



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

ANA CLARA CORREIA ARAGÃO

PROSPECÇÃO DE ANTRAQUINONAS EM ERVA-MATE

FORTALEZA
2019

ANA CLARA CORREIA ARAGÃO

PROSPECÇÃO DE ANTRAQUINONAS EM ERVA-MATE

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Química do departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química com habilitação industrial.

Orientador pedagógico: Prof. Dr. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira

Orientador profissional: Dr. Edy Sousa de Brito.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- A671p Aragão, Ana Clara Correia.
Prospecção de antraquinonas em erva-mate / Ana Clara Correia Aragão. – 2019.
46 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Química, Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira.
Coorientação: Prof. Dr. Edy Sousa de Brito.
1. Erva-mate. 2. Ilex paraguariensis. 3. Antraquinonas. 4. UPLC-QTOF-MSE. I. Título.

CDD 540

ANA CLARA CORREIA ARAGÃO

PROSPECÇÃO DE ANTRAQUINONAS EM ERVA-MATE

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Química do departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química com habilitação industrial.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Edy Sousa de Brito
Embrapa Agroindústria Tropical

Dr. Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro
Embrapa Agroindústria Tropical

A Deus.

Aos meus pais e aos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e a minha irmã, por sempre me guiarem e me aconselharem a nunca desistir do que eu quero e que me ensinaram a sempre levantar a cabeça e seguir em frente.

Aos colegas do laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (LMQPN), que sempre estavam dispostos a me ajudar e sempre me trataram bem.

Ao Edy Sousa de Brito, por ter aceitado me orientar e por estar sempre disponível para retirar minhas dúvidas.

Ao Paulo Riceli, Técnico do LMQPN, pela paciência e pela ajuda.

A professora Maria da Conceição Ferreira de Oliveira, que me aceitou como voluntária no LABS e posteriormente como orientanda nesse processo de finalização do curso.

Aos meus amigos, obrigada por sempre estarem do meu lado, principalmente nas horas que eu mais precisei.

Ao grupo PET Química UFC, que fez parte de quase toda minha graduação e que me rendeu muitos ensinamentos e também me proporcionou muitas amizades.

“Uma mulher é como um saquinho de chá,
você nunca sabe o quão forte é até que esteja
em água quente.”

- Eleanor Roosevelt

RESUMO

A erva mate é uma planta muito consumida no Brasil, principalmente na região sul, usada no preparo do chimarrão, tererê e chá mate. Sua composição química é complexa e seus compostos possuem diversos efeitos benéficos, como ação antioxidante, anti-inflamatória e estimulante. Porém podem possuir antraquinonas, as quais apresentam atividades mutagênicas, que causam danos à saúde. Assim, este trabalho teve como objetivo investigar a presença de antraquinonas no extrato metanólico de erva-mate, obtido através de extração por Soxhlet, seguido do particionamento com diclorometano. As frações obtidas foram analisadas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (UPLC-QTOF-MS^E). Embora não tenha sido identificado antraquinonas no extrato de erva-mate analisado, foi possível sugerir a presença de compostos de outras classes, como ácidos fenólicos e saponinas. Foi possível também verificar que alguns dos compostos que estavam presentes no extrato metanol não estavam presentes na partição diclorometano.

Palavras-chave: Erva-mate. *Ilex paraguariensis*. Antraquinonas. UPLC-QTOF-MS^E.

ABSTRACT

Yerba mate is a plant widely consumed in Brazil, especially in the southern region, used in the preparation of mate, tererê and mate tea. Its chemical composition is complex and its compounds have several beneficial effects, such as antioxidant, anti-inflammatory and stimulating action. However, they may have anthraquinones, which have mutagenic activities that cause damage to health. Thus, this study aimed to investigate the presence of anthraquinones in the methanolic extract of yerba mate, obtained by Soxhlet extraction, followed by partitioning with dichloromethane. The obtained fractions were analyzed using high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry (UPLC-QTOF-MSE). Although anthraquinones were not identified in the yerba mate extract analyzed, it was possible to suggest the presence of compounds of other classes, such as phenolic acids and saponins. It was also found that some of the compounds that were present in the methanol extract were not present in the dichloromethane partition.

Keywords: Yerba mate. *Ilex paraguariensis*. Anthraquinones . UPLC-QTOF-MS^E.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Folhas de erva-mate e uma de suas aplicações, o chimarrão	02
Figura 2	– Estruturas químicas dos compostos fenólico presentes na erva-mate....	03
Figura 3	– Estruturas químicas das matesaponinas 1 e 3	04
Figura 4	– Estruturas químicas de cafeína, teobromina e teofilina	04
Figura 5	– Estruturas químicas de algumas antraquinonas	05
Figura 6	– Representação de um sistema de extração por soxhlet	06
Figura 7	– Representação de um sistema de extração líquido-líquido	07
Figura 8	– Foto do sistema de extração por soxhlet empregado	10
Figura 9	– Cromatograma obtido por UPLC-HRMS da fração metanol-água	12
Figura 10	– Cromatogramas dos íons extraídos referentes a emodina (B), reína (C) aloe-emodina (D), parietina (E) e cromatograma A da partição metanol água	13
Figura 11	– Estruturas encontradas no extrato de erva-mate analisado	16
Figura 12	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 1	17
Figura 13	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 2.....	17
Figura 14	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 3	18
Figura 15	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 4	18
Figura 16	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 5	19
Figura 17	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 9	19
Figura 18	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 6	20
Figura 19	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 7	20
Figura 20	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 8	21
Figura 21	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 10	21
Figura 22	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 11	22

Figura 23	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 12	22
Figura 24	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 13	23
Figura 25	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 14	23
Figura 26	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 17	23
Figura 27	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 15	24
Figura 28	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 16	24
Figura 29	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 18	25
Figura 30	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 19	25
Figura 31	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 22	26
Figura 32	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 20	26
Figura 33	– Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 21	27
Figura 34	– Cromatogramas do estrato bruto (A), partição diclorometano (B) e partição metanol-água (C) obtidos na análise por UPLC HRMS.....	27
Figura 35	– Espectros de massas MS e MS/MS referente a Rutina no extrato bruto .	28
Figura 36	– Espectros de massas MS e MS/MS referente a Mate saponina 1 no extrato bruto	28
Figura 37	– Espectros de massas MS e MS/MS referente a Mate saponina 1 na partição diclorometano	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais antraquinonas em plantas	12
Tabela 2 – Compostos tentativamente identificados por UPLC-HRMS na fração metanol-água	14

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 Erva-mate.....	2
2.2. Composição química da erva-mate.....	2
2.2.1 Compostos fenólicos	3
2.2.2 Saponinas	3
2.2.3. Xantinas	4
2.3 Antraquinonas	5
2.4 Método de extração	5
2.4.1 Extração sólido-líquido	6
2.4.2 Extração líquido-líquido	6
2.5 Cromatografia líquida.....	7
2.6 Espectrometria de massas	8
3 OBJETIVOS.....	9
3.1. Objetivo geral	9
3.2. Objetivos específicos.....	9
4 MATERIAIS E MÉTODOS	10
4.1. Material vegetal	10
4.2. Obtenção do extrato de erva-mate.	10
4.3. Extração líquido-líquido	10
4.4. Preparo de soluções para análise no espectrômetro de massas	11
4.5. Análise por UPLC – HRMS	11
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
5.1 Análise da partição metanol-água do erva-mate.....	12
5.2. Tentativa de identificação de metabólitos secundários presentes na erva-mate	13
5.3 Análise dos cromatogramas do extrato bruto e das partições diclorometano e metanol-água.....	27
6 CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

A *Ilex paraguariensis* é uma planta da família Aquifoliaceae nativa da América do Sul. É mais difundida na região sul do Brasil, onde recebeu o nome de erva-mate, sendo bastante utilizada no preparo do chimarrão, bebida bastante popular na cultura desta região, assim como outras bebidas, como tererê e chá mate. Com isso, essa planta assume um papel socioeconômico importante para as propriedades rurais que a produzem (GNOATTO *et al.*, 2007).

As bebidas produzidas com a erva-mate possuem propriedades estimulantes, isotônicas e digestivas. Seu consumo é feito de forma diferenciada para cada tipo de bebida, o chimarrão utiliza água quente na infusão, já o tererê é em água fria (GERKE *et al.*, 2017).

A composição química da erva-mate é bem complexa, dentre os compostos já identificados estão compostos fenólicos, xantinas e saponinas. Esses compostos dão a erva-mate características nutricionais e medicinais, como atividades antioxidantes, diuréticas, anti-inflamatórias e estimulantes (BURRIS *et al.*, 2012).

As antraquinonas são definidas como substâncias fenólicas, muito presentes na natureza, encontradas principalmente em plantas e bactérias. A principal atividade que esses compostos exercem é a ação laxativa, além de serem antioxidantes. Porém, estudos mostram que elas podem apresentar atividade mutagênica (SILVA *et al.*, 2018). Para determinar esses compostos, métodos como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada com espectrometria de massas são utilizados (AICHNER *et al.*, 2015).

A cromatografia líquida de alta eficiência é uma técnica de separação que se baseia na diferença de velocidade de migração de compostos ao passarem por uma fase estacionária. Para a identificação desses compostos, essa técnica é acoplada a um espectrômetro de massas. A espectrometria de massas se baseia na conversão de moléculas em íons em fase gasosa que são separados no espectrômetro de acordo com a sua massa/carga, para identificar sua estrutura (SKOOG *et al.*, 2006).

Por ser bastante consumida na forma de bebidas, é essencial ter informações sobre a composição da erva-mate e quais atividades essa planta desempenha no organismo. Por conta disso, se faz necessário investigar a presença de antraquinonas em erva-mate.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Erva-mate

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) é uma espécie nativa do sul do Brasil e países ao redor, sendo utilizada no preparo do chimarrão e tererê, presentes na cultura dos gaúchos. O alto consumo da erva pela população resulta numa grande fonte de emprego e renda para os moradores dessa região (ASSIS JACQUES, 2005). Produtos derivados da erva-mate, como por exemplo o chá-mate, não são tão representativos no mercado alimentício (SCHUBERT *et al.*, 2006).

Figura 1. Folhas de erva-mate e uma de suas aplicações, o chimarrão.



Fonte: Caixa colonial, 2017.

A erva-mate processada a partir de folhas e pequenos caules gera uma bebida não alcoólica que é consumida em substituição ao café, por possuir cafeína em sua composição (BURRIS *et al.*, 2012). Pode ser considerada uma bebida estimulante tanto para atividades físicas quanto mentais e sua ação estimulante é considerada mais prolongada que a do café e não deixa efeitos colaterais, como irritabilidade. Além do setor de bebidas, a planta também é utilizada nos setores de cosméticos, medicamentos e em estudos fitoquímicos (ASSIS JACQUES, 2005).

2.2. Composição química da erva-mate

Segundo a literatura, a erva-mate apresenta compostos fenólicos, xantinas, saponinas e minerais que possuem atividades farmacológicas. Estudos com a planta mostraram que os

metabólitos presentes na erva-mate podem ter atividade antioxidante, diurética, estimulante, dentre outras (BURRIS *et al.*, 2012).

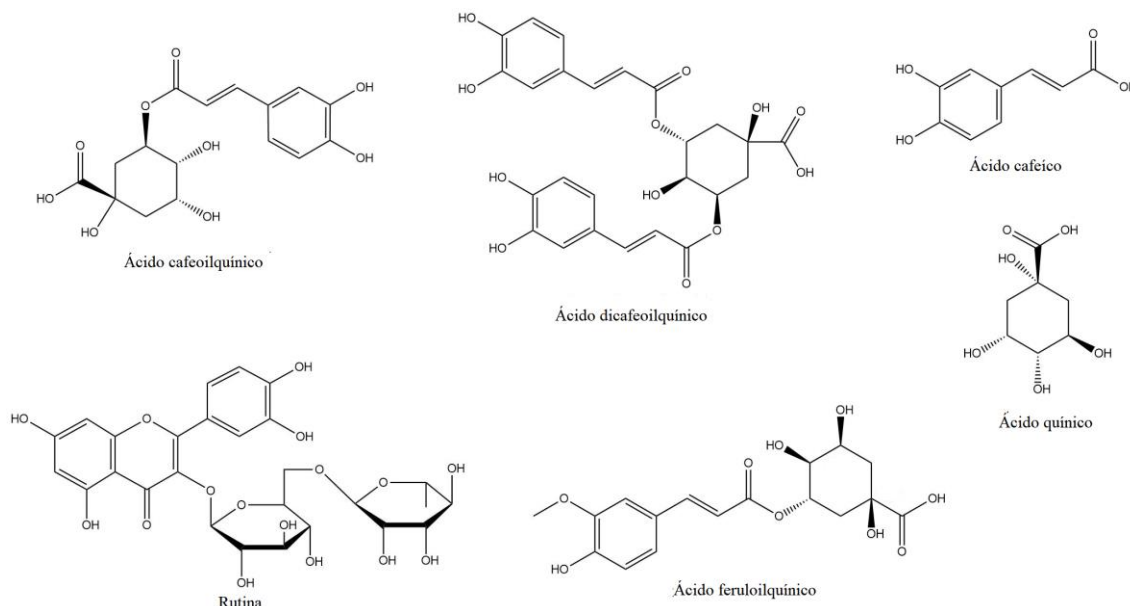
A variação da composição química da erva-mate pode ocorrer por alguns fatores, como o estágio evolutivo da planta até a colheita, além de condições de clima e solo (BURRIS *et al.*, 2012).

2.2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos possuem em sua estrutura um anel benzênico ligado a uma ou mais hidroxilas. Eles atuam como antioxidantes e possuem funções de defesa nas plantas, além de prevenir contra oxidação lipídica, que são reações responsáveis pela deterioração de alimentos (BASTOS *et al.*, 2007). São considerados os metabólitos mais bioativos presentes na erva-mate (BURRIS *et al.*, 2012).

Em sua maior parte, há a presença do ácido cafeoilquínico, ácido dicafeoilquínico, rutina, ácido cafeico, ácido quínico, ácido feruloilquínico, como mostra a Figura 2 (BASTOS *et al.*, 2007).

Figura 2. Estruturas químicas de compostos fenólicos presentes na erva-mate



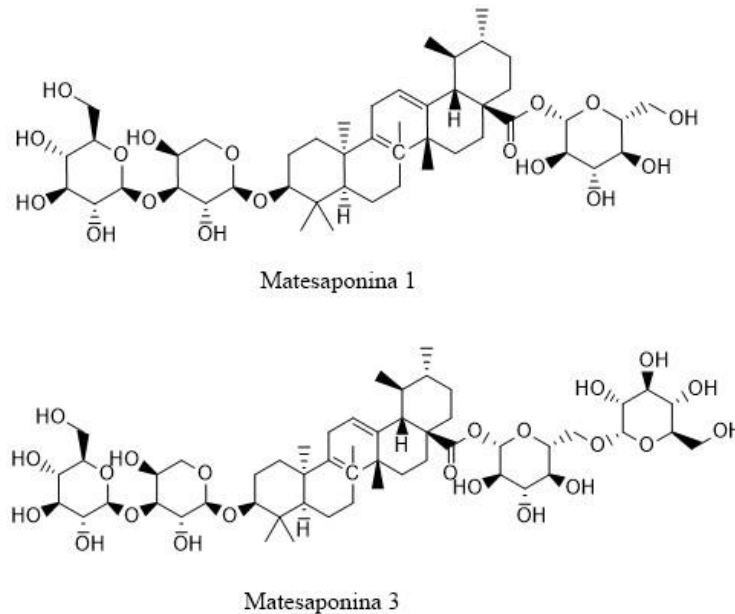
Fonte: Autor

2.2.2 Saponinas

As saponinas são compostos glicosídicos com elevada massa molecular, geralmente solúveis em água, que possuem atividades anti-inflamatória e antiparasitária (BURRIS *et al.*, 2012).

Elas podem ser classificadas como estereoidais e triterpênicas. Na erva-mate, há uma maior variedade do tipo triterpênica, que são derivadas dos ácidos ursólico e oleanólico como mostra a Figura 3 (LANÇAS, 2009).

Figura 3. Estruturas químicas das mate saponinas 1 e 3

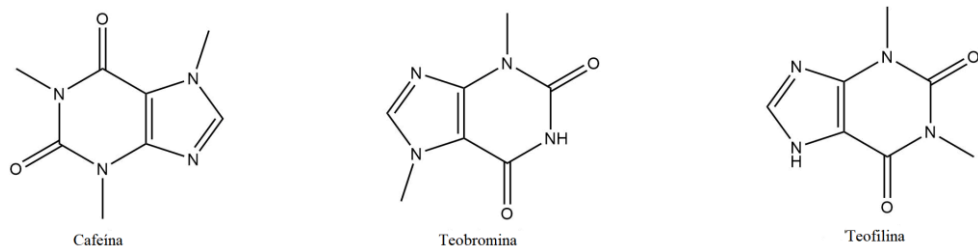


Fonte: Autor

2.2.3. Xantinas

As xantinas são uma classe de alcalóides, são substâncias orgânicas que possuem em sua estrutura uma função amina e são encontradas em diversas plantas, principalmente na erva-mate. A cafeína, teofilina e teobromina (Figura 4) são as responsáveis pelo sabor amargo e efeitos estimulantes da planta (BURRIS *et al.*, 2012).

Figura 4. Estruturas químicas da cafeína, teobromina e teofilina



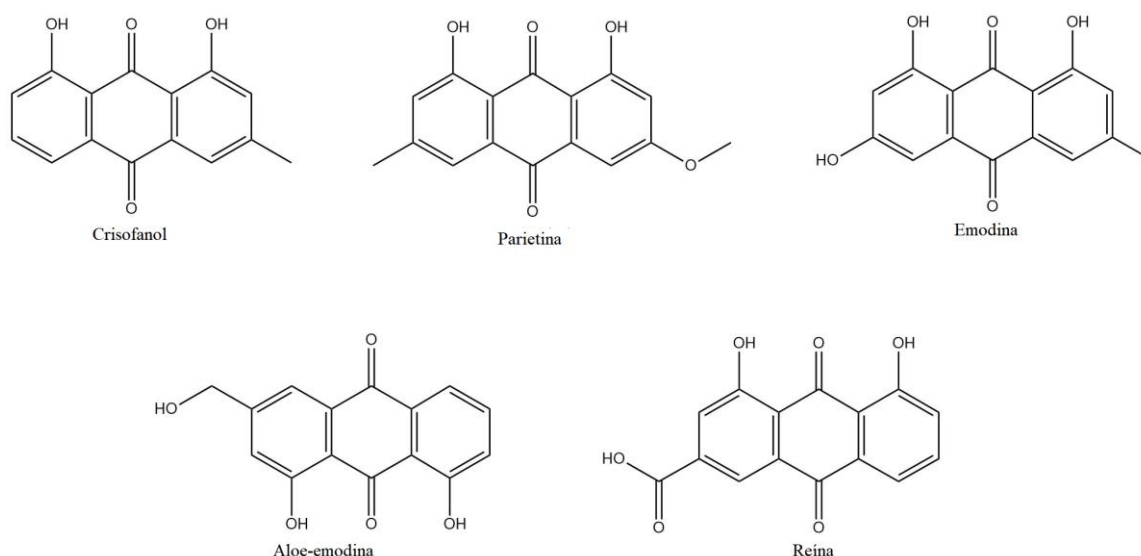
Fonte: Autor

2.3 Antraquinonas

As antraquinonas são definidas como substâncias fenólicas, muito presentes na natureza, sendo encontradas principalmente em plantas e bactérias. Possuem atividades antifúngicas, antibacterianas e laxativas, sendo bastante utilizadas na indústria farmacêutica (MALIK *et al.*, 2016)

As principais antraquinonas estudadas são a emodina, *O*-crisofanol, parietina, aloe-emodina e réina, como mostra a Figura 5.

Figura 5. Estruturas químicas de algumas antraquinonas.



Fonte: Autor

O mecanismo de ação laxativo da emodina ocorre através da clivagem da emodina glicosídica pelas bactérias presentes no intestino, liberando-a para atuar direta ou indiretamente nas células epiteliais do cólon. Com isso, as células musculares sub-lisas são ativadas, sendo contraídas (SRINIVAS *et al.*, 2007).

Apesar de possuir atividades benéficas, as antraquinonas também podem apresentar atividades mutagênicas como mostra os estudos feitos por GUO *et al.*, 2014 para emodina, aloe-emodina e crisofanol em extrato de aloe vera e Müller *et al.*, (1996) em que linfomas foram induzidos em ratos utilizando também a aloe-emodina e emodina. Por conta disso, se faz necessário controle destes compostos em alimentos/bebidas para o consumo.

2.4 Método de extração

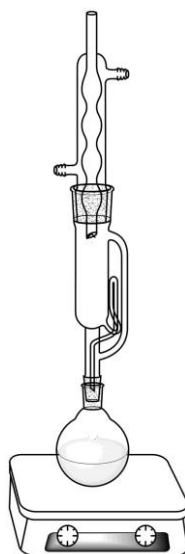
As técnicas de extração são utilizadas para facilitar a análise de compostos de interesse, se baseando pela polaridade deles. Dentre elas, as mais utilizadas são as técnicas de

extração sólido-líquido e líquido-líquido.

2.4.1 Extração sólido-líquido

A extração sólido-líquido é utilizada para separação de componentes em uma mistura. O processo de extração contínua consiste em transferir os componentes de uma fase sólida para uma fase líquida. Um exemplo de extração contínua é o sistema de extração utilizando Soxhlet (Figura 6). O processo começa com o aquecimento do solvente em um balão até entrar em ebulição, o vapor formado sobe pelo tubo lateral até chegar ao condensador, onde é condensado e posteriormente goteja no extrator cobrindo o cartucho em que está o material sólido, solubilizando os compostos. Quando o nível do solvente atinge o sifão, o solvente volta para o balão, levando consigo as substâncias solubilizadas. O processo é repetido durante algumas horas até exaustão do soluto, permitindo a troca de solvente e a obtenção de uma boa quantidade de compostos que se deseja extrair (CASTRO, 2010).

Figura 6. Representação de um sistema de extração por Soxhlet.



Fonte: Autor

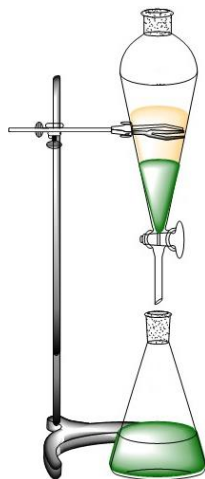
Esse processo é utilizado quando se quer utilizar pouco solvente para uma extração eficiente, evitando gastos desnecessários, apesar de precisar passar por uma etapa adicional para a evaporação do solvente. Porém, o aquecimento empregado no processo de extração pode degradar alguns compostos termolábeis, produzindo artefatos (CASTRO, 2010).

2.4.2 Extração líquido-líquido

Na extração líquido-líquido, obtêm-se partições da amostra entre duas fases imiscíveis. A eficiência da extração vai depender da afinidade dos compostos pelos solventes utilizados,

razão das fases e a quantidade de extrações. Possuem como vantagens ser de fácil uso, com a utilização de um funil de separação (Figura 7) e o uso de vários solventes, aumentando a faixa de solubilidade e seletividade. Porém como desvantagem, a formação de emulsões, que dificultam a separação das fases (BORDIN *et al.*, 2015).

Figura 7. Representação de um sistema de extração líquido-líquido



Fonte: Autor

2.5 Cromatografia líquida

A cromatografia é uma técnica muito empregada para separação, identificação e determinação de compostos em matrizes complexas. É constituída por uma fase móvel e outra estacionária. A mistura de componentes passa pela fase estacionária sendo transportada pela fase móvel e a separação ocorre pela diferença de interação entre os segmentos e a fase móvel (SKOOG *et al.*, 2006).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou high performance liquid chromatography - HPLC é mais versátil e utilizada para separar os componentes de materiais orgânicos, inorgânicos e biológicos (SKOOG *et al.*, 2006).

A cromatografia líquida de ultra eficiência (ultra performance liquid chromatography – UPLC) foi desenvolvida possuindo os mesmos princípios de separação por CLAE, porém as colunas cromatográficas empregadas possuem tamanhos reduzidos de até 15cm e as partículas da fase estacionária são menores. A maior velocidade da fase móvel aumenta a resolução e detectibilidade dos compostos e resulta numa maior velocidade na análise (MALDANER *et al.*, 2012).

A obtenção de informações sobre os compostos que saem da coluna é de suma importância para uma análise, por conta disso a cromatografia é acoplada a um espectrômetro de massas. Os compostos são eluidos pela coluna cromatográfica e são detectadas pelo

espectrômetro de massas. A partir dos espectros de massa é possível adquirir informações que auxiliam na tentativa de elucidação da estrutura e massa molecular, identificando os compostos presentes na amostra (CHIARADIA., 2008).

2.6 Espectrometria de massas

A espectrometria de massas (EM) ou mass spectrometry (MS) é uma técnica utilizada para obter informações sobre as estruturas dos compostos de interesse.

Para isso, a amostra deve ser convertida em íons em fase gasosa, produzido por uma fonte de atomização, que permite a obtenção dos íons a partir de moléculas pouco solúveis ou termosensíveis. A ionização por eletronebulização (eletrospray) é uma das mais utilizadas. O processo ocorre através da conversão da amostra em aerossol, que é introduzida no plasma ou na chama (SKOOG *et al*, 2006).

Os íons formados são monocarregados positivamente ou negativamente e são separados com base na razão massa/carga (m/z) por um analisador de massas para produzir o espectro de massas (MS) (SKOOG *et al*, 2006). Os analisadores de massa podem ser: quadrupolo, por tempo de voo, dentre outros. O analisador por quadrupolo é formado por quatro hastes, em que os pares opostos são conectados eletricamente, em um determinado valor de voltagem, íons de determinada m/z atravessam o quadrupolo descrevendo uma trajetória estável. Já o analisador por tempo de voo baseia-se no princípio de que como todos os íons são gerados na mesma fonte de ionização, possuem a mesma energia cinética o que as diferencia é a massa, por isso os íons produzidos são acelerados em um “tubo de voo” para serem identificados (CHIARADIA *et al*, 2008).

Além do MS, também é possível produzir o espectro MS/MS, que possui melhor poder de resolução, e utiliza mais de um analisador de massas, em que um deles é utilizado para isolar o íon de interesse e o outro é usado para fazer uma relação entre o íon isolado e íons gerados através da sua decomposição induzida. O acoplamento do analisador por quadrupolo com o por tempo de voo é um dos mais utilizados, e é chamado de Q-TOF. Esse analisador é constituído por dois quadrupolos em série, o primeiro quadrupolo separa os íons por sua m/z , porém o segundo funciona como uma cela de colisão onde ocorre a fragmentação dos íons selecionados no primeiro quadrupolo e é conectado ao analisador por tempo de voo. Esse instrumento, também chamado de high resolution mass spectrometry (HRMS) no inglês, a espectrometria de massas de alta resolução detecta os íons que entram no tubo de voo por um tempo específico, por conta de sua velocidade de varredura. (CHIARADIA *et al*, 2008).

3 OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

- Identificar a presença de antraquinonas em extratos de erva-mate.

3.2. Objetivos específicos

- Realizar levantamento bibliográfico sobre metabólitos secundários presentes na família, gênero e espécie da planta erva-mate.
- Identificar o perfil de metabólitos secundários do extrato metanol da erva-mate por UPLC-HRMS.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Material vegetal

As folhas da erva-mate utilizadas foram obtidas do banco ativo de germoplasma da Embrapa Floresta, já secas. Posteriormente, elas foram moídas utilizando moedor de café da marca Cadence.

4.2. Obtenção do extrato de erva-mate.

Para obter o extrato, pesou-se aproximadamente 9,0 g da erva-mate triturada previamente, e transferida para um cartucho para Soxhlet. Em seguida, o sistema de extração foi montado, foram adicionados 150 mL de metanol P.A e o sistema ficou em refluxo por cerca de 4 horas.

Figura 8. Foto do sistema de extração por Soxhlet empregado



Fonte: Autor

Após o fim da extração, foi retirada uma alíquota em torno de 5 mL do extrato bruto, que foi levada para remoção do solvente utilizando um rotaevaporador.

4.3. Extração líquido-líquido

Para a extração líquido-líquido foi montado um sistema de partição utilizando um funil de separação, no qual adicionou-se o extrato metanólico de erva-mate (Item 4.2), seguida de 100 mL de água mili-Q e 100 mL de diclorometano P.A.

O processo de partição gerou as frações metanol-água e diclorometano. A fração oriunda da partição com diclorometano foi concentrada em rotaevaporador. O mesmo processo foi realizado com a fração metanol-água para remoção do metanol na mistura. A fração aquosa resultante foi liofilizada.

4.4. Preparo de soluções para análise no espectrômetro de massas

Foram preparadas as soluções do extrato metanol bruto (amostra testemunha) e das partições metanol-água e diclorometano.

Foi retirada uma alíquota (2,3 mg) da partição diclorometano, que foi solubilizada em 1 mL de acetonitrila LC/MS, filtrada em filtro de seringa PTFE FI 13 MM Allcrom e transferida para um vial de 1,5 mL.

Para a partição metanólica, pesou-se aproximadamente 2 mg do material para ser solubilizado com 1 mL de acetonitrila LC/MS, seguido de filtração em PTFE FI 13 MM Allcrom e transferência para um vial de 1,5 mL.

O mesmo procedimento foi empregado com 2,4 mg do extrato bruto, solubilizando-o com 1 mL de acetonitrila LC/MS, em seguida filtrado com PTFE FI 13 MM Allcrom e transferido para um vial de 1,5 mL.

4.5. Análise por UPLC – HRMS

A análise foi realizada em um sistema Acquity UPLC (Waters), acoplado a um sistema de Quadrupolo/Tempo de Voo (QToF, Waters) pertencente a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. As corridas cromatográficas foram realizadas em uma coluna Waters Acquity UPLC BEH (150x2,1 milímetros, 1,7 µm), temperatura fixa de 40°C, fases móveis água com 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (B), gradiente variando de 2% a 95% B (15 min), fluxo de 0,4 mL/min e volume de injeção de 5 µL.

O modo ESI foi adquirido na faixa de 110-1180 Da, temperatura da fonte fixa a 120 °C, temperatura de dessolvatação 350 °C, fluxo do gás dessolvatação de 500 L / h, cone de extração de 0,5 V, voltagem capilar de 2,6 kV. O modo ESI⁺ foi adquirido na faixa de 110-1180 Da, temperatura da fonte fixa de 120 °C, temperatura de dessolvatação 350 °C, fluxo do gás dessolvatação de 500 L / h e voltagem do capilar de 3,2 kV. Leucina encefalina foi utilizada como lock mass. O modo de aquisição foi MS^E. O instrumento foi controlado pelo software Masslynx 4.1 (Waters Corporation).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, resolveu-se realizar um levantamento bibliográfico para identificar as principais antraquinonas presentes em plantas. A Tabela 1 apresenta as principais antraquinonas encontradas de acordo com DEITERSEN *et al.*, 2019, PANDITH *et al.*, 2014, ZHAN *et al.*, 2017.

Tabela 1. Principais antraquinonas em plantas

Antraquinona	Fórmula molecular	Massa molar (g mol ⁻¹)	Massa do íon molecular
Emodina	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.0528	269.0450
Reína	C ₁₅ H ₈ O ₆	284.0321	283.0243
Aloe-emodina	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.0528	269.0450
Parietina	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.0685	283.0606
Crisofanol	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254.0579	253.0501

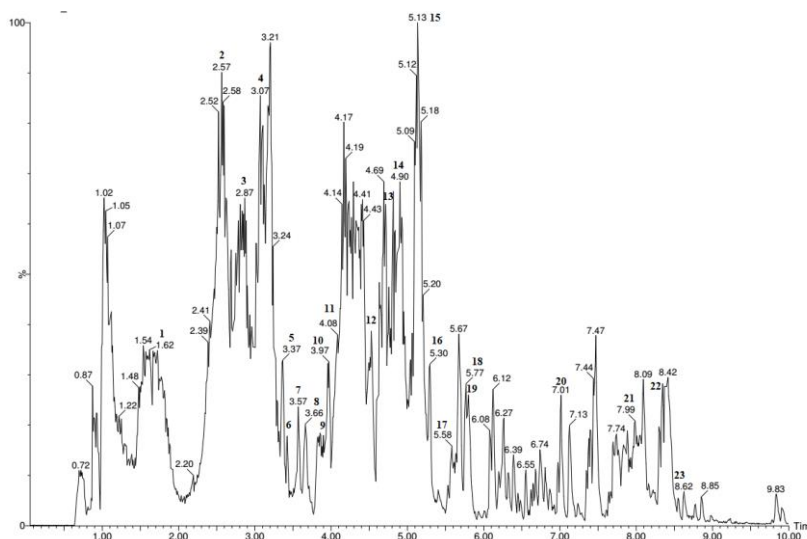
Fonte: Autor

No entanto, não foram encontrados relatos de antraquinonas em erva-mate. Portanto, há um interesse em aprofundar o estudo das antraquinonas por uma técnica mais eficiente, por conta disso, a técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (UPLC-QTOF-MS^E) foi utilizada.

5.1 Análise da partição metanol-água do erva-mate

A Figura 9 apresenta o cromatograma da análise da fração metanol-água da planta em UPLC-QTOF-MS^E no modo negativo.

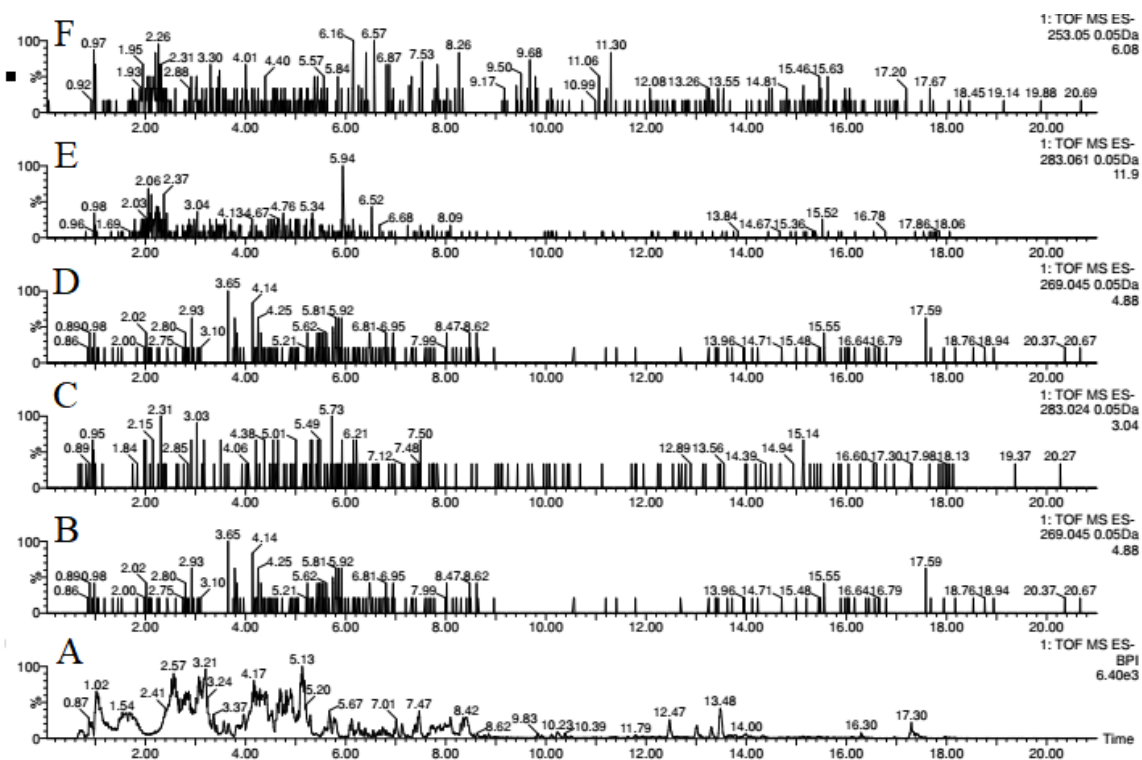
Figura 9. Cromatograma obtido por UPLC-HRMS da fração metanol-água



Fonte: Autor

A partir do cromatograma obtido, foi possível investigar a presença dos compostos de interesse, gerando os cromatogramas mostrados na Figura 10.

Figura 10. Cromatogramas dos íons extraídos referentes a emodina (B), reína (C), aloemodina (D), parietina (E), crisofanol (F) e cromatograma A da partição metanol-água.



Fonte: Autor

Analisando a Figura 10, pode-se inferir que não há presença de antraquinonas, pois a intensidade dos sinais é muito baixa, mostrando que não correspondem a uma massa molar ou fórmula molecular presente na Tabela 1. Não foram encontrados relatos da evidencição de antraquinonas na composição da *I. paraguariensis*.

5.2. Tentativa de identificação de metabólitos secundários presentes na erva-mate

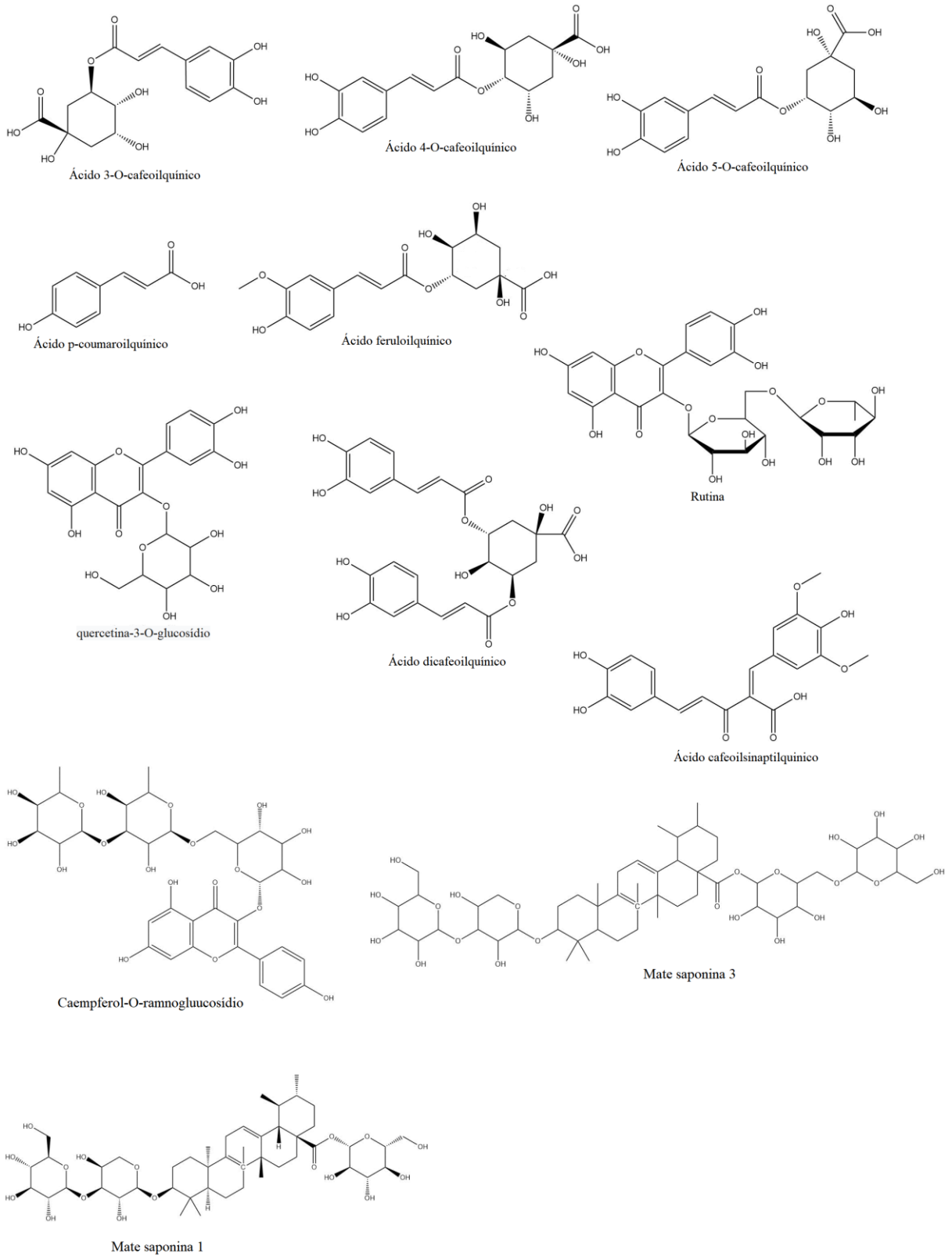
Apesar de não haver antraquinonas em sua composição, o cromatograma apresentado na Figura 9 mostra que há picos de intensidades consideráveis, indicando que há muitos compostos presentes. Assim, foi feita a análise da fração metanol-água utilizando o software MassLynx v4.1 para tentativamente identificar os metabólitos presentes. A identificação foi realizada através da geração dos espectros MS e MS/MS para cada pico e comparação com dados da literatura. As estruturas químicas dos compostos apresentados na Tabela 2 encontram-se apresentados na Figura 11.

Tabela 2. Compostos tentativamente identificados por UPLC-HRMS na fração metanol-água.

Pico no.	Tr min	[M-H] ⁻ Observada	[M-H] ⁻ Calculada	Fragmentos (MS/MS)	Fórmula empírica	Ppm (error)	Nome putativo	Ref.
1	1.62	353.0858	353.0873	191.0491, 179.0296, 135.0413	C ₁₆ H ₁₇ O ₉	-4.2	Ácido 3- <i>O</i> -cafeoilquínico (isômero)	MATEOS et al., 2018
2	2.57	353.0880	353.0873	191.0491, 179.0303, 135.0434	C ₁₆ H ₁₇ O ₉	2.0	Ácido 3- <i>O</i> -cafeoilquínico (isômero)	MATEOS et al., 2018
3	2.87	353.0866	353.0873	191.0513, 179.0306, 173.0398	C ₁₆ H ₁₇ O ₉	-2.0	Ácido 4- <i>O</i> -cafeoilquínico (isômero)	MATEOS et al., 2018
4	3.07	353.0876	353.0873	191.0465, 179.0368, 173.0419	C ₁₆ H ₁₇ O ₉	0.8	Ácido 4- <i>O</i> -cafeoilquínico (isômero)	MATEOS et al., 2018
5	3.37	367.1027	367.1029	193.0432, 191.0517, 173.0437	C ₁₇ H ₁₉ O ₉	-0.5	Ácido feruloilquínico	MATEOS et al., 2018
6	3.42	517.2282	517.2285	191.0561, 179.0339	C ₂₄ H ₃₇ O ₁₂	-0.6	Desconhecido	
7	3.57	353.0865	353.0873	191.0486	C ₁₆ H ₁₇ O ₉	-2.3	Ácido 5- <i>O</i> -cafeoilquínico (isômero)	MATEOS et al., 2018
8	3.66	337.0924	337.0923	191.0540,	C ₁₆ H ₁₇ O ₈	0.3	Ácido p-coumaroilquínico	MATEOS et al., 2018
9	3.86	367.1018	367.1029	193.0501, 191.0509, 173.0432	C ₁₇ H ₁₉ O ₉	-3.0	Ácido feruloilquínico (isômero)	MATEOS et al., 2018

10	4.00	609.1461	609.1456	301.0298, 300.0245	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	0.8	Rutina	MATEOS et al., 2018
11	4.53	463.0890	463.0877	301.0321, 300.0246	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂	2.8	Quercetina-3-O-glucosídeo	MATEOS et al., 2018
12	4.71	593.1508	593.1506	285.0363, 284.0305, 255.0269	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₅	0.3	Caempferol- <i>O</i> -ramnoglucosídeo	MATEOS et al., 2018
13	4.90	515.1193	515.1190	353.0733, 191.0500, 179.0319	C ₂₅ H ₂₃ O ₁₂	0.6	Ácido dicafeoilquínico (isômero)	MATEOS et al., 2018
14	5.13	515.1194	515.1190	353.0780, 191.0550, 179.0303	C ₂₅ H ₂₃ O ₁₂	0.8	Ácido dicafeoilquínico (isômero)	MATEOS et al., 2018
15	5.30	487.1237	487.1240	323.0779	C ₂₄ H ₂₃ O ₁₁	-0.6	Desconhecido	
16	5.58	529.1351	529.1346	397.1138, 367.1029	C ₂₆ H ₂₅ O ₁₂	0.9	Ácido cafeoilsinaptilquinico	BRAVO,et al, 2007
17	5.77	515.1194	515.1190	353.0836, 191.0554, 179.0403	C ₂₅ H ₂₃ O ₁₂	0.8	Ácido dicafeoilquínico	MATEOS et al., 2018
18	5.80	529.1353	529.1346	397.1098, 367.0983	C ₂₆ H ₂₅ O ₁₂	1.3	Ácido cafeoilsinaptilquinico	BRAVO,et al, 2007
19	7.01	1073.5543	1073.5533	749.4440, 587.3906	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₂	0.9	Mate saponina 3	MATEOS et al., 2017
20	7.93	911.5034	911.5034	749. 4413, 587.3965, 455.3459	C ₄₇ H ₇₅ O ₁₇	3.3	Mate saponina 1	MATEOS, et al, 2017
21	8.35	895.5000	895.4996	733.4396	C ₄₇ H ₇₅ O ₁₆	-6.1	Saponina J3B	MATEOS, et al, 2017
22	8.55	1073.5520	1073.5533	749.4431, 587.4030	C ₅₃ H ₈₅ O ₂₂	-1.2	Metasaponina 3 (isômero)	MATEOS, et al, 2017

Figura 11. Estruturas encontradas no extrato de erva-mate analisado

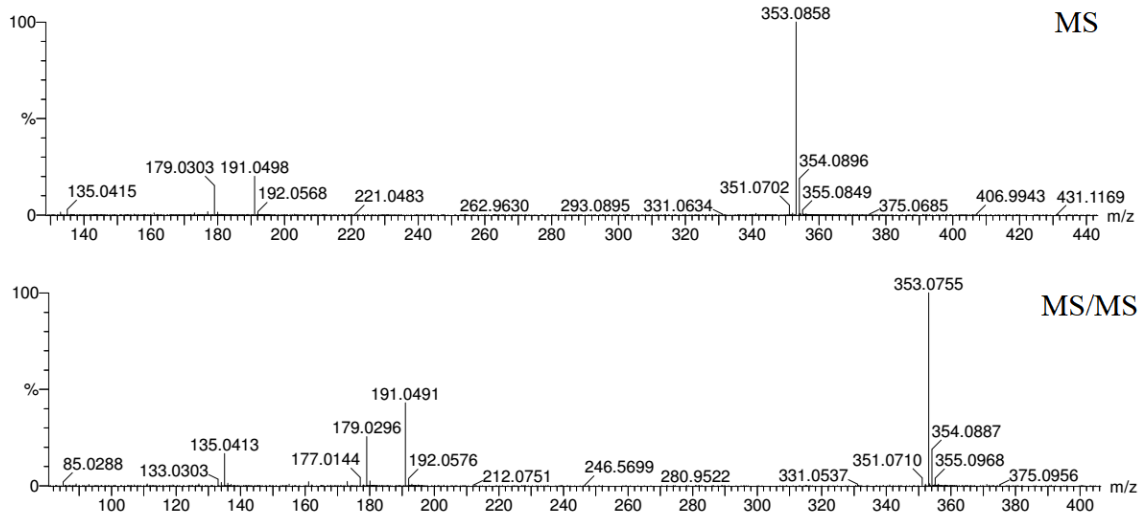


Fonte: Autor

Os picos de **1** e **2** mostram a presença de um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 353.0858 e 353.0880, respectivamente ($C_{16}H_{17}O_9$). O espectro MS/MS apresenta fragmentos em torno de

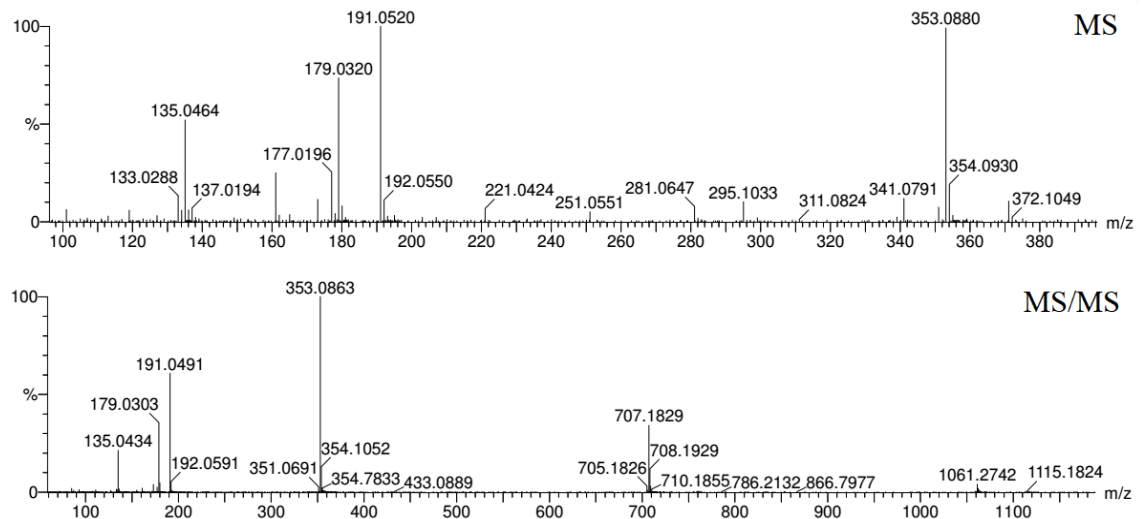
m/z 191, 179, 135, como mostram as Figuras 12 e 13. O fragmento com m/z 191 corresponde ao ácido quínico desprotonado, m/z 179 corresponde ao ácido cafeíco desprotonado e m/z 135 referente ao ácido cafeíco descarboxilado. De acordo com MATEOS, *et al.* (2018), esse padrão de fragmentação é referente ao ácido 3-cafeoilquínico.

Figura 12. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 1



Fonte: Autor

Figura 13. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 2

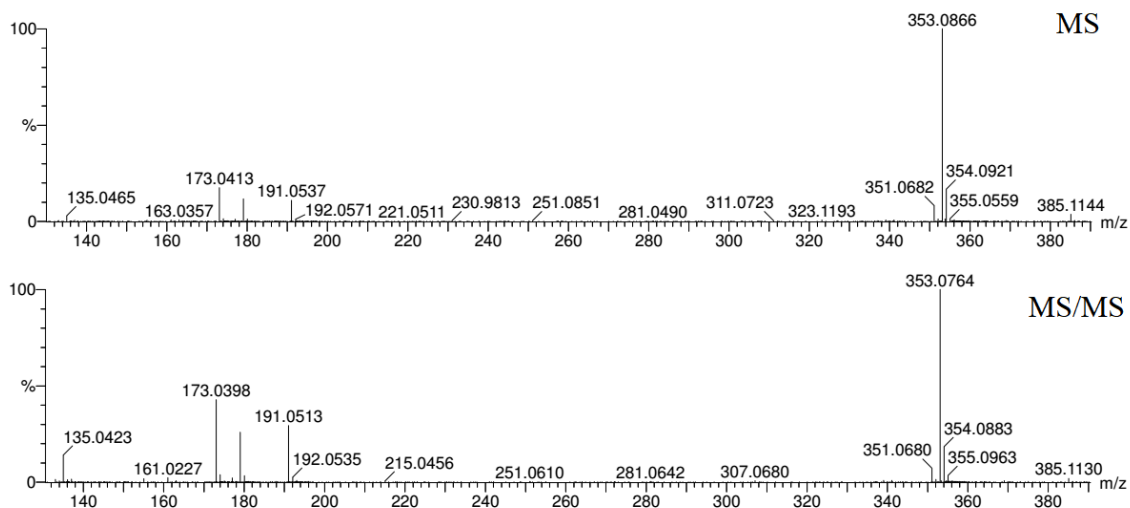


Fonte: Autor

Os picos de 3 e 4 mostram a presença de um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 353.0866 e 353.0876, respectivamente ($C_{16}H_{17}O_9$). O espectro MS/MS apresenta fragmentos em torno de m/z 191, 179, 173, como mostram as Figuras 14 e 15. O fragmento com m/z 191 corresponde ao ácido quínico desprotonado, m/z 179 correspondendo ao ácido cafeíco desprotonado e m/z

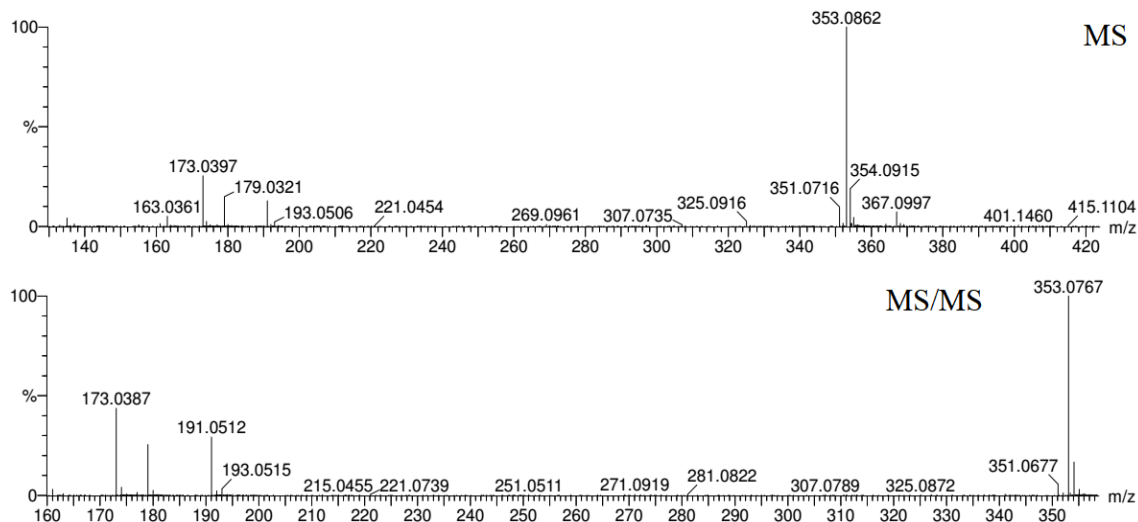
173 corresponde a substituição na posição 4 no anel. De acordo com MATEOS, *et al.* (2018), esse padrão de fragmentação é referente ao ácido 4-cafeoilquínico e seu isômero.

Figura 14. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico **3**



Fonte: Autor

Figura 15. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico **4**



Fonte: Autor

Os picos **5** e **9** mostram a presença um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 367.1027, 367.1018, respectivamente ($C_{17}H_{19}O_9$). O espectro MS/MS apresenta fragmentos em torno de m/z 193, 191 e 173, como mostram as Figuras 16 e 17. O fragmento com m/z 193 correspondente ao ácido ferúlico desprotonado, m/z 191 corresponde ao ácido quínico desprotonado e o m/z 173 corresponde a substituição na posição 4 no anel, esse padrão de fragmentação é compatível com o ácido feruloilquínico e seus isômeros apresentado por MATEOS, *et al.* (2018).

Figura 16. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 5

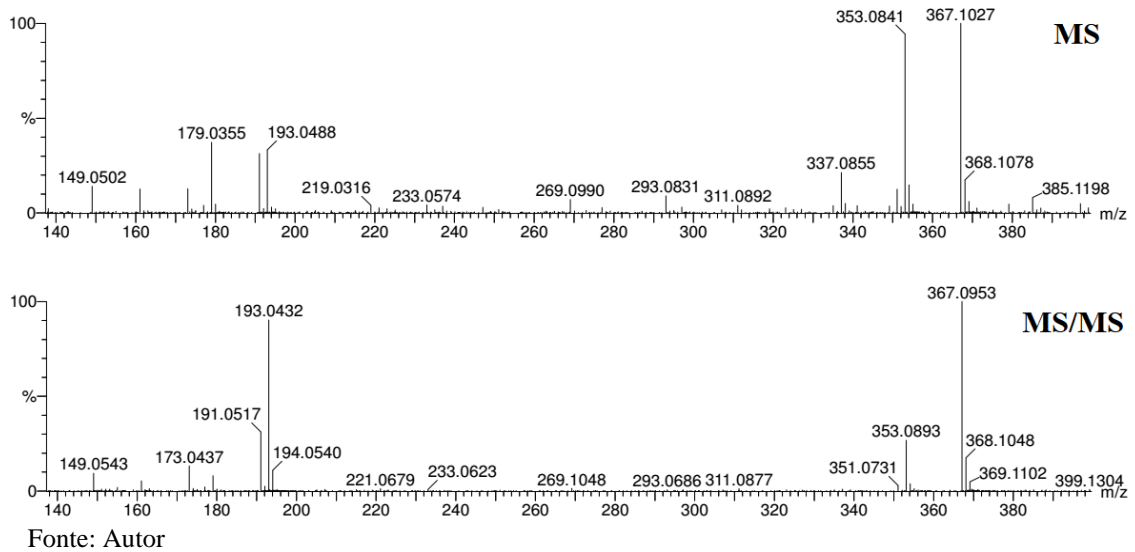
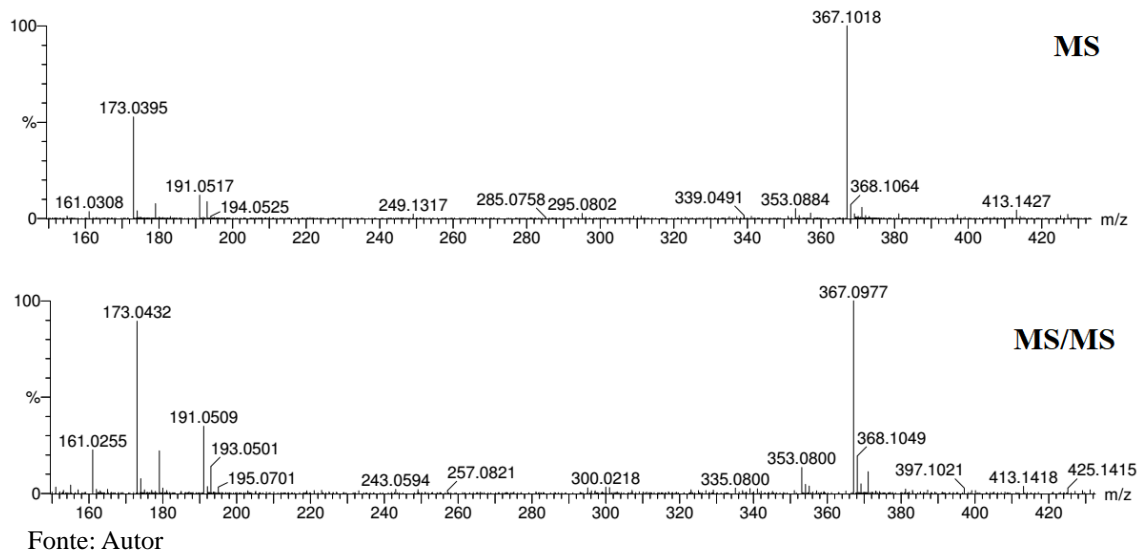
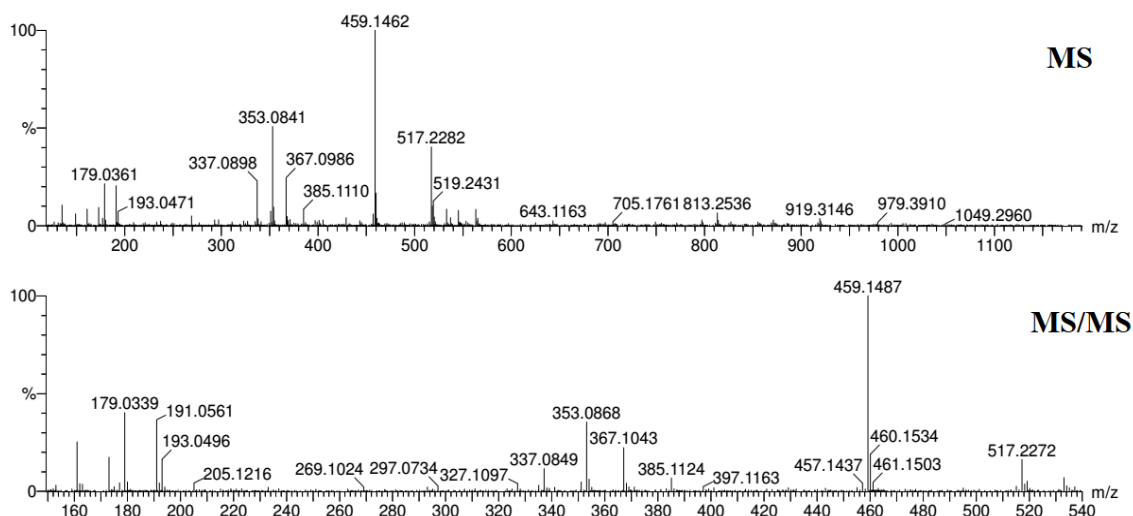


Figura 17. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 9



O pico 6 mostra a presença um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 517.2282 ($C_{24}H_{37}O_{12}$). O espectro MS/MS apresenta fragmentos em torno de m/z 191.0561, 179.0339 (Figura 18). Nesse caso, não foi possível encontrar na literatura compostos compatíveis com esses dados.

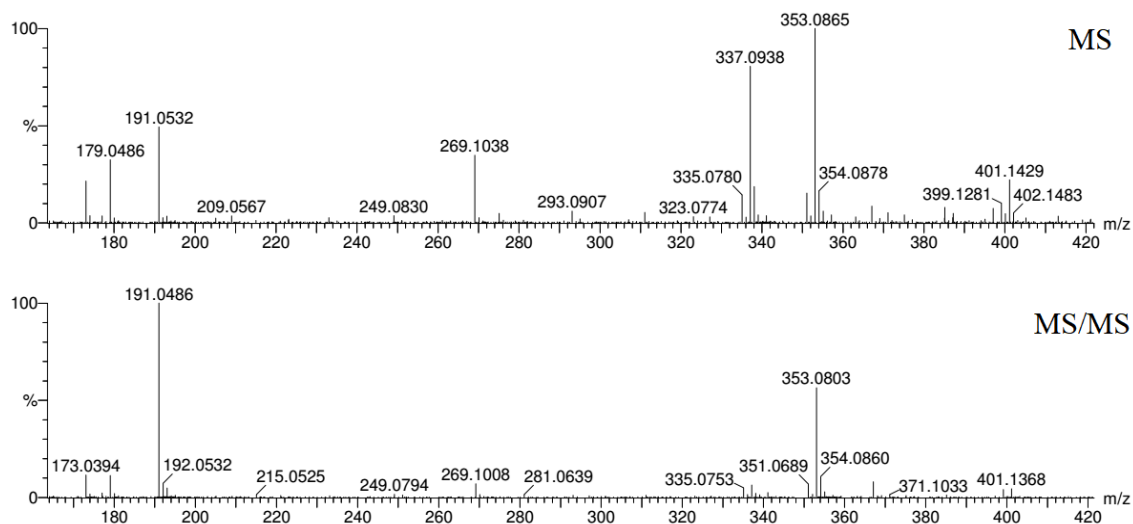
Figura 18. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 6



Fonte: Autor

O pico 7 mostra a presença de um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 353.0865 ($C_{16}H_{17}O_9$). O espectro MS/MS apresenta um fragmento com m/z 191.0486 (figura 19) correspondente ao ácido quínico desprotonado, compatível com o padrão de fragmentação do ácido 5-cafeoilquínico apresentado por MATEOS, *et al.* (2018).

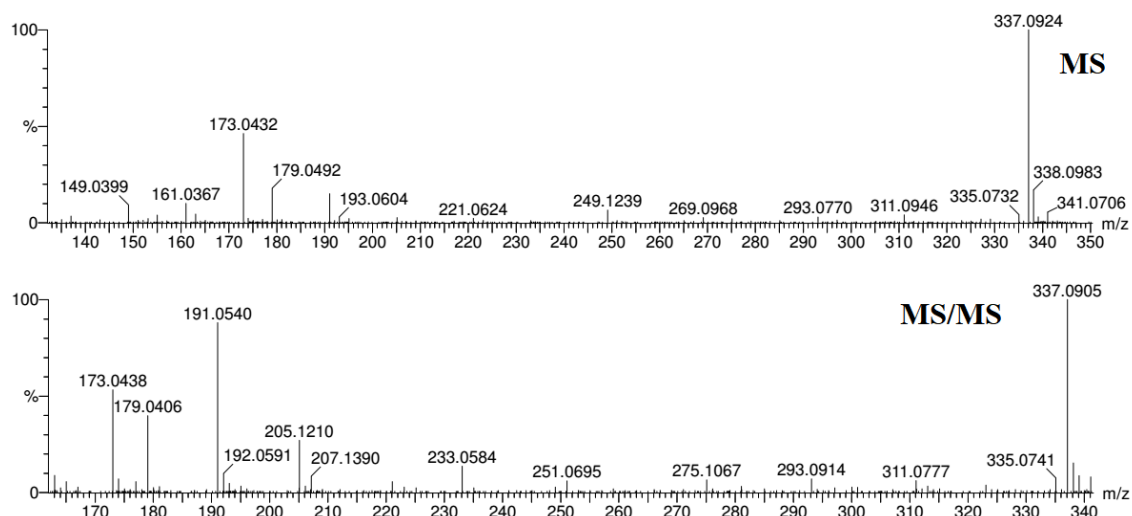
Figura 19. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 7.



Fonte: Autor

O pico 8 mostra a presença um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 337.0924 ($C_{16}H_{17}O_8$) e o espectro MS/MS apresenta o fragmento com m/z 191.0540 e 173 (Figura 20). O fragmento com m/z 191 é correspondente ao ácido quínico desprotonado. De acordo com MATEOS, *et al.* (2018), esse padrão de fragmentação é referente ao ácido *p*-coumaroilquínico.

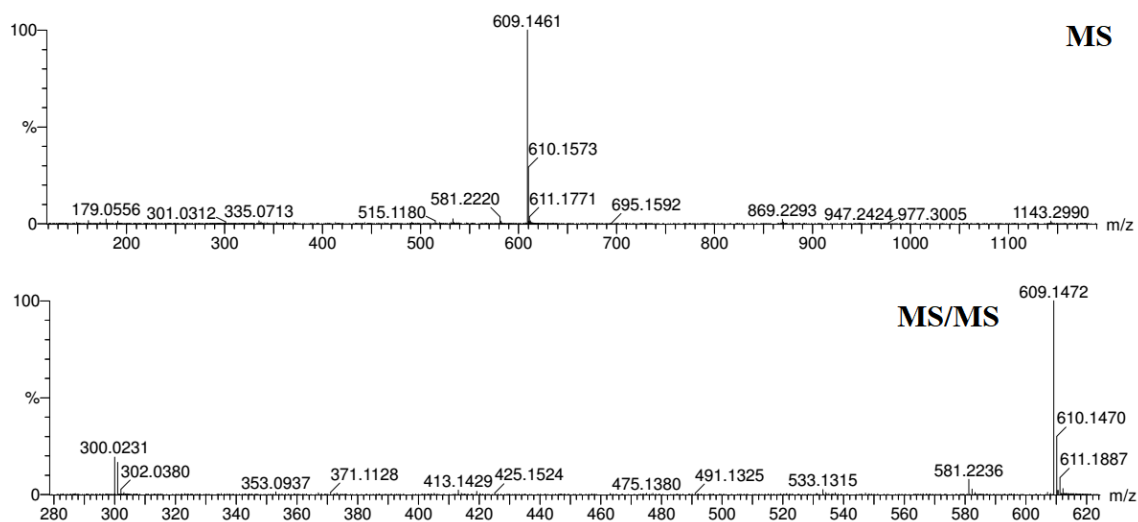
Figura 20. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 8



Fonte: Autor

O pico 10 mostra a presença de um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 609.1461 ($C_{27}H_{30}O_{16}$) e o espectro MS/MS apresenta fragmentos com m/z 301.0298 e 300.0245, como mostra a Figura 21. O fragmento com m/z 301 corresponde a quercetina desprotonada. De acordo com MATEOS, *et al.* (2018), esse padrão de fragmentação é referente a Rutina.

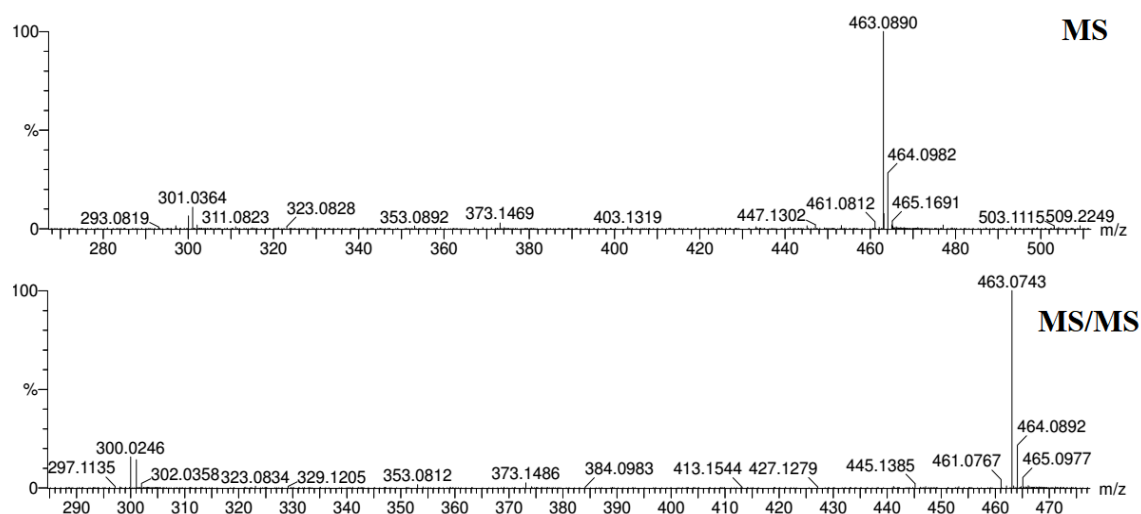
Figura 21. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 10.



Fonte: Autor

O pico 11 mostra a presença de um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 463.0890 ($C_{21}H_{19}O_{12}$). O espectro MS/MS apresenta fragmentos com m/z 301.0321 e 300.0246 como mostra a Figura 22. O fragmento com m/z 301 corresponde a quercetina desprotonada. De acordo com MATEOS, *et al.* (2018), esse padrão de fragmentação é compatível com a Quercetina-3-O-glucosídeo.

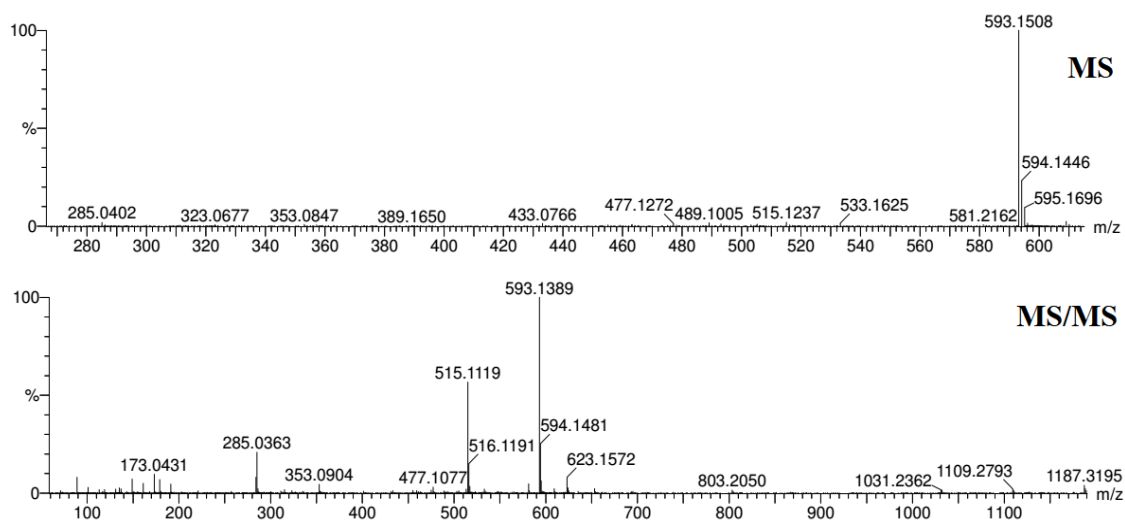
Figura 22. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 11.



Fonte: Autor

O pico 12 mostra a presença um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 593.1508 ($C_{27}H_{29}O_{15}$). O espectro MS/MS apresenta fragmentos de m/z 285.0363, 284.0305, 255.0269, como mostra a Figura 23. O fragmento com m/z 285 é compatível com a perda de ramnoglicosídeo. De acordo com MATEOS, *et al.* (2018), esse padrão de fragmentação é referente ao Caempferol-*O*-ramnoglicosídeo.

Figura 23. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 12.

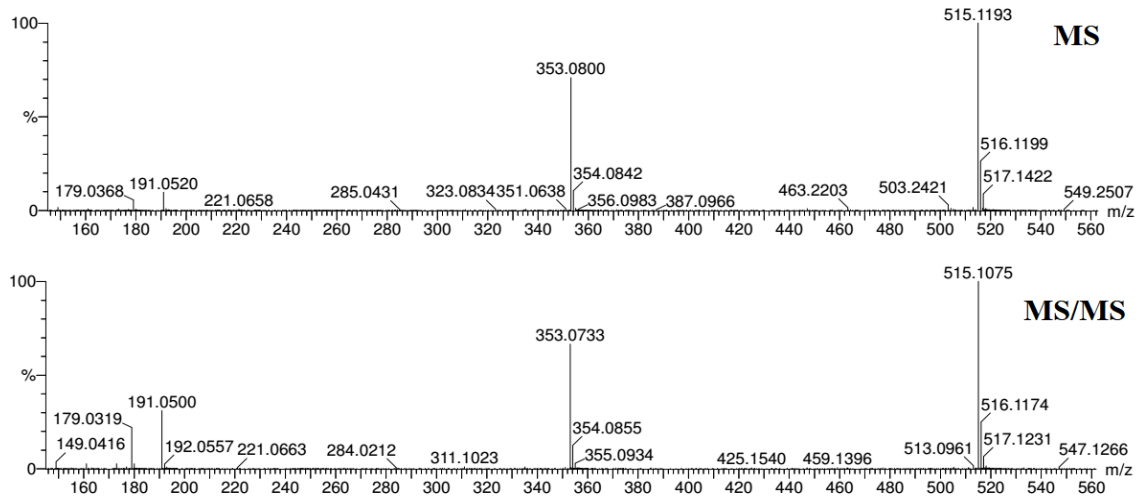


Fonte: Autor

Os picos 13, 14 e 17 mostram a presença de íons precursores $[M-H]^-$ com m/z 515.1193, 515.1194 e 515.1194, respectivamente ($C_{25}H_{23}O_{12}$). O espectro MS/MS apresenta fragmentos em torno de m/z 353, 191 e 179, como mostram as Figuras 24, 25 e 26. O fragmento com m/z 353 é obtido pela perda de um resíduo de cafeína e os fragmentos com m/z

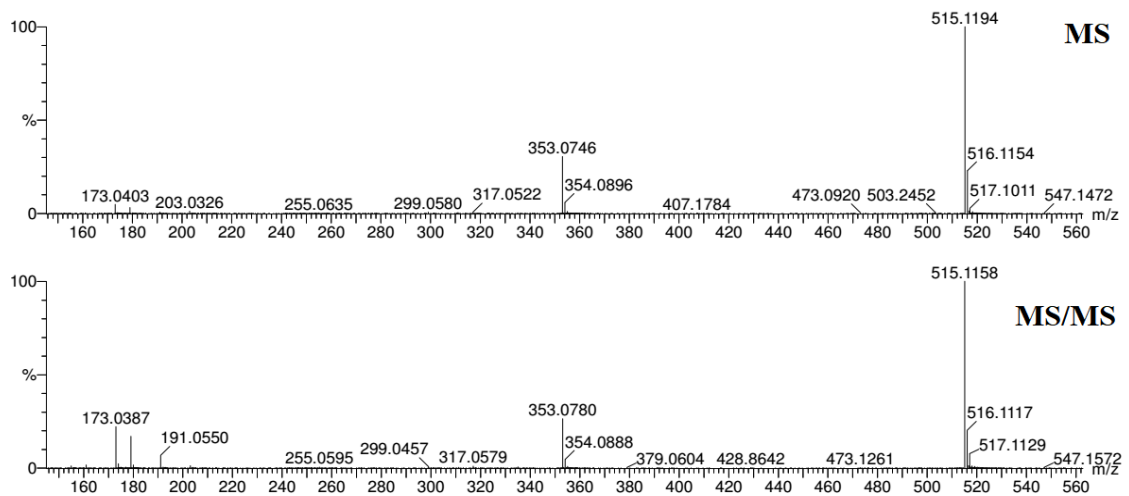
191 e 179 são semelhantes aos obtidos pelos picos. De acordo com MATEOS, *et al.* (2018), esse padrão de fragmentação é referente ao ácido dicafeoilquínico.

Figura 24. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 13.



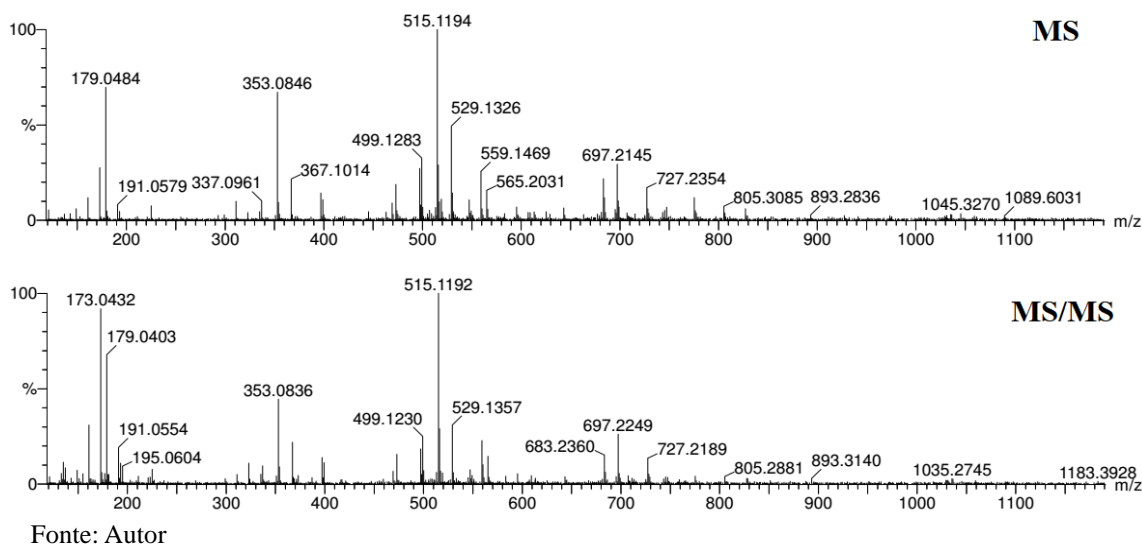
Fonte: Autor

Figura 25. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 14.



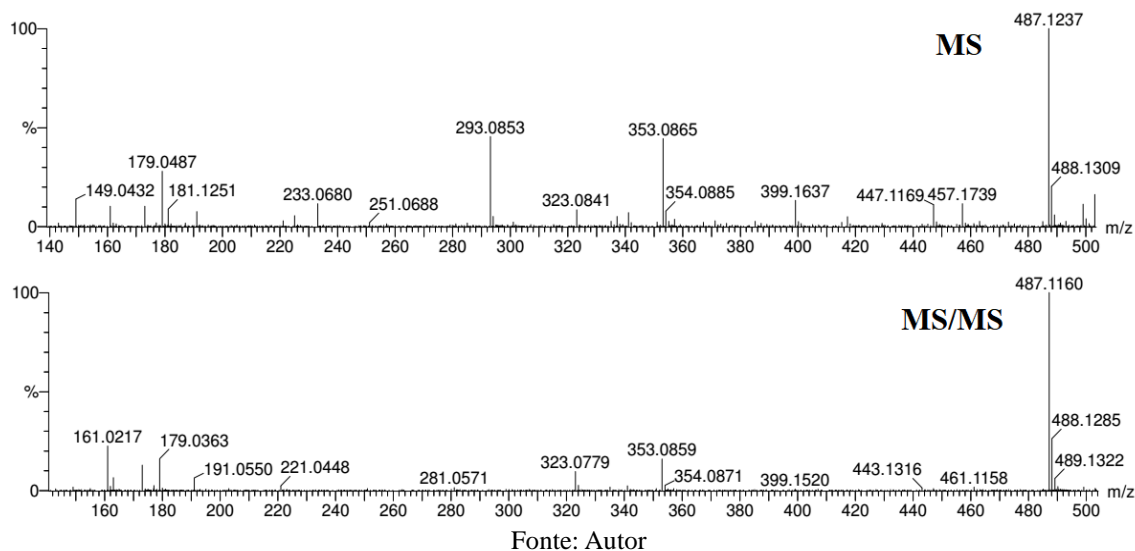
Fonte: Autor

Figura 26. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 17.



O pico **15** mostra a presença um íon precursor com m/z 487.1237 ($C_{24}H_{37}O_{12}$). O espectro MS/MS apresenta fragmento de m/z 323.0779, como mostra a Figura 27. Trata-se de um composto desconhecido, mesmo com a busca na literatura.

Figura 27. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 15.



Os picos **16** e **18** mostram a presença de íons precursores $[M-H]^-$ com m/z 529.1351 e 529.1353, respectivamente ($C_{26}H_{25}O_{12}$). O espectro MS/MS apresenta fragmentos em torno de m/z 397 e 367, como mostram as Figuras 28 e 29. De acordo com BRAVO, *et al.* (2007), esse padrão de fragmentação é referente ao Ácido cafeoilsinaptilquinico.

Figura 28. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 16.

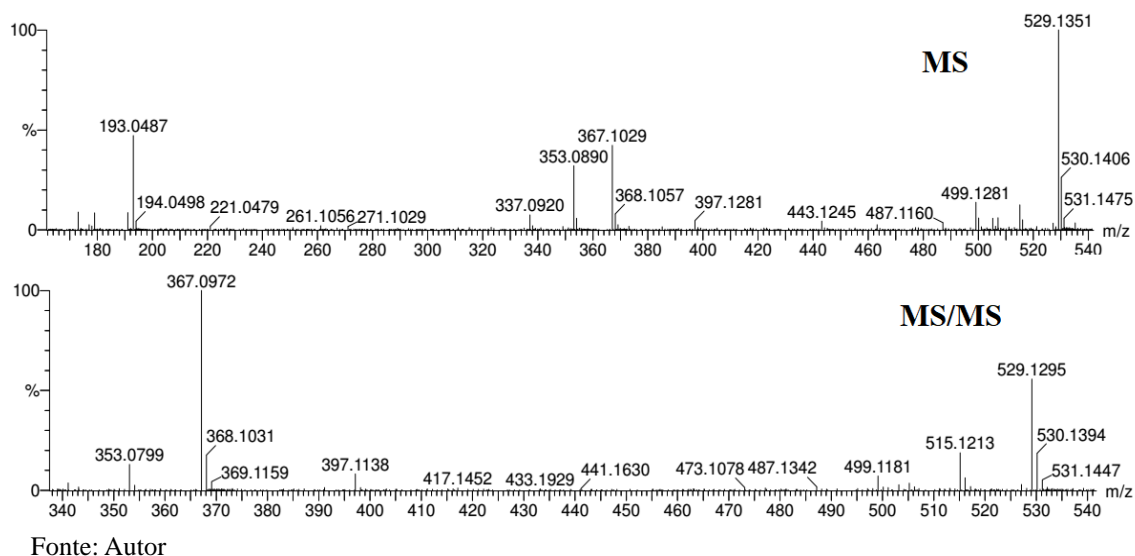
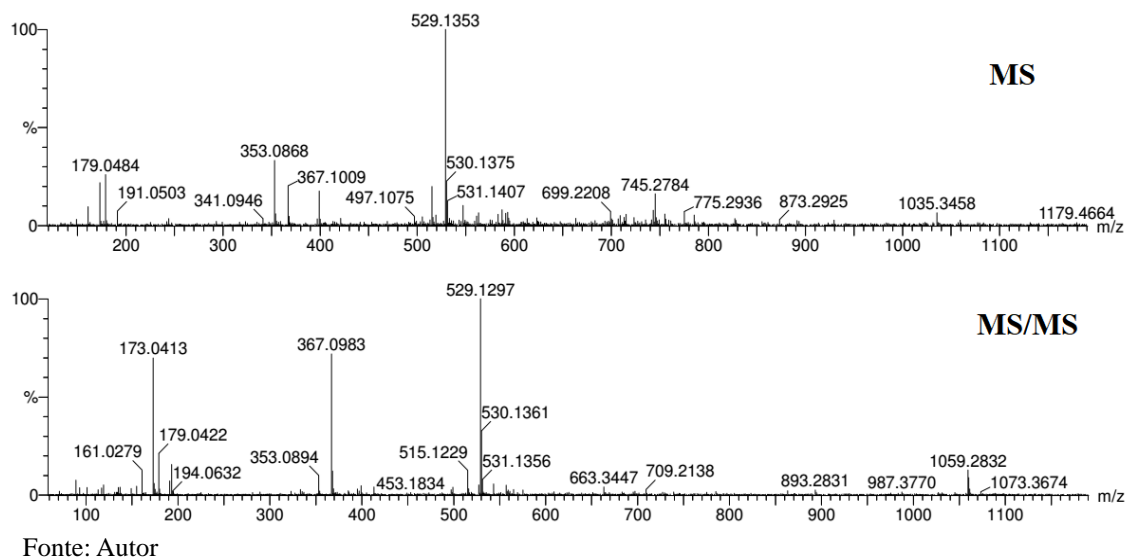
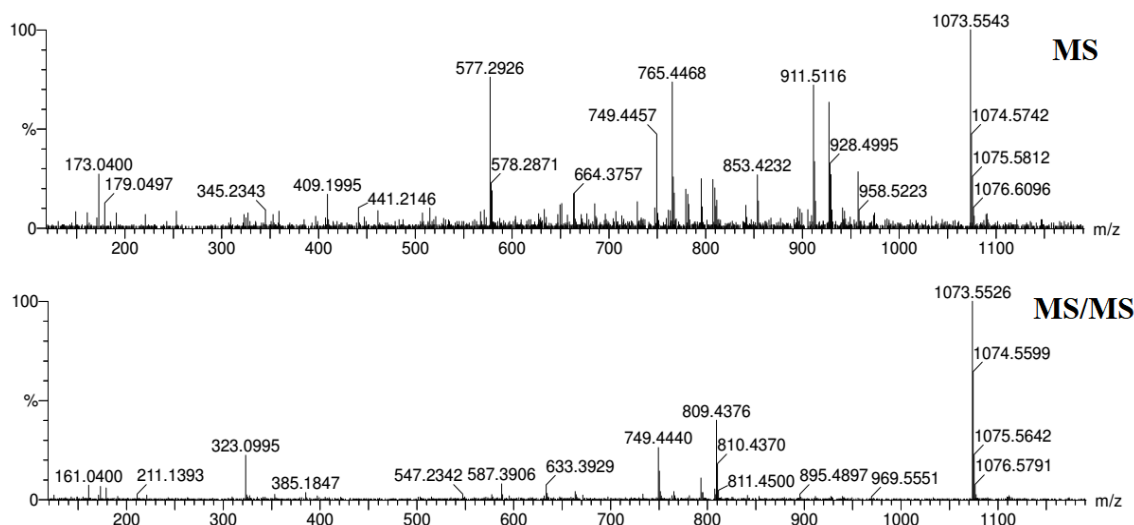


Figura 29. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 18.



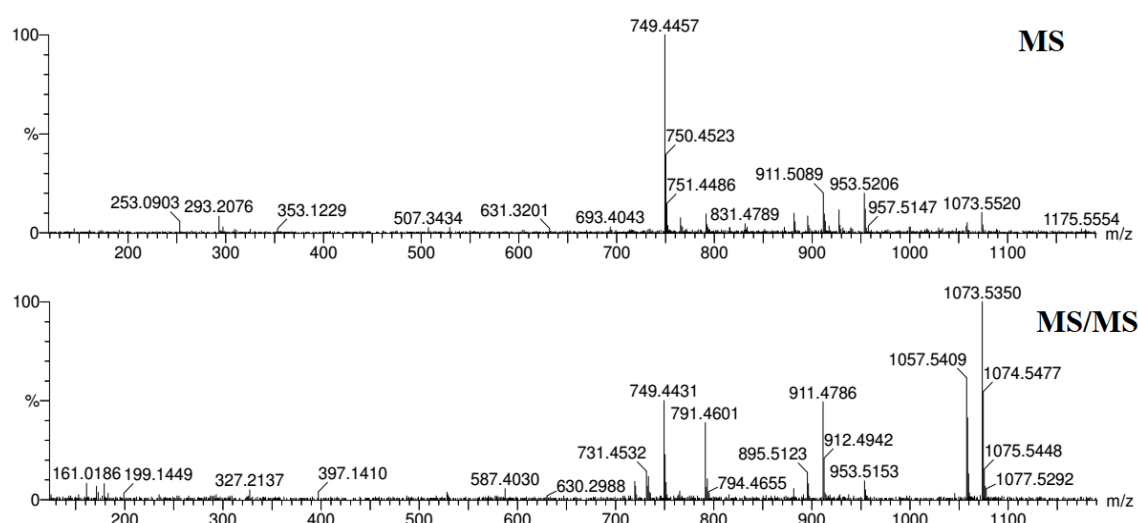
Os picos **19** e **22** mostram a presença de íons precursores $[M-H]^-$ com m/z 1073.5543 e 1073.5520, respectivamente ($C_{53}H_{86}O_{22}$). O espectro MS/MS apresenta fragmentos em torno de m/z 749 e 587, como mostram as Figuras 30 e 31. O fragmento com m/z 749 é formado devido a perda de um grupo glucopiranosil, assim como o fragmento com m/z 587. De acordo com MATEOS, *et al.* (2017), esse padrão de fragmentação é referente a Matesaponina 3.

Figura 30. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 19.



Fonte: Autor

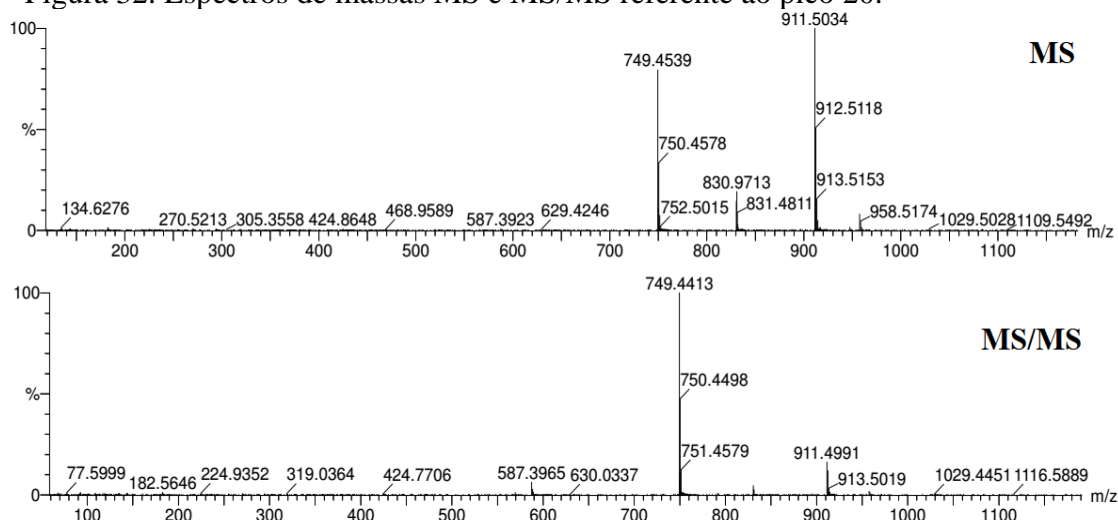
Figura 31. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 22.



Fonte: Autor

O pico **20** mostra a presença um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 911.5034 ($C_{47}H_{75}O_{17}$). No espectro MS/MS apresenta fragmentos de m/z 749. 4413, 587.3965 e 455.3459, como mostra a Figura 32. Os fragmentos com m/z 749 e 587 são formados devido a perda de grupos glucopiranosil e o fragmento com m/z 455 corresponde ao ácido ursólico ou oleanólico. De acordo com MATEOS, *et al.* (2017), esse padrão de fragmentação é referente a Matesaponina 1.

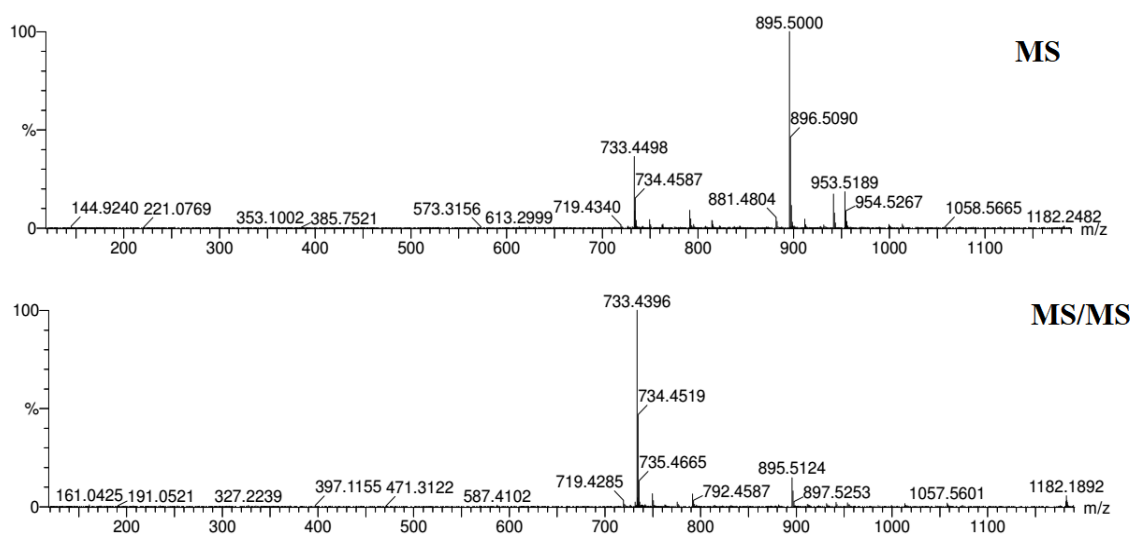
Figura 32. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 20.



Fonte: Autor

O pico **21** mostra a presença de um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 895.5000 ($C_{47}H_{75}O_{16}$). O espectro MS/MS apresenta fragmento de m/z 733.4396, como mostra a figura 33. O fragmento com m/z 733 é formado pela perda de uma hexose. De acordo com MATEOS, *et al.* (2017), esse padrão de fragmentação é referente a Saponina j3b.

Figura 33. Espectros de massas MS e MS/MS referente ao pico 21.

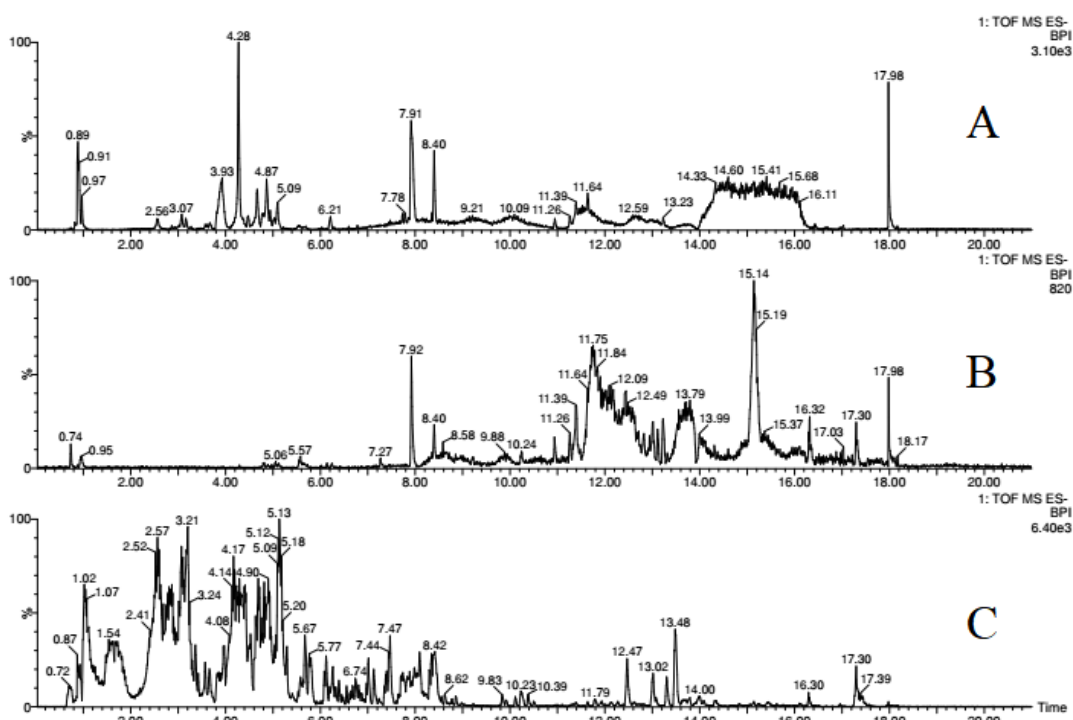


Fonte: Autor

5.3 Análise dos cromatogramas do extrato bruto e das partições diclorometano e metanol-água.

Os cromatogramas obtidos na análise do extrato bruto e das partições metanol-água e diclorometano por UPLC-HRMS estão apresentados na Figura 34.

Figura 34. Cromatogramas do extrato bruto (A), partição diclorometano (B) e partição metanol-água (C) obtidos na análise por UPLC-HRMS.

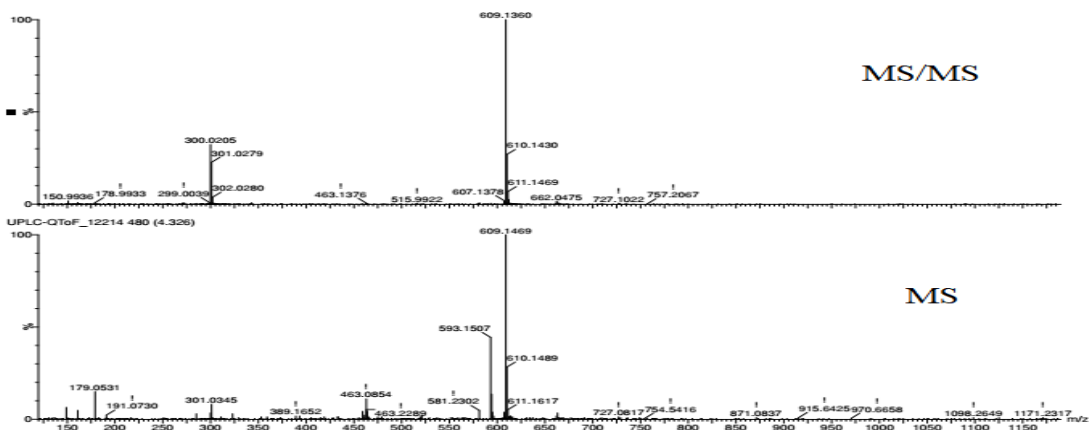


Fonte: Autor

Analisando os cromatogramas obtidos, é possível perceber que o cromatograma referente a partição diclorometano (B) possui uma menor intensidade. Isso aconteceu porque os compostos não foram muito solúveis, por conta da diferença de polaridade do solvente.

No cromatograma referente ao extrato bruto (A), o pico mais intenso (4.28 min.) mostra um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 609.1469 ($C_{27}H_{30}O_{16}$). Os fragmentos obtidos no espectro MS/MS foram 301.0279 e 300.0205, como mostra a Figura 35. De acordo com MATEOS, *et al.* (2018), esse padrão de fragmentação é referente a rutina, também presente na partição metanol-água.

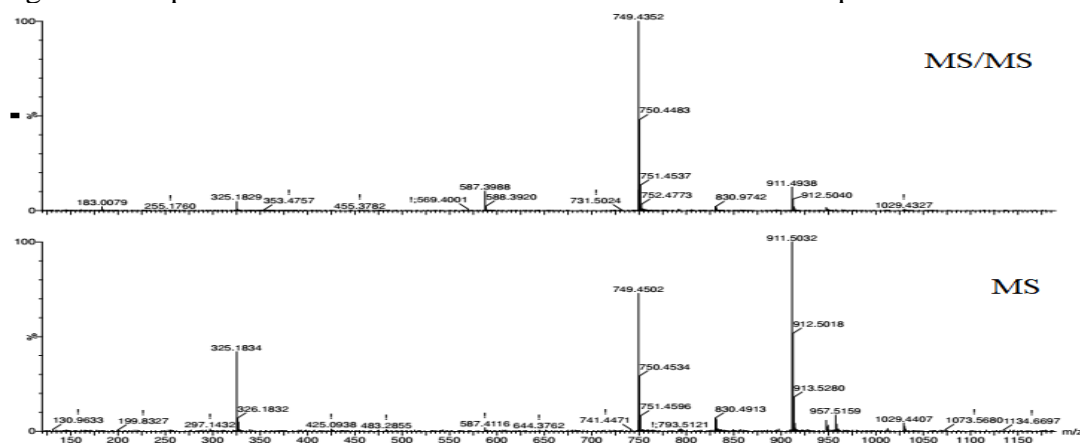
Figura 35. Espectros de massas MS e MS/MS referente a Rutina no extrato bruto



Fonte: Autor

Além da rotina, o pico com tempo de retenção em 7.91 min mostra um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 911.5032 ($C_{47}H_{75}O_{17}$). Os fragmentos obtidos no espectro MS/MS foram 749.4352, 587.3988 e 455.3782, como mostra a figura 36. De acordo com MATEOS, *et al.* (2017), esse padrão de fragmentação pertence a Matesaponina 1, também presente na partição metanol-água.

Figura 36. Espectros de massas MS e MS/MS referente a Mate saponina 1 no extrato bruto

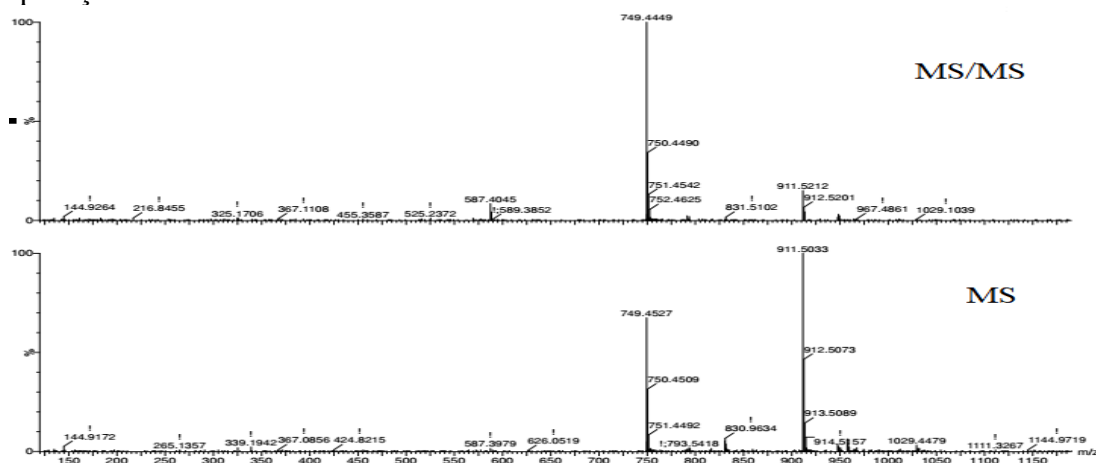


Fonte: Autor

A partir disso, é possível perceber que a partição metanol-água obteve uma maior eficiência na solubilização desses compostos, mostrando que eles possuem como característica serem mais polares, assim como os solventes utilizados.

No cromatograma da partição diclorometano (B), o pico com tempo de retenção em 7.92 min mostra um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 911.5033 ($C_{47}H_{75}O_{17}$). Os fragmentos obtidos no espectro MS/MS foram 749.4449, 587.4045 e 455.3587, como mostra a figura 37. De acordo com MATEOS, *et al.* (2017), esse padrão de fragmentação é referente a Mate saponina 1, também presente na partição metanol-água e no extrato bruto.

Figura 37. Espectros de massas MS e MS/MS referente a Mate saponina 1 da partição diclorometano



Fonte: Autor

A partir da análise dos cromatogramas, pode-se perceber que compostos como os ácidos derivados do ácido quínico não estão presentes na partição diclorometano (B). Já para o cromatograma referente a partição metanol-água, há uma maior variedade de compostos encontrados e os picos possuem maiores intensidades, mostrando que é mais viável a identificação dos compostos presentes na erva-mate utilizando a partição metanol-água. Apesar de que, compostos como a mate saponina 1 está presente nas três partições.

6 CONCLUSÃO

O trabalho desenvolvido permitiu a verificação da presença de antraquinonas em folhas de erva-mate, mostrando ser negativa para a presença dessas substâncias. Porém, a metodologia de extração por Soxhlet, aliada a técnica de análise UPLC-QTOF-MS, permitiu a partir do cromatograma obtido para a partição metanol-água, identificar tentativamente 22 metabólitos presentes em sua composição.

Posteriormente, com a comparação dos cromatogramas obtidos para cada partição e o extrato bruto, foi possível observar que alguns dos metabólitos não estavam presentes na partição diclorometano, isso por conta da diferença de polaridade dos compostos presentes com o solvente utilizado.

REFERÊNCIAS

ABREU DA SILVA, A.; BOTELHO DE SANTANA, L. Os riscos do uso de plantas medicinais durante o período gestacional: uma revisão bibliográfica. **Acta toxicológica argentina**, v. 26, n. 3, p. 118–123, 2018.

AICHNER, D.; GANZERA, M. Analysis of anthraquinones in rhubarb (*Rheum palmatum* and *Rheum officinale*) by supercritical fluid chromatography. **Talanta**, v. 144, p. 1239–1244, 2015.

ASSIS JACQUES, R. Caracterização química da erva mate (*Ilex paraguariensis*): Aplicação de diferentes processos de extração e influência das condições de plantio sobre a composição química. 2005. 158 p. Programa de pós-graduação em Química. (Tese de doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

BASTOS, D. H. M. *et al.* Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba maté (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. **Molecules**, v. 12, n. 3, p. 423–432, 2007.

BORDIN, D. C. M. *et al.* Técnicas de preparo de amostras biológicas com interesse forense. **Scientia Chromatographica**, v. 7, n. 2, p. 125–143, 2015.

BRAVO, L.; GOYA, L.; LECUMBERRI, E. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, *St. Hil.*) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. **Food Research International**, v. 40, n. 3, p. 393–405, 2007

BURRIS, K. P. *et al.* Composition and Bioactive Properties of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis* A. *St.-Hil.*): A Review. **Chilean journal of agricultural research**, v. 72, n. 2, p. 268–275, 2012.

CHIARADIA, M. C. *et al.* O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 623–636, 2008.

DEITERSSEN, J. *et al.* Anthraquinones and autophagy – Three rings to rule them all? **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 20, p. 115042, 2019.

GERKE, I. B. B. *et al.* Clarification of crude extract of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) by membrane processes: Analysis of fouling and loss of bioactive compounds. **Food and Bioproducts Processing**, v. 102, p. 204–212, 2017.

GNOATTO, S. C. B. *et al.* Influência do método de extração nos teores de metilxantinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. *St.-Hil.*, Aquifoliaceae). **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 304–307, 2007.

GUO, X. *et al.* In vitro investigation of the mutagenic potential of Aloe vera extracts. **Toxicol. Res.**, v. 3, n. 6, p. 487–496, 2014.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: Finalmente

“compatíveis”? **Scientia Chromatographica**, v. 5, n. 1, p. 27–46, 2009.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383–2389, 2010.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. UHPLC Uma abordagem atual: desenvolvimentos e desafios recentes. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 3, p. 197–207, 2012.

MALIK, E. M.; MULLER, C. E. Anthraquinones as pharmacological tools and drugs. **Medicinal Research Reviews**, v. 36, n.4, p. 705-748, 2016.

MATEOS, R. *et al.* LC–MSn characterization of saponins in mate (*Ilex paraguariensis*, *St. Hil*) and their quantification by HPLC-DAD. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 63, n. July, p. 164–170, 2017.

MATEOS, R. *et al.* Improved LC-MSn characterization of hydroxycinnamic acid derivatives and flavonols in different commercial mate (*Ilex paraguariensis*) brands. Quantification of polyphenols, methylxanthines, and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 241, n. July 2017, p. 232–241, 2018.

MÜLLER, S. O. *et al.* Genotoxicity of the laxative drug components emodin, aloemodin and danthron in mammalian cells: Topoisomerase II mediated? **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 371, n. 3–4, p. 165–173, 20 dez. 1996.

PANDITH, S. A. *et al.* Evaluation of anthraquinones from Himalayan rhubarb (*Rheum emodi* *Wall. ex Meissn.*) as antiproliferative agents. **South African Journal of Botany**, v. 95, p. 1–8, 2014.

SCHUBERT, A. *et al.* Variação anual de metilxantinas totais em amostras de *Ilex paraguariensis* A. *St. - Hil.* (Erva mate) em Ijuí e Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1233–1236, 2006.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis . In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento.

SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, Fundamentos de Química Analítica, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2006.

SRINIVAS, G. *et al.* Molecular mechanism of emodin action: Transition from laxative ingredient to an antitumor agent. **Medicinal Research Reviews**, v. 27, n. 5, p. 591–608, 2007.

ZHAN, H. *et al.* Rapid Determination of Total Content of Five Major Anthraquinones in *Rhei Radix et Rhizoma* by NIR Spectroscopy. **Chinese Herbal Medicines**, v. 9, n. 3, p. 250–257, 2017.