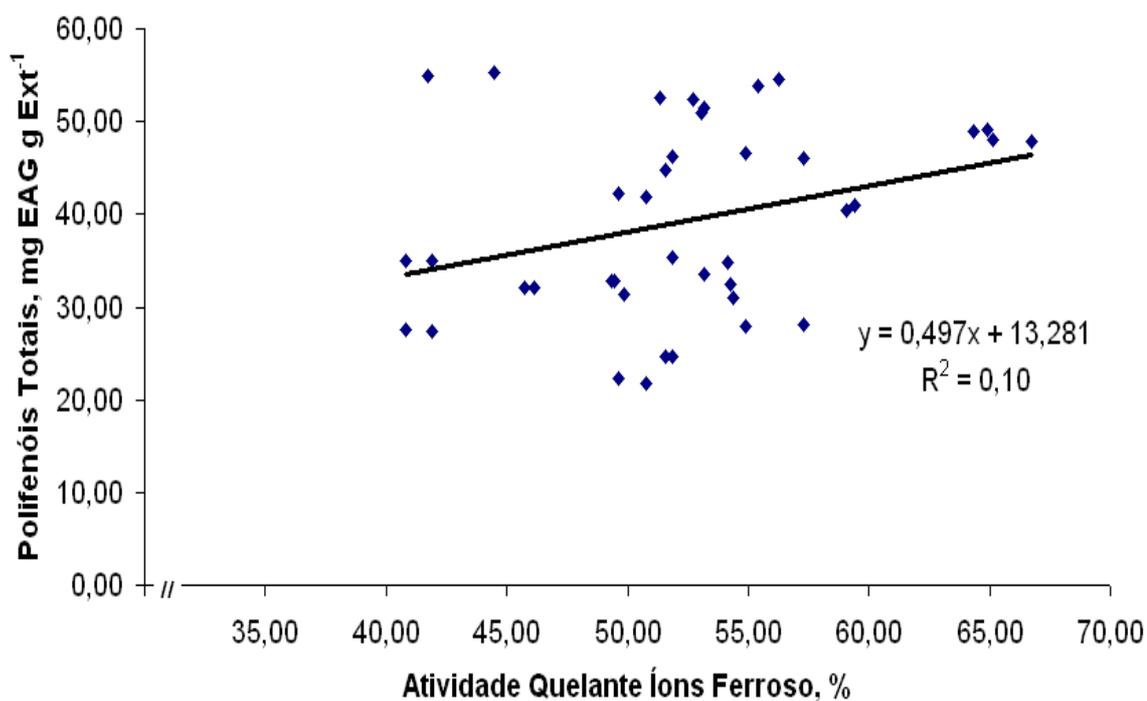


Figura 15. Relação entre o conteúdo de Polifenóis Totais e Atividade Quelante de Íons Ferroso, obtido de dados médios de chás oriundos da planta *Camellia sinensis*.

Na Figura 15, assim como na Figura 14, observa-se que a relação obtida também não apresentou coeficiente de correlação significativo, o que releva a importância da determinação detalhada dos componentes fenólicos para o estabelecimento de relações mais significativas entre as plantas, em especial as utilizadas como chás e condimentos ou especiarias no Brasil.

Na Figura 16 pode-se observar a relação entre o conteúdo de polifenóis totais e o conteúdo de flavonóides totais, em todos os chás avaliados no trabalho, com exceção dos oriundos da planta *Camellia sinensis*.

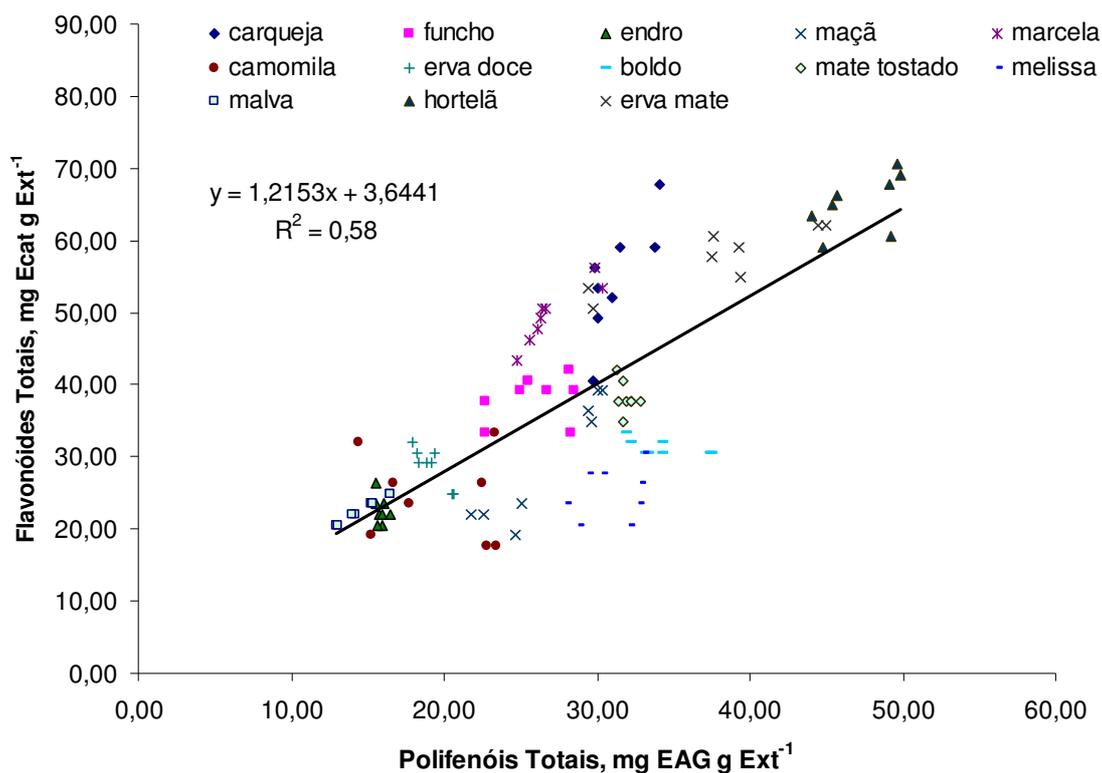


Figura 16. Relação entre o conteúdo de Flavonóides Totais e Polifenóis Totais, obtido de dados médios de 13 diferentes tipos de chás.

Assim como constatado na Figura 13, a correlação apresentada pelos dados médios foi razoavelmente significativa, pouco abaixo ($R^2 = 0,58$) do valor obtido pelos chás da planta *Camellia sinensis* ($R^2 = 0,70$), o que evidencia a importância destes compostos na constituição química das plantas consumidas como chás e condimentos. O resultado prático é que, mesmo que em algumas espécies de plantas as concentrações de flavonóides totais e ou de polifenóis totais sejam relativamente baixas, essas plantas podem se apresentar como excelentes alternativas para a alimentação humana, com os benefícios de cada uma delas, ou pelo menos da maior parte delas já tendo sido estudadas e citadas na literatura (DEGASPARI et al, 2002; LEITÃO et al, 2006; PEREIRA et al, 2005; LUCCA et al, 2010; MORAIS et al., 2009; RAVELLI, 2011; MORAES-de-SOUZA et al., 2005).

Na Figura 17 é apresentada a relação obtida entre os dados de avaliação de atividade antioxidante pelos dois métodos utilizados no presente trabalho, DPPH e Atividade Quelante de Íons Ferroso (Figura 17).

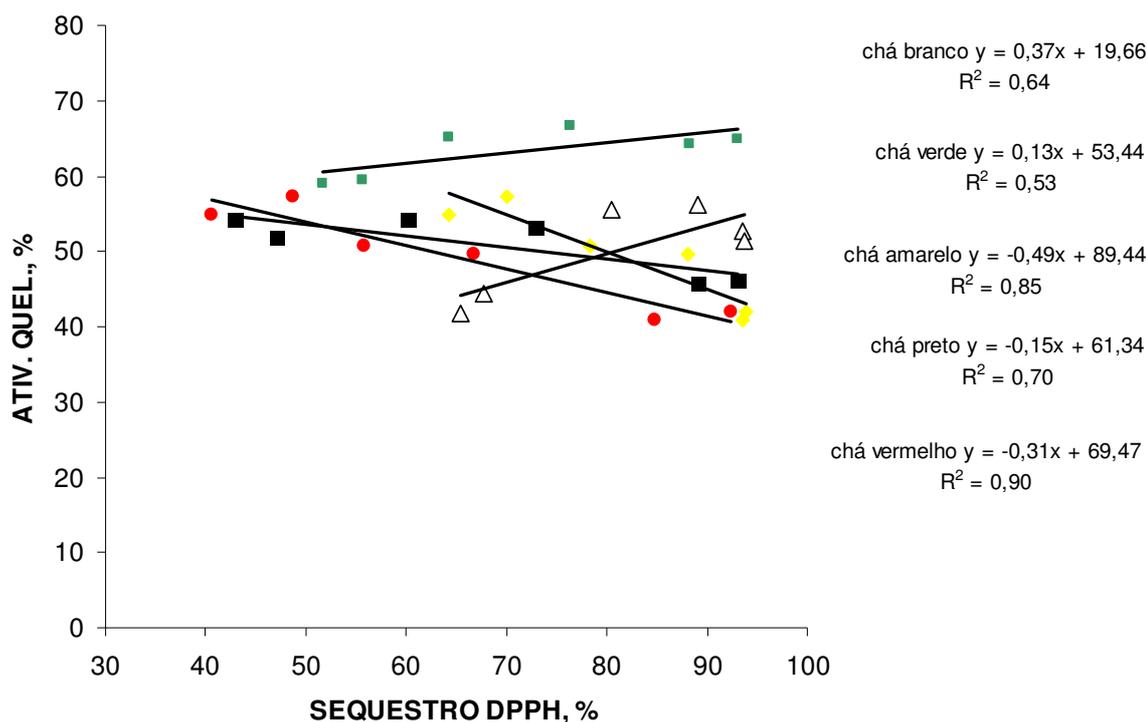


Figura 17. Relação entre a porcentagem de Atividade Quelante de Íons Ferroso e a porcentagem de Seqüestro de Radical DPPH, obtido de dados médios dos chás oriundos da planta *Camellia sinensis*.

Como pode ser observado, para cada chá houve diferente coeficiente de determinação R^2 , sendo que para o chá vermelho este foi elevado ($R^2 = 0,90$), enquanto para o chá verde este foi menor ($R^2 = 0,53$). Os demais chás apresentaram valores intermediários de R^2 , porém pode-se afirmar, considerando os valores de todos os chás oriundos da planta *Camellia sinensis*, que existe uma relação significativa entre os dois métodos de avaliação da atividade antioxidante para estes tipos de chás. Tal constatação é de relevante importância para novos estudos e futuros experimentos envolvendo estas infusões, e estes métodos de avaliações da capacidade antioxidante de extratos, uma vez que a literatura acerca destas relações é extremamente escassa.

6. CONCLUSÕES

1. Entre as 14 espécies de plantas avaliadas, os chás oriundos da planta *Camellia sinensis* apresentam os maiores valores de atividade antioxidante.
2. Entre os 20 tipos de chás avaliados, o chá de hibiscus praticamente não apresenta propriedades antioxidantes, quando avaliadas pelo método do sequestro de radical DPPH e atividade quelante de íons ferroso, enquanto o chá branco apresentou a maior atividade antioxidante, considerando o seqüestro de radical DPPH.
3. Para os chás oriundos da *Camellia sinensis*, o método de processamento influencia a atividade antioxidante, sendo que o chá verde apresenta maior atividade antioxidante quando avaliada pela porcentagem de atividade quelante de íons ferroso, enquanto o chá vermelho apresenta os menores valores de atividade antioxidante, independente do método ou avaliação utilizado, porém não diferindo do chá preto, branco e amarelo na porcentagem de atividade quelante de íons ferroso.
4. Considerando os resultados de EC50, chás de erva mate, carqueja e boldo apresentaram poder antioxidante intermediário em relação aos chás da planta *Camellia sinensis* e aos demais chás avaliados no presente trabalho.
5. Os métodos de avaliação da atividade antioxidante, que levam em consideração os indicadores seqüestro de radical DPPH e a porcentagem de atividade quelante de íons ferroso, são os que melhor distinguem os chás avaliados no presente trabalho.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAO, S.A.; PEREIRA, R.G.F.A.; SOUSA, R.V. & LIMA, A.R. Atividade antioxidante in vitro e in vivo de café bebida mole. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.47, n.1, p.127-133, jan. 2012.

ADEGOKE, G.O. et al. Antioxidant and lipid oxidation in food – a critical appraisal. **Journal of Food Science and Technology**. V.35, n.4, p.283-298, 1998.

ARENA, E.; FALLICO, B.; MACCARONE, R. Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. **Food Chem**. 74:423-427, 2001.

ASOLINI, F. C. et al. Atividade Antioxidante e Antibacteriana dos Compostos Fenólicos dos Extratos de Plantas Usadas como Chás. **Braz. J. Food Technol.** Preprint Serie, n. 252, 2006.

BAST, et al. Oxidants and antioxidants: State of the art. **Am J Med**.1991, 91:2-13.

BENZIE, I.E.F. & STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”.: The FRAP assay. **Anal. Biochem**. 239, 70-76. 1996.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food and Science Technology**. London, v. 28, n.1, p. 25-30, Jan./Feb. 1995.

BRASIL – Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria SVS/MS n.519, de 26 de junho de 1998. Aprova o “**Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Chás – Plantas Destinadas à Preparação de Infusões ou Decocções**”. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em abril de 2013.

BRASIL – Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada. RDC n. 267, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “**Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o preparo de Chás**”. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em abril de 2013.

BRASIL – Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada. RDC n. 277, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “**Regulamento Técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis**”. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em abril de 2013.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v.56, n.11, p.317-333, 1998.

BUNKOVA, R.; MAROVA, I.; NEMEC, M. Antimutagenic properties of green tea. **Plant Foods Hum Nutr** 60: 25-29, 2005.

CANTERLE, L. P. Erva-mate e atividade antioxidante. 2005. 97 f. Dissertação (**Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

CERUTTI, C.A. Oxy-radicals and cancer. **Lancet**, 1994. 344 (8926), 862-863.

CIZKOVA, H.; VOLDRICH, M.; MLEJNECKA, J. & KVASNICKA, F. Authenticity evaluation of tea-based products. **Czech J. Food Sci.** v.26, n.4, p.259-267. 2008.

CHERUBINI, A.; BEAL, M.F.; FREI, B. Black tea increases the resistance of human plasma to lipid peroxidation in vitro, but not ex vivo. **Free Radical & Medicine**, v.27, n.3/4, p.381-387, 1999.

CHIPAULT, J.R. et al. The antioxidant properties of natural spices. **Food Research**, v. 17, p.46-55, 1952.

CHOI, C.W.; KIM, S.C.; HWANG, S.S.; CHOI, B.K.; AHN, H., J., LEE, M.Y.; PARK, S.H.; KIM, S.K. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between

Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant Sci** 163: 1161-1168. 2002.

DEGASPARI, C.H.; LEITE, B.Z.; BALSINI, I. & GUERRA, A.S. Obtenção de extrato de carqueja (*Baccharis articulata* (Lam.) Pers.) por diferentes processos de concentração. Tuiuti: Ciência e Cultura, n. 29, FACET 04, pp. 119-130, Curitiba, abr. 2002

DESCALZO, A. M.; SANCHO, A. M. A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. **Meat Science**, Barking, v. 79, n. 3, p. 423-436, July 2008.

DEKKER, M.; VERKERK, R.; VAN DER SLUIS, A.A.; KHOKHAR, S.; JONGEN, W.M.F. Analysing the antioxidant activity of food products: processing and matrix effects. **Toxicology in Vitro**, v.13, p.797-799, 1999.

DEWANTO, V.; WU, X.; ADOM, K.K.; LIU, R.A. Thermal Processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **J. Agric. Food Chem.**, 42: 301-310. 2002.

DICKE, M. & HILKER, M. Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology. **Basic Appl Ecol.** 4: 3-14. 2003

DREOSTI, I.E. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. **Nutrition Research**, v.16, n.7/8, p.692-694, 2000.

DORMAN, H. J. D. et al. Characterization of the antioxidant properties of deodourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. **Food Chemistry**, London, v. 83, n. 2, p. 255-262, Nov. 2003.

DORNAS, W.; OLIVEIRA, T.; DORES, R.; SANTOS, A. & NAGEM, T. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Rev. Cienc. Farm. Básica Apl.** v.28, n.3, p.241-249, 2007.

DUARTE-ALMEIDA, J.M.; SANTOS, R.J.; GENOVESE, F.M. & LAJOLO, F.M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -Caroteno/Ácido Linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(2): 446-452, abr.-jun. 2006.

DURÁN, R. M.; PADILLA, R. B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 44, n. 2, p.101-106, mar./abr. 1993.

EMBRAFARMA. Pharmaceutical Expertise. Fitoterápicos. Disponível em <http://www.embrafarma.com.br/novo/modules/pdf/3416a75f4cea9109507cacd8e2f2aefc.pdf>. Acesso em 25 de março de 2013.

ENGELHARDT, U. H. (2007) Authenticity of tea and tea products. In:Ebeler, S. E., Takeoka, G. R. and Winterhalter, P. (eds.) Authentication of Food and Wine, ACS Symposium series 952: **American Chemical Society**, Washington DC, pp. 138 – 146.

FENNEMA, R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia. 1992. 1096 p.

FERGUSON, L.R.; HARRIS, P.J. Protection against cancer by wheat bran: role of dietary fibre and phytochemicals. **European Journal of Cancer Prevention**, Oxford, v.8, n.1, p.17-25, 1999.

FERREIRA, A.L.A. & MATSUBARA, L.S. Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistemas de defesa e estress oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*. São Paulo, v.43, n.1, p. 61-68. 1997.

FERREIRA, I. C. F. R. et al. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: individual cap and stipe activity. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 4, p. 1511-1516, 2007.

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

FINGER, A.; KUHR, S.; ENGELHARDT, U.H. Chromatography of tea constituents. *Journal of chromatography*. V.624, p. 293-315, 1992.

GENOVESE, M.I., PINTO, M.S., GONÇALVES, A.E. S.S. & LAJOLO, F.M. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food. Sci. Technol. Int.** 14(3):207-214. 2008.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, v.16, p.33-50, 1996.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v.52, n.8, p.253-265, 1994.

HILAL, Y & ENDELHARDT, U. Characterization of white tea - Comparison to green and black tea. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**. 2:414-421. 2007.

HALLIWELL, B.; GUITTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. 3th ed. New York: Oxford Science Publications, 2000. 936p.

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.

HIGDON. J.V.; FREI, B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.43, n.1, p.89-143, 2003.

HILAL, Y & ENDELHARDT, U. Characterization of white tea - Comparison to green and black tea. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**. 2:414-421. 2007.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, E. et al. Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis*L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw porkbatters. **Meat Science**, Barking, v. 81, n. 2, p. 410-417, Feb. 2009.

HERTOG, M.G.L.; HOLLMAN, P.C.H.; van de PUTTE, B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, v. 41, n.8, p.1242-1246, Aug. 1992.

IKAWA, M. et al. Utilization of Folin-Ciocalteu Phenol Reagent for the Detection of Certain Nitrogen Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51 n. 7, p. 1811-1815, July 2003.

JACOB, R.A.; BURRI, B. Oxidative damage and defense. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.63, p.985-990, 1996.

KATALINIC, V.; MILOS, M.; KULISIC, T. JUKIC, M. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. **Food Chemistry**, Barking, v. 94, n. 4, p. 550-557, Mar. 2006.

KATIYAR, S.K. et al. (-)-Epigallo-catechin-3-gallate in *Camellia sinensis* leaves from Himalaya of Sikkim: Inhibitory effects against biochemical events and tumor initiation in Sencar mouse skin. **Nutr Cancer**; 18: 73-83, 1992.

KILMARTIN, P.A. & HSU, C.F., 2003. Characterisation of polyphenols in green, oolong and black teas and in coffee using cyclic voltammetry. **Food Chem.**, 82: 501-512.

KITTS, D.D. Bioactive substance in food: identification and potential use. **Journal of the Physiology and Pharmacology**, Canada.v. 72, p. 423-434, 1994.

KODAMA, D.H.; GONÇALVES, A.E.S.S.; LAJOLO, F.M. & GENOVESE, M.I. Flavonoids, total phenolics and antioxidant capacity: comparison between commercial green tea preparations. **Cienc. Tecnol. Aliment.** v.30, n.4, out/dez, 2010.

KONO, Y. et al. Antioxidant activity of polyphenolics in diets. Rate constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen. **Biochim Biophys Acta**, v. 1335, p. 335-342, 1997.

LADO, C.; THEN, M.; VARGA, I.; SZOKE, E. & SZEMTMIHALYI, K. Antioxidant Property of Volatile Oils Determined by the Ferric Reducing Ability. **Naturforsch**, 59:354-358. 2004.

LAMARAO, R.C. & FIALHO, E. Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e sua relação com a redução da gordura corporal. **Rev. Nutr., Campinas**, 22(2):257-269, mar./abr., 2009

LARSON, R.A. The antioxidant of higher plants. **Phytochemistry**, 1998. 27:969-978.

LEITAO, A.M.; CHIM, J.F.; ZAMBIASI, M.W & RODRIGUES, R.S. Caracterização físico-química e sensorial de maçãs desidratadas para chás, comercializadas na região de Pelotas, RS. **XV Congresso de Iniciação Científica – VIII – Encontro de Pós-Graduação**. UFPEL, 2006. Anais.

LIMA, V.L.A.G.; MELO, E.A; LIMA, D.E.S. Teor de compostos fenólicos totais em chás brasileiros. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v.7, n. 2, p. 187-190, jul./dez. 2004.

LUCCA, P.S.R.; ECKERT, R.G.; SMANHOTTO, V.; KUHN, L.M. & MINANTI, L.R. Avaliação farmacognóstica e microbiológica da droga vegetal camomila (*Chamomilla recutita* L.) comercializada como alimento em Cascavel – Paraná. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.2, p.153-156, 2010.

MADSEN, H.L; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trens in Food Science and Technology**. London, v. 6. n. 8, p. 271-277. Aug. 1995.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas Medicinais**. Viçosa: Editora UFV, 1998. 220p.

MATSUBARA, S. & RODRIGUES-AMAYA, D.B. Conteúdo de miricetina, quercetina e kaempferol em chás comercializados no Brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(2): 380-385, abr.-jun. 2006.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim SBCTA**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, jan./jun. 2002.

MENDEL, S.; YODIM, M.B. Catechin polyphenols: neurodegeneration and neuroprotection in neurodegenerative diseases. **Free Radic Biol Med.**, 37: 304-317, 2004.

MILANI, L. I. G. et al. Inibição natural da oxidação lipídica na carne mecanicamente separada de frango. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS**, 18., 2002, PORTO ALEGRE. Anais... Porto Alegre, 2002.

MORAIS, S.M.; CAVALCANTI, E.S.B; COSTA, S.M. & AGUIAR, L.A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Rev. Bras. Farmacognosia**. 19(1b): 315-320. Jan/Mar. 2009.

MORAES-DE-SOUZA, R.A. Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil. ESALQ, 2007. Dissertação (**Mestrado em Ciências**). Piracicaba – SP. 60 p.

MORRISSEY, P. A. et al. Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**, Barking, v. 49, p. S73-S86, 1998. supl.

NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. **Journal of Nutrition**, Boca Raton, v. 29, n. 4, p. 273-300, 1990.

NAMITA, P.; MUKESH, R. & VIJAY, K.J. Camellia Sinensis (Green Tea): A Review. **Global Journal of Pharmacology** 6 (2): 52-59, 2012.

NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O. P. (Org.). **Food Chemistry**. 3ª Ed. New York. Marcel Dekker. 1996. p. 225-319. 1996.

NISHIYAMA, M.F.; COSTA, M.A.F.; COSTA, A.M.; SOUZA, C.G.M.; BÔER, C.G.; BRACHT, C.K. & PERALTA, R.M. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 30(Supl.1): 191-196, maio 2010.

PELEG, H.; BODINE, K.K.; NOBLE, A.C. The influence of acid on adstringency of alum and phenolic compounds. **Chemical Senses**, Oxford, v.23, n.3, p.371-378. 1998.

PEREIRA, R.C.; OLIVEIRA, M.T.R. & LEMOS, G.C.S. Plantas utilizadas como medicinais no município de Campos de Goytacazes – RJ. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 14, supl. 01, p. 37-40, 2004.

PEREIRA, M.G. Aplicação de antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada (CMS) de aves. **Dissertação de Mestrado** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria - UFSM. 2009. 128 p.

PEREIRA, A.V.; ALMEIDA, T.C.; BELTRAME, F.L.; COSTA, M.E.; & GARRIDO, L. H. Determinação de compostos fenólicos em amostras comerciais de chás verde e preto – *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. *Acta Scientiarum*, **Health Science**. V.31, n.2, p.119-124. 2009.

PETERSON, J.; DWYER, J.; Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, Vol. 18. No 12. pp. 1995-2018, 1998.

PIMENTEL-SOUZA, J.D.R.; SOUZA, D.S.; GUALBERTO, N.C.; RAMALHO, S.A.; MOREIRA, J.J.S. & NARAIN, N. Qualidade funcional da infusão do chá verde comercial. **Rev. Nutr.** 25:753-763, 2012.

POKORNÝ, J; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in food: practical applications**. Cambridge: CRC Press LLC and Woodhead Publishing, 1991, p. 1-373.

PORTER, N. A.; CALDWELL, S. E.; MILLS, K. A. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. **Lipids**, North Carolina, v. 30, n. 4, p. 277-290, Apr. 1995.

PRIOR, R. L.; CAO, G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 27, p. 1173-1181, 1999.

RAJALAKSHMI, D.; NARASIMHAN, S. Food antioxidants: sources and methods of evaluation. In: MADHAVI. DL.; DESHPANDE, S.S.; SALUNKHE, D.K. Food antioxidants - technological, toxicological and health perspectives. **New York: Marcel Dekker, Inc.**, p. 65-157, 1995.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, out./dez. 2006.

RAVELLI, D. Estabilidade oxidativa de óleo de soja adicionado de extrato de especiarias: correlação entre parâmetros físico químicos e avaliação sensorial. ESALQ – USP. Dissertação (**Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos**). São Paulo, 2011. 113 p.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER N.J.; PAGANGA G. Antioxidant Properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, April, v. 2, n. 4, p. 152-159, 1997.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, London, v. 92, n. 2, p. 235-254, June 2005.

SAIGG, N. & SILVA, M. Efeitos da utilização do chá verde na saúde humana. **Universitas: Ciências da Saúde**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 69-89, 2009

SALDANHA, L.A. Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de extratos de erva mate (*Ilex paraguaiensis*) verde e tostada e chá verde (*Camellia sinensis*). USP. Dissertação de Mestrado (**Mestrado em Saúde Pública**). São Paulo – SP, 2005. 120 p.

SANDERS, M. E. Overview of functional foods: emphasis on probiotics bacteria. **International Dairy Journal**. v. 8, p.341-347, 1998.

SANTOS, A.; PADUAN, R.H.; GAZIN, Z.C.; JACOMASSI, E.D.; OLIVEIRA, P.S.; CORTEZ, D. & CORTEZ, L. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função da sazonalidade e consorciamento. **Rev. Bras. Farmacog.** **19:436-431. 2009.**

SCHIMITZ, W. et al. O chá verde e suas ações como quimioprotetor. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 119-130, jul./dez. 2005.

SERAFINI, M.; LARANJINHA, J.A.N.; ALMEIDA, L.M.; MAIANI, G. Inhibition of human LDL lipid peroxidation by phenol-rich beverages and their impact on plasma total antioxidant in humans. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.11, p.585-590, 2000.

SILVA, S. R.; BUITRÓN, X.; OLIVEIRA, L. H.; MARTINS, M. V. M. Plantas medicinais do Brasil: aspectos gerais sobre legislação e comércio. Dez. 2001. Disponível em: <<http://traffic.org/content/439.pdf>> Acesso em: 19 ago. 2009.

SINGLETON, V. L.; JOSEPH, A.; ROSSI, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. of Enol. and Vit.**, Davis, v. 16, p. 144-149, 1965.

SIQUEIRA, E.P.; ALVES, T.M.A. & ZANI, C.L. Fingerprint of volatiles from plant extracts based on SPME-GC-MS. **Rev. Bras. Farmacog.** 17:565-571. 2007

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, jan./abr., 2002.

SOUSA, C. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, abr./jun. 2007.

SOUZA, M.F.F. Chá mate (*Ilex paraguariensis*): compostos bioativos e relação com atividade biológica. USP. Dissertação (**Mestrado Nutrição em Saúde Pública**). São Paulo, 2009. 111 p.

STAVRIC, B. Role of chemoprevents in human diet. **Clinical Biochemistry**, v. 27, n. 5, p. 319-332, 1994.

SU, X.; DUAN, J.; JIANG, Y.; SHI, J.; KAKUDA, Y. Effects of soaking conditions on the antioxidant potentials of oolong tea. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, n. 4, p. 348-353, June 2006.

TANG, S.Z.; KERRY, J.P.; SHEEHAN, D.; BUCKLEY, D.J. Antioxidative mechanisms of tea catechins in chicken meat systems. **Food Chemistry**, v.76, p.45-51, 2002.

TAPIERO, H.; TEW, K.D.; NGUYEN BA, G.; MATHÉ, G. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? **Biomedecine & Pharmacotherapy**, v.56, n.4, p.200-207, 2002.

VANNUCCHI, H.; JORDAO JR, A.A.; IGLESIAS, A.C.; MORANDI, M.V. & CHIARELLO, P.G. Effect of different dietary levels of vitamin E on lipid peroxidation in rats. **Arch Latinoam Nutr.** 1997. 47: 34-37.

VINSON, J.A.; E DABBAGH, Y.A. Tea phenols: antioxidant effectiveness of teas, tea components, tea fractions and their binding with lipoproteins. **Nutrition Research**, v.18, n.6, p.1067-1075, 1998.

ZANDI, P.; GORDON; M.H. Antioxidant activity of extracts from old tea leaves. **Food Chemistry**, v. 64, p.285-288, 1999.

ZERAIK, M.L. et.al. Comparação da capacidade antioxidante do suco de maracujá (*Passiflora edulis f. flavicarpa*), da garapa (*Saccharum officinarum*) e do chá mate

(*Ilex paraguaiensis*). **Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**. 31^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Anais, 2008.

ZHU, Q.Y.; HACKMAN, R.M.; ENSUNSA, J.L.; HOLT, R.R.; KEEN, C.L. Antioxidative activities of oolong tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.23, p.6929-6934, 2002.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 44, n. 3, p. 701-705, Mar. 1996.

WEISBURGER, J. H. Tea and health: a historical perspective. **Cancer Letters**, Amsterdam, v. 114, p. 315-317, Mar. 1997.

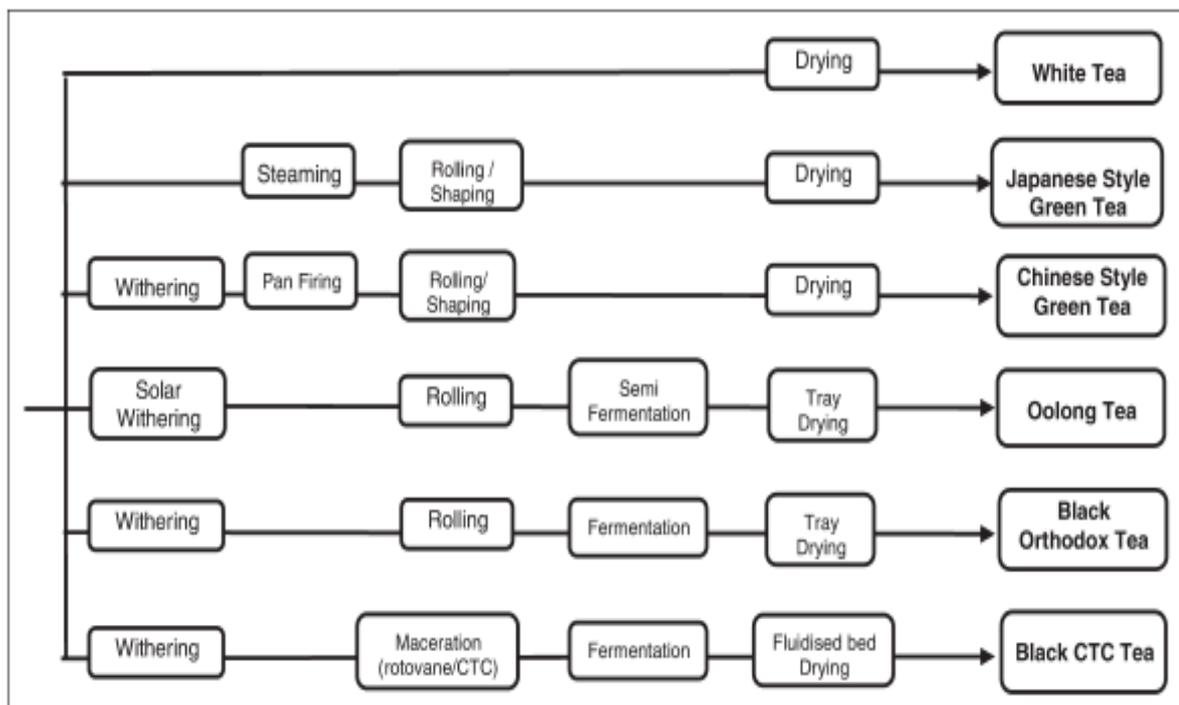
WITTIG DE PENNA, E.; ZUNIGA, M.J., FUENZALIDA, R. Caracterización sensorial y química de la calidad de tés (*Thea sinensis*) consumidos en Chile. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 55, n. 1, p. 93-100, jan 2005.

8. APÊNDICES

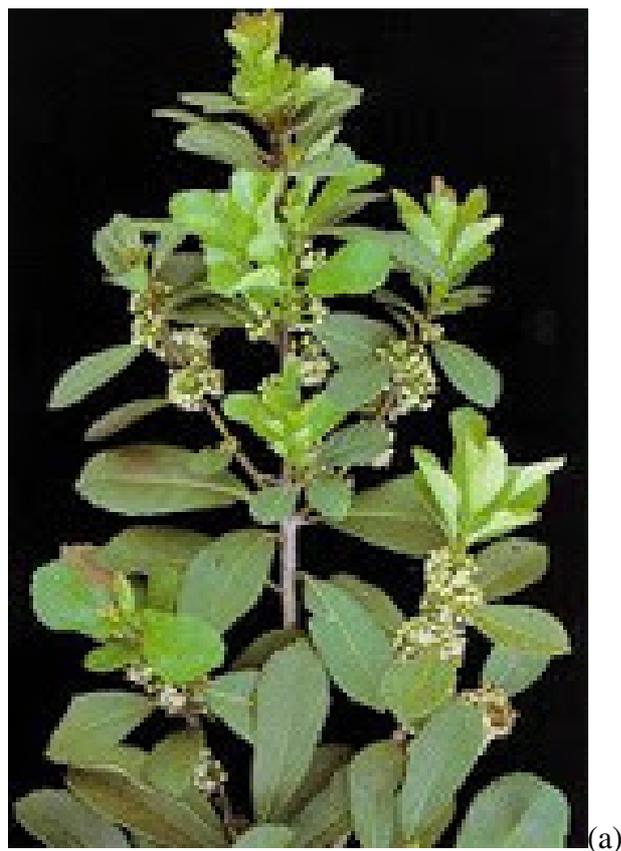


Apêndice A. Detalhe de folhas e talos da planta *Camellia sinensis* na fase vegetativa.

Fonte: http://www.cultivando.com.br/plantas_medicinais_detalhes/cha_verde.html



Apêndice B. Resumo das etapas de produção de diferentes tipos de chás oriundos da planta *Camellia sinensis*. Fonte: Hilal & Engelhardt, (2007).



Apêndice C. Detalhe das folhas da planta erva mate (a) e da planta hortelã (b).
Fontes: <http://yordanethaise.blogspot.com.br/2011/08/hortela.html>, e
<http://bioquimicanareal.blogspot.com.br/2010/11/erva-mate>



(a)



(b)

Apêndice D. Detalhe das folhas da planta carqueja (a) e da planta marcela (b).
Fontes: <http://chadecarqueja.com/cha-de-carqueja-para-que-serve,e>
http://chasetemperosorganicos.com.br/loja/popup_image.php?plD=29



(a)



(b)

Apêndice E. Detalhe das folhas da planta boldo (a) e da planta hibiscus (b).
Fontes: <http://websmed.portoalegre.rs.gov.br/escolas/montecristo/09cienc10/guilherme/boldo.html>, e <http://growerjim.blogspot.com.br/2010/11/hibiscus-sabdariffa-roselle.html>



(a)



(b)

Apêndice F. Detalhe das folhas da planta endro (a) e da planta funcho (b).
Fontes: <http://www.fotosantesedepois.com/2010/03/26/entro/> e ,
<http://www.plantasonya.com.br/aromaticas/funcho-foeniculum-vulgare.html>



(a)



(b)

Apêndice G. Detalhe das folhas da planta melissa (a) e da planta camomila (b).
Fontes: <http://ervasquecuramoumitospopulares.blogspot.com.br/2009/07/melisa.html>
e <http://flores.culturamix.com/flores/flor-de-camomila>