



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

**NANDRESSA FELIPE NOBRE**

**CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA PERFORMANCE COMBINADA COM  
ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO (UPLC-HRMS) PARA  
AVALIAÇÃO DO PERFIL METABÓLICO DA ERVA-MATE**

**FORTALEZA**

**2019**

NANDRESSA FELIPE NOBRE

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA PERFORMANCE COMBINADA COM  
ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO (UPLC-HRMS) PARA  
AVALIAÇÃO DO PERFIL METABÓLICO DA ERVA-MATE

Monografia apresentada ao curso de Química da  
Universidade Federal do Ceará, como requisito  
parcial à obtenção do título de Bacharel em  
Química.

Orientador(a) Pedagógica: Profa. Dra. Gisele  
Simone Lopes.

Orientador Profissional: Dr. Guilherme Julião  
Zocolo.

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)

---

N672c Nobre, Nandressa Felipe.  
Cromatografia líquida de ultra performance combinada com espectrometria de massas de alta resolução (UPLC-HRMS) para avaliação do perfil metabólico da erva-mate / Nandressa Felipe Nobre. – 2019.  
48 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,  
Curso de Química, Fortaleza, 2019.

Orientação: Profa. Dra. Gisele Simone Lopes.

Coorientação: Prof. Dr. Guilherme Julião Zocolo.

1. Ilex paraguariensis. 2. Metabolômica. 3. Cromatografia. I. Título.

CDD 540

---

NANDRESSA FELIPE NOBRE

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA PERFORMANCE COMBINADA COM  
ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO (UPLC-HRMS) PARA  
AVALIAÇÃO DO PERFIL METABÓLICO DA ERVA-MATE

Monografia apresentada ao curso de Química da  
Universidade Federal do Ceará, como requisito  
parcial à obtenção do título de Bacharel em  
Química.

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gisele Simone Lopes (Orientadora Pedagógica)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Guilherme Julião Zocolo (Orientador Profissional)  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

---

Dr. Jhonyson Arruda Carvalho Guedes  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Narcélio e Lusinete.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me proporcionou viver todos esses momentos, conhecer todas essas pessoas incríveis e que sem Ele nada disso faria sentido.

Aos meus pais, Narcélio e Lusinete, e ao meu irmão, Nanderson, quem sempre fizeram sacrifícios para que eu pudesse ter uma boa educação, sempre priorizaram meus estudos, sempre acreditaram em mim e sentiram muito orgulho de mim.

Ao meu namorado/noivo Enilton, por ter me dado apoio, carinho, amor durante todo esse tempo, ter aguentado minhas reclamações e choros, por ser tão compreensível nos momentos que eu precisava me afastar e por sempre acreditar em mim. Sem ele, esses 4 anos teriam sido muito mais difíceis. Além disso, agradecimento especial a sua mãe, Ivani, por ter o criado tão bem, e mais que uma sogra ser uma amiga para mim.

Ao Dr. Guilherme Zocolo que aceitou me orientar e fez isso de forma tão paciente, tão bem e me deu toda a estrutura para que eu pudesse realizar meu projeto. Ao Jhonyson que aceitou me indicar ao estágio e também me orientou durante todo o trajeto. Sem ele e o Dr. Guilherme esse trabalho não teria saído. Além disso, obrigada a todos os membros do LMQPN que me receberam tão bem.

As professoras Gisele e Wladiana que foram minhas “mães científicas” durante toda a graduação, me orientando e me ajudando sempre que eu precisava.

Aos membros do LEQA, especialmente ao Eder (O fiscal), Fábía (tia Fábía), Jane, Nilvan (Amado Mestre), Renato, Tamyris (Sinhá), Victor. Obrigada por toda a orientação e amizade de vocês durante toda a minha iniciação científica. Vocês fizeram grande participação na minha formação como química e tive a sorte de ter orientadores que se tornaram amigos.

A Débora, David e João Pedro, por todas as caronas, as risadas, as implicâncias (por favor, me desculpem pelas vezes que eu gritei com vocês). Conhecer vocês foi uma das melhores coisas que me aconteceram nesses 4 anos na UFC e nunca imaginei que um grupo de pessoas tão diferente de mim podia se tornar meus melhores amigos.

A todos que entraram comigo no curso em 2016.1, especialmente Gabis, Clarinha, Thiago, Thaissa, Samile, Felipe. Obrigada por todas as loucuras, pela ajuda nos momentos de desespero nas provas. Tive sorte que fazer o curso com pessoas tão inteligentes, companheiras como vocês e que são felizes antes de 8h da manhã.

A Amanda e Mirelle que estão comigo desde o ensino médio e mesmo que a gente não se veja muito, quando nos reunimos parece que nunca deixamos de se falar. Obrigada por aguentarem meu estresse no terceiro ano, continuarem comigo e acreditarem em mim.

A Embrapa Agroindústria Tropical que forneceu a estrutura para a realização do meu estágio e da monografia.

A Universidade Federal do Ceará onde eu passei esses 4 anos da minha vida, foi palco de vários momentos dela, local que encontrei pessoas maravilhosas, adquiri conhecimento e forneceu toda a estrutura para a conclusão do curso. A todos os professores da instituição os quais me passaram seus conhecimentos e tiveram relevância na minha formação acadêmica.

## RESUMO

A erva-mate, *Ilex paraguariensis*, é utilizada no preparo de bebidas como chimarrão, chá mate e tereré. Atualmente, também vem sendo utilizada na indústria farmacêutica, alimentícia e química por causa da sua diversidade de compostos químicos presente em sua constituição, tais como: compostos fenólicos, metilxantinas, saponinas, flavonoides. Esses compostos bioativos possuem várias propriedades terapêuticas, como elevado potencial antioxidante, apresentam ações anticancerígenas, cardioprotetoras, anti-inflamatórias, anti-obesidade. Além disso, alguns desses metabólitos presentes na erva-mate são responsáveis por conferir amargor e adstringência aos chás dessa erva. Logo, é importante desenvolver metodologias robustas para a identificação desses metabólitos. Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o perfil metabólico dos chás da mistura de folhas e ramos da erva-mate analisados por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>, empregando o modo de ionização positiva (ESI<sup>+</sup>). Foram tentativamente identificados 19 compostos, dentre os quais podemos destacar saponinas, metilxantinas, flavonoides, derivados de ácido caféico e clorogênico. As identificações de todas as moléculas foram corroboradas por dados referentes a quimiotaxonomia da planta, no mais, duas moléculas foram tentativamente identificadas pela primeira vez em *Ilex paraguariensis*, adicionando, portanto, uma importante contribuição para o entendimento do perfil metabólico da espécie.

**Palavras-chave:** *Ilex paraguariensis*. Metabolômica. Cromatografia.



## ABSTRACT

The yerba mate, *Ilex paraguariensis*, is used in the preparation of beverages such as mate, mate tea and tereré. Currently, it is also being used in the pharmaceutical, food and chemical industry because of its diversity of chemical compounds present in its constitution, such as: phenolic compounds, methylxanthines, saponins, flavonoids. These bioactive compounds have several therapeutic properties, such as high antioxidant potential, anti-cancer, cardioprotective, anti-inflammatory, anti-obesity actions. In addition, some of these metabolites in yerba mate are responsible for imparting bitterness and astringency to the yerba mate's teas. Therefore it is important to develop robust methodologies for the identification of these metabolites. Thus, the aim of the present study was to evaluate the metabolic profile of the leaves and branches mixtures of the yerba mate by analyzing the teas of the UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>, using the positive ionization mode (ESI<sup>+</sup>). Nineteen compounds were tentatively identified, among which we can highlight saponins, methylxanthines, flavonoids, caffeic acid and chlorogenic derivatives. The identifications of all molecules were corroborated by data on plant chemotaxonomy, in the other two molecules were tentatively identified for the first time in *Ilex paraguariensis*, thus adding an important contribution to the understanding of the metabolic profile of the species.

**Keywords:** *Ilex paraguariensis*. Metabolomics. Chromatography.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	12
<b>3.1 Objetivos específicos</b> .....	12
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	13
<b>3.1 Erva-mate</b> .....	13
<b>3.1.1 Aspectos históricos</b> .....	13
<b>3.1.2 Características botânicas</b> .....	14
<b>3.1.3 Áreas de ocorrência e importância social e econômica</b> .....	15
<b>3.1.4 Produtos da erva-mate</b> .....	17
<b>3.1.5 Composição química</b> .....	18
<b>3.1.5.1 Compostos Fenólicos</b> .....	18
<b>3.1.5.2 Metilxantinas</b> .....	21
<b>3.1.5.3 Saponinas</b> .....	22
<b>3.1.6 Atividades biológicas da erva-mate</b> .....	24
<b>3.1.7 Cadeia produtiva</b> .....	25
<b>3.2 Cromatografia líquida de ultra performance</b> .....	26
<b>3.3 Espectrometria de massas</b> .....	27
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
<b>4.1 Amostras, reagente e químicos</b> .....	28
<b>4.2 Extração aquosa para análise por UPLC</b> .....	28
<b>4.3 Análise por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup></b> .....	28
<b>4.4 Identificação dos compostos</b> .....	29
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	30
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	38
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	39

## 1 INTRODUÇÃO

A erva-mate, cientificamente chamada de *Ilex paraguariensis* St. Hil. (SAINT-HILAIRE, 1995) é uma árvore da família Aquifoliaceae, é nativa da América do Sul, tendo 80% de sua ocorrência no Brasil, mas também existe na Argentina e no Paraguai (COLPO,2012). Segundo a Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva-Mate do Paraná (2000) no Brasil existem 60 espécies desse gênero, sendo a *Ilex paraguariensis* considerada a ideal para a exploração comercial (BALCH, 2006).

Suas folhas e ramos são utilizados no preparo de bebidas como chimarrão, chá mate e tereré. Atualmente a erva-mate vem sendo utilizada na indústria farmacêutica, alimentícia e química por causa da sua diversidade de compostos químicos (BERTÉ, 2011; DORS, 2017; MAZUR, 2012; PAGLIOSA, 2009; SCHIRIGATTI, 2014)

Os principais compostos bioativos presentes são os compostos fenólicos, saponinas e metilxantinas (BORRÉ et al.,2010). Os compostos fenólicos e as metilxantinas são fontes de antioxidantes naturais, protegem o sistema biológico do estresse oxidativo, apresentam ações anticancerígenas, cardioprotetoras, anti-inflamatórias, anti-obesidade (ARÇARI et al., 2009; BAEZA et al., 2016; BRAVO et al., 2014; COELHO et al., 2010; MEJÍA et al., 2010; PIMENTEL et al., 2013). A atividade antioxidante da infusão de erva-mate e ação adstringente está relacionada com o conteúdo do flavonoide rutina e dos derivados cafeoilquínicos, por exemplo os ácidos caféico, 5- cafeoilquínico, clorogênico (CARDOSO-JÚNIOR et al., 2007; FILIP et al., 2000). Além disso, a atividade oxidante da erva-mate é maior que em outras espécies do gênero *Ilex* spp (DA SILVEIRA et al., 2017).

Nas metilxantinas, destacam-se a cafeína, teobromina e a teofilina que tem ação sobre o sistema nervoso central e incitam a diurese são atribuídas a elas a ação estimulante do mate (MATEOS et al., 2017). Além disso, estudos recentes atribuem a metilxantinas características neuroprotetivas, hipoglicêmicas, anti-inflamatórias e efeitos cardioprotetivos (MEJIA; RAMIREZ-MARES, 2014; MARTÍNEZ-PINILLA; OÑATIBIA-ASTIBIA; FRANCO, 2015). A cafeína em especial, é usada como referencial de controle de qualidade e análise do sabor, associada ao gosto amargo, da erva-mate e seus derivados (JUNIOR, 2005).

Dentre a classe das saponinas, encontram-se os triterpenóides glicosilados, os ácidos ursólicos e oleanóico (GNOATTO et al., 2008). Tais substâncias também são responsáveis pelo amargor e espuma do mate (DARTORA, 2010), mas também é associada a

efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, anticoagulante, neuprotetores (GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAĞ; MAZZA, 2007; OSBOURN; GOSS; FIELD, 2011; RAO; GURFINKEL, 2000).

Como esses compostos são responsáveis pelas atividades biológicas da erva-mate ou pelo amargor e adstringência das bebidas dessa planta, é importante o desenvolvimento de metodologias para a caracterização desses metabólitos na erva-mate.

Métodos cromatográficos são comumente empregados para a quantificação e caracterização desses compostos. Por exemplo, a cromatografia líquida de ultra alta eficiência combinada com ionização por *electrospray* e analisador de massas por tempo de voo (ESI-TOF), e/ou a espectrometria de massas tandem (MS<sup>n</sup>). A UPLC-HRMS que é uma técnica extremamente sensível, demandando quantidades mínimas de amostras e menor tempo de análise (FORCISI et al., 2013; FUNARI et al., 2013; MOCO et al., 2007).

O presente trabalho se propõe realizar a caracterização química via UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup> de misturas de amostras de folhas e ramos da erva-mate para traçar com exatidão o perfil metabólico dessa importante planta.

## **2 OBJETIVOS**

Estabelecer o perfil químico das folhas e ramos de erva-mate utilizando cromatografia líquida de ultra performance combinada com espectrometria de massas de alta resolução (UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>).

### **2.1 Objetivos específicos**

- Identificar tentativamente o perfil metabólico das amostras de chás.
- Estabelecer o conhecimento químico a respeito das principais classes de metabólitos existentes na planta.
- Prospectar tentativamente novos metabólitos na espécie.

## 3 REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1 Erva-mate

#### 3.1.1 Aspectos históricos

A literatura histórica reporta que a erva-mate já era consumida na forma de bebida e suas folhas eram usadas em rituais de sepultamento pelos povos andinos e incas. Além disso, os estudos também relatam que o produto era consumido diariamente pelos índios Guaranis na bacia dos rios Paraná, Uruguai e Paraguai e pelos índios Tupis no Mato Grosso do Sul (LINHARES, 1969; ARANHA, 1966; BERKAI; BRAGA, 2000; MAFRA, 2008). Foi com a primeira tribo que o General Paraguaio Irala e seus soldados, durante uma expedição às terras de Guairá, entraram em contato com a bebida feita das folhas da erva-mate. O General e os soldados no retorno a Assunção levaram a erva para consumo e para presentear amigos e familiares, o que contribuiu para a introdução da bebida nos costumes das colônias europeias (LESSA, 1953; LINHARES, 1969).

No início do século XVI, os jesuítas fizeram pesquisas para o aperfeiçoamento do sistema produtivo, o que provocou a racionalização do cultivo e os tornaram precursores do cultivo sistemático, coleta de sementes, produção de mudas e condução de erveiras (MAZUCHOWSKI, 1996). Logo, com o desenvolvimento do processo, houve o melhoramento da qualidade do produto, tornando-o mais cobiçado e o favorito nos mercados de Buenos Aires, Assunção e Montevidéu (LINHARES, 1969).

Entretanto, a economia ervateira teve um declínio no final do século XVII quando os jesuítas foram expulsos das missões portuguesas e espanholas. Consequentemente, o processo de exploração do mate retrocedeu e voltou a ser produzido conforme as técnicas indígenas (COSTA, 1989).

No início o século XIX, o comércio de erva-mate brasileira foi beneficiado, especialmente as exportações paranaenses, devido ao bloqueio das exportações paraguaias em 1813 para as nações vizinhas, com exceção do Brasil. O Paraguai, que era o maior fornecedor de mate para os mercados platinos, sofreu um isolamento político sancionado pelo ditador Francia o que levou a um desabastecimento da erva-mate no mercado (OLIVEIRA, 1974). Na metade desse mesmo século, eventos históricos como a guerra do Paraguai e os bloqueios inglês

e francês do porto de Buenos Aires ocasionaram momentos de prosperidade e depressão na economia do mate (VEGRO, 1994).

A partir de 1920, teve-se uma crise no mercado ervateiro, pois a Argentina, que era comprador do Brasil, passou a cultivar intensamente mate, fez política de incentivos (créditos bancários) e começou a fornecer o produto para Uruguai e Chile. Para amenizar a perda do mercado argentino, o governo brasileiro intensificou as propagandas de mate nas regiões centro-oeste e nordeste com o objetivo de ampliar os mercados internos. Porém a iniciativa não teve o resultado esperado, pois a economia da erva-mate no Brasil evoluiu pautada no extrativismo vegetal dos ervais nativos, concentrado em pequenos produtores, baseado na força de trabalho familiar, sem preocupações de organização da produção e racionalização do trabalho (OLIVEIRA, 1974; ARANHA, 1966).

Apenas na década de 80 que a cultura da erva-mate começou a ser novamente vista como forte componente de renda de pequenas e médias propriedades rurais e surgiram estudos na área e programas de incentivo com objetivos de apoiar e incentivar o desenvolvimento e expansão dos mercados consumidores internos e externos (SCHIRIGATTI, 2014).

### **3.1.2 Características botânicas**

A erva-mate foi catalogada cientificamente como *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. em 1822 pelo botânico Auguste de Saint-Hilaire (SAINT-HILAIRE, 1995). É uma planta arbórea, se adapta à lugares sombrios e úmidos (umbrófila), da divisão angiosperma, da classe dicotiledonae, ordem da Celastrales, da família Aquifoliaceae, gênero *Illex* e espécie *paraguariensis* (BERTÉ, 2011; PAGLIOSA, 2009; SCHIRIGATTI, 2014). Na fase adulta pode atingir 8 a 15 metros, mas devido as podas, o tamanho do porte não passa de 7 metros (SCHIRIGATTI, 2014). O tronco da erva-mate é cilíndrico, reto ou pouco tortuoso, a copa é baixa e com folhagem verde escura (PAGLIOSA, 2009). Os ramos são cilíndricos ou subcilíndricos, cinzentos com 20 a 25 mm de diâmetro, podendo alcançar até 50 mm. As suas folhas mostram-se estreitas na base e ligeiramente obtusas no vértice, medem de 8 a 10 cm de comprimento por 4 a 5 cm de largura. (PAGLIOSA, 2009). As flores são hermafroditas, pequenas e possuem cor brancas esverdeadas florescem todo ano entre a primavera e o verão brasileiro (de outubro a dezembro em seu habitat de origem) (BERTÉ, 2011; SCHIRIGATTI, 2014). Os frutos avermelhados possuem tamanho de 4 a 6 mm e cada um contém quatro sementes que podem originar novas árvores (Figura 1) (BERTÉ, 2011).

Figura 1- Estruturas botânicas da erva-mate.



Fonte: BERTÉ, 2011.

### **3.1.3 Áreas de ocorrência e importância social e econômica**

A árvore de erva-mate é uma espécie da América do Sul, tendo 80% de sua ocorrência no Brasil, mas também existe na Argentina e no Paraguai (COLPO, 2012). Segundo a Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva-Mate do Paraná (2000), a família Aquifoliaceae é composta por 600 espécies, sendo a *Ilex paraguariensis* uma das 60 que ocorrem no território brasileiro. Essa é considerada a ideal para a exploração comercial (BALCH, 2006).

A erva-mate é uma árvore de crescimento lento, se desenvolve em climas temperado e subtropical, com chuvas regulares distribuídas durante o ano e com índices pluviométricos médios entre 1.500 mm e 2.000 mm (STURION; MEDRADO, 2010), temperaturas entre 17 a 21 °C (média anual). As árvores mais velhas podem suportar temperaturas inferiores. Os solos profundos, argilosos e arenosos são adequados para o crescimento da erva-mate (MACCARI JUNIOR, 2000).

No Brasil, a erva-mate é uma espécie nativa encontrada sob meia sombra dos pinheiros, imbuías e outras árvores de grande porte (PAGLIOSA, 2009). Presente nas zonas afastadas da faixa litorânea, plantas de erva-mate abrangem uma área estimada de 450.000 km<sup>2</sup>, correspondendo a 5% do território nacional (DORS, 2017; PAGLIOSA, 2009). A área de dispersão geográfica dos ervais compreende a região sul, incluindo o centro-oeste do Rio Grande do Sul, grande parte do território de Santa Catarina, centro-sul do Paraná e pequenas porções que se estendem para o sul de São Paulo e Mato Grosso do Sul (SCHIRIGATTI, 2014).

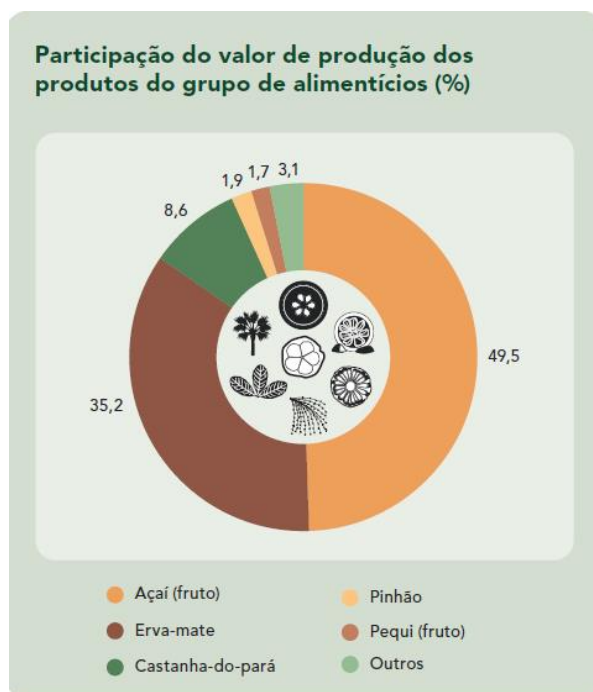
O mate está no rol das atividades de extração de produtos não madeireiros nativos que exercem grande relevância para as comunidades ribeirinhas locais, contribuindo para a



ocupação da mão de obra e distribuição de renda (IBGE, 2017). Especificamente para a *Illex paraguariensis* seu valor socioeconômico está atribuído ao fato de ser uma das espécies que sofre pouco com as oscilações climáticas, quando comparada aos cultivos agrícolas em geral, apresentando, portanto, grande importância para a fixação do homem ao campo (PAGLIOSA, 2009). De acordo com os resultados do IBGE (2017), o grupo dos produtos não alimentícios da produção não madeireira de extrativismo voltou a apresentar incremento no valor de produção (7,3%), sendo a erva-mate o produto com a segunda maior participação (Gráfico 1). Sua atividade extrativa gerou R\$ 423,9 milhões, crescimento de 6,4% frente ao ano anterior. Os 10 municípios com maior produção de 2017 encontram-se no Estado do Paraná, com destaque para São Mateus do Sul que é o maior produtor nacional, com 18,9% da produção brasileira.

O Brasil exportou US\$ 78,83 mi de erva-mate em 2017 em que o Rio Grande do Sul foi o estado com maior percentagem de exportações com 81,4% (RITTA, 2018). Segundo o Fundomate (2018), em fevereiro de 2017, a exportação brasileira de mate teve uma queda de 23,27% do volume exportado e 28,09% no faturamento ante o mesmo período de 2016, mas se obteve uma recuperação se comparado ao mês anterior. Em relação ao mês de março, no comparativo com o mesmo período de 2016, observa-se queda no volume exportado, equivalente a 8,8% e de 12,23% no faturamento. Na comparação com o mês anterior percebeu-se uma significativa recuperação no volume exportado equivalente à de 26,74%, enquanto para o faturamento a teve-se uma elevação de 27,80%. No mês de abril, em que se era esperado a continuidade do crescimento, ocorreu queda de 20,24% do volume exportado. Repercutindo em 21,85% de redução no faturamento. Em relação ao mês anterior também se teve uma queda no volume de exportação, na ordem de 22,6% e retração financeira de 21,9%.

Gráfico 1 - Participação do valor de produção dos produtos do grupo alimentícios.



Fonte: IBGE, 2017.

### 3.1.4 Produtos da erva-mate

Folhas secas e moídas e os ramos finos da *Ilex paraguariensis* são usadas no preparo de bebidas como chimarrão, chá mate e tereré. No chimarrão, forma mais comum de consumo, é feito infusão a quente das folhas e ramos processados. Sendo bebido em uma cuia de porongo (DARTORA, 2010; DORS, 2017). Enquanto no tereré, o mate é ligeiramente torrado e deixado em repouso por aproximadamente 8 meses em local seco para então ser consumido com água fria. Na forma de chá, tem-se a adição de água quente ao extrato aquoso liofilizado de erva-mate (DARTORA, 2010).

Além do consumo nesses tipos de bebidas, a erva-mate vem sendo explorada na indústria alimentícia como aditivo; refrigerante; bebidas energéticas; balas; como corantes; na culinária em pratos diversos (pães, bolos e bolachas, em sorvetes, gelatinas, chicletes); na indústria química em tintas e resinas, medicamentos, desinfetantes, adstringentes, cosméticos e perfumaria, por causa da diversidade de compostos químicos presentes na planta (BERTÉ, 2011; DORS, 2017; MAZUR, 2012; PAGLIOSA, 2009; SCHIRIGATTI, 2014). Alguns pesquisadores brasileiros tem levantado a possibilidade de desenvolver produtos alimentares à base de folhas e a partir de subprodutos do beneficiamento da erva-mate (PAGLIOSA, 2009). Como exemplos de produtos podem ser citados o xarope de erva-mate, desenvolvido a

base de folhas da planta pela Universidade Federal de Santa Catarina juntamente com ervateiros do município de Catanduvas, SC (patente nº PI0203157-4) (UFSC, 2002); bala com elevado teor de fibras, elaborada a partir do pó de mate (VIEIRA et al., 2008); bebida à base do pó de folhas cancheadas e ramos desidratados, que apresenta atividade antioxidante igual ao do chá mate e chimarrão (CONTRERAS, 2007); bebida à base de folha de erva-mate enriquecida com fibra (BARBOZA, 2006) e extrato de folha de erva-mate orgânica, com adição de goma arábica para o preparo de bebidas e outros produtos alimentícios (VALDUGA; BATTESTIN; FINZER, 2003). Pesquisas têm indicado que as folhas de erva-mate também podem ser exploradas para a conservação de alimentos, como produtos cárneos pré-cozidos (DELADINO et al., 2008; RACANICCI; DANIELSEN; SKIBSTED, 2008).

### ***3.1.5 Composição química***

Os principais compostos bioativos presentes na erva-mate são os compostos fenólicos, saponinas e metilxantinas, principalmente cafeína e em menor quantidade teobromina e teofilina (DE RESENDE et al., 2015; DORS, 2017; PAGLIOSA, 2009); óleo essencial como linalol e limoneno (PAGLIOSA, 2009), vitaminas A, C, B1, B2 e B6, e minerais como magnésio, ferro, fósforo, potássio, zinco, sódio (BERTÉ, 2011; MAZUR, 2016), clorofila (PAGLIOSA, 2009), além de água, celulose, dextrina, glicose, pentose, aminoácidos, substâncias graxas, resina aromática (formada por uma mistura de oleína, palmitina, lauroestearina e um óleo cujas características muito se aproximam da cumarina); ácido fólico e legumina (DORS, 2017; PAGLIOSA, 2009). A composição química da erva-mate está relacionada ao estágio evolutivo da planta, à época de colheita, as características climáticas e do solo, tipo de cultivo, idade da planta, variabilidade genética, luminosidade, parte da planta, armazenamento. Esses fatores também afetam a capacidade oxidante (BLUM-SILVA et al., 2015; COLPO et al., 2016; DA SILVEIRA et al., 2016; HOLOWATY et al., 2016; ROSSA et al., 2017; SOUZA et al., 2015).

#### ***3.1.5.1 Compostos Fenólicos***

Os compostos fenólicos pertencem à classe de substâncias químicas que incluem uma grande diversidade de estruturas, simples e complexas, derivadas da fenilalanina e da tirosina. Essas moléculas podem ser formadas por um ou mais anéis benzênicos, ligados a

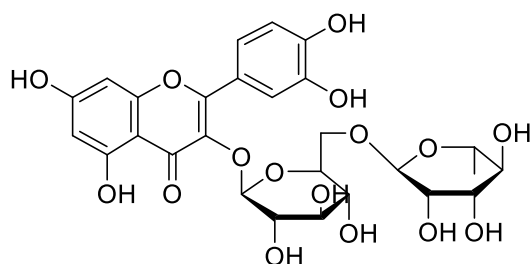
grupos hidroxilas, podendo ainda apresentar como substituintes grupamentos metil, metoxil, amino e monossacarídeos (HARBORNE, 1999; MAZUR, 2016; ROSSA, 2017). As principais classes de polifenóis são definidas de acordo com a natureza de sua estrutura são elas os ácidos fenólicos, flavonóides, taninos, cumarinas, antraquinonas e, menos comumente, estilbenos e lignanas (MAZUR, 2016; ROSSA et al., 2017).

Essa classe de compostos são geralmente importantes metabólitos secundários das plantas tendo com funções biológicas crescimento e desenvolvimento vegetativo; defesa contra herbívoros e patógenos; funções de atrativos de polinizadores ou dispersores de sementes; proteção contra a radiação ultravioleta (ROSSA, 2017; TAIZ; ZEIGER, 2013); são responsáveis pela pigmentação da maioria das flores e frutos e por algumas características organolépticas dos alimentos, como a maturidade dos frutos (LUZ, 2016; MAZUR, 2016; ROSSA et al., 2017); atividades antimicrobiana, antifúngica; anti-inflamatória; cardioprotetora; efeitos vasos dilatadores; funções de dissuasão de insetos; quelação de metais pesados tóxicos e propriedades antioxidante contra radicais livres gerados durante a fotossíntese (YURAWECZ et al., 2005) Nutricionalmente, exercem uma ação preponderante no desenvolvimento de características sensoriais como a cor e sabor de certos alimentos (LUZ, 2016).

Os flavonóides são o maior grupo dos compostos fenólicos encontrados em alimentos, com ampla distribuição em frutas, hortaliças e legumes, além dos grãos, cereais e leguminosas (LUZ, 2016). Apresentam estrutura com dois anéis aromáticos, unidos por um anel heterocíclico oxigenado. Nesse grupo encontram-se flavanóis, flavanonas, antocianidinas, flavonas, isoflavonas e flavonóis, entre outros. Esses diferem entre si principalmente de acordo com o grau de insaturação e oxidação do anel. (MAZUR, 2016). Um dos mais importantes mecanismos de ação dos flavonoides deve-se a sua propriedade antioxidante (MAJCHRZAK; MITTER; ELMADFA, 2004), com potencialidades para prevenção de doenças (GONZÁLEZ-GALLEGO et al., 2010). No entanto, descobriu-se que a importância dos flavonoides não é apenas quanto à atividade antioxidante, estando, também, atrelados à atividade antimutagênica, induzindo a apoptose (morte programada) de algumas células mutantes (ARCHIVIO et al., 2007).

Na composição química da erva-mate encontra-se a rutina pertencente à classe dos flavonóis. Essa classe se difere dos outros flavonóides pela presença do grupo hidroxílico (na posição 3) e do grupo carbonílico (na posição 4), apresentando uma dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 do anel C (MAZUR, 2016). A rutina (Figura 2) é constituída pela quercetina associada a um dissacarídeo (6-O- $\alpha$ -L-ramnose-D-glucose) (MAZUR, 2016).

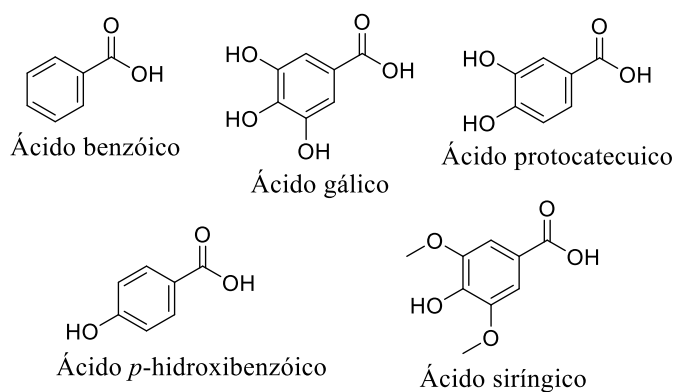
Figura 2 - Estrutura química da rutina.



Fonte: AUTORA, 2019.

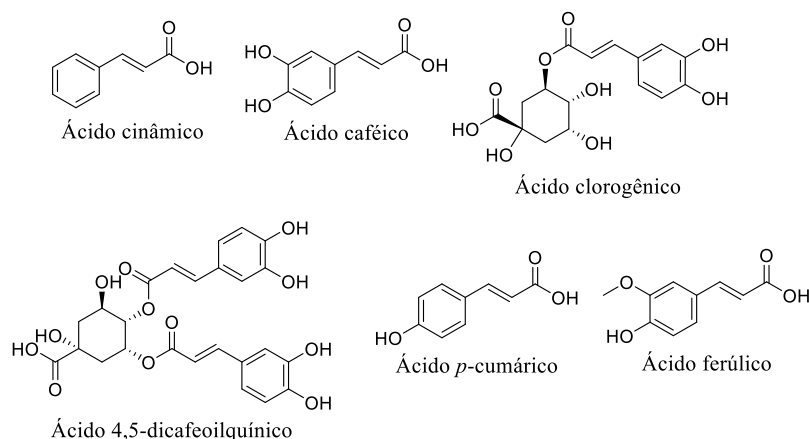
Os ácidos fenólicos são subdivididos em dois grupos: os derivados do ácido hidroxibenzoico (Figura 3) e os derivados do ácido hidroxicinâmico (Figura 4) (MAZUR, 2016). A planta erva-mate apresenta elevada concentração de compostos do grupo do ácido hidroxicinâmico, com destaque para os derivados do ácido caféico: ácido 5-cafeoilquínico, ácido 3,4- dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-dicafeoilquínico, ácido clorogênico e seus isômeros (HECK; SCHMALKO; MEJIA, 2008). Esses são responsáveis por inúmeros efeitos biológicos da erva-mate como antiglicação, capacidade antioxidante e ação adstringente, sendo estas duas também atribuída à presença da rutina e outros flavonoides (DARTORA, 2010; DUTRA, 2009; HECK; DE MEJIA, 2007).

Figura 3 - Estrutura química dos derivados do ácido hidroxibenzoico.



Fonte: Adaptado de PAGLIOSA, 2009.

Figura 4 - Estrutura química de derivados do ácido hidroxicinâmico.



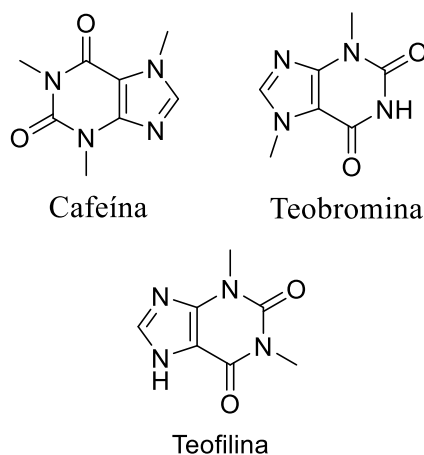
Fonte: Adaptado de PAGLIOSA, 2009.

### 3.5.1.2 Metilxantinas

As metilxantinas (Figura 5) são metabolitos secundários derivados do nucleotídeo purina e são conhecidos também como alcaloides purínicos (COELHO, 2002; DUTRA, 2009; ROSSA et al., 2017). Fisiologicamente para as plantas, esses metabolitos secundários possuem funções biológicas parecidas com as dos compostos fenólicos, por exemplo, proteção contra herbívoros e patógenos, ação alelopática, atrativo para animais polinizadores (ROSSA et al., 2017). A mais abundante metilxantina na natureza é a cafeína (1,3,7 trimetilxantina), seguida pela teobromina (3,7 dimetilxantina). A teofilina (1,3 dimetilxantina) e outros compostos se encontram em pequenas quantidades, podendo ser intermediários da biossíntese e/ou catabolismo da cafeína (DUTRA, 2009; ROSSA et al., 2017.).

A cafeína é um dos compostos associado ao amargor da erva-mate, sendo assim usada como parâmetro de qualidade e análise do sabor da erva-mate e seus derivados (JUNIOR, 2005).

Figura 5 - Estruturas químicas das metilxantinas: cafeína, teobromina e teofilina.



Fonte: Adaptado de COELHO,2002.

Estudos relacionados com algumas bebidas largamente consumidas, como café e chá, indicam a ação da cafeína sobre a musculatura estriada e como estimulante do sistema nervoso central (DA CROCE, 2002). A teobromina, encontrada em produtos do cacau, tem ação diurética direta sobre os rins (HARKINS et al., 1998) ou indireta, pois aumenta o fluxo sanguíneo renal e a filtração glomerular (SIMÕES et al., 2004). Esses dois compostos possuem as mesmas ações farmacológicas do ponto de vista qualitativo (estimulam o sistema nervoso central; agem sobre os rins, induzindo a diurese; estimulam o músculo cardíaco e relaxam o músculo liso, em particular a musculatura brônquica), diferindo em sua intensidade sobre os diferentes sistemas orgânicos. No entanto, devem-se ter certos cuidados na ingestão de metilxantinas, pois é de conhecimento que à medida que a dose é elevada, observa-se um quadro de nervosismo, agitação, tremores e outros sinais de estimulação do sistema nervoso central, sendo possível até a formação de um quadro de intoxicação aguda. Além disso, altas doses de cafeína podem induzir a insônia, o nervosismo, a irritabilidade, a ansiedade, as náuseas e o desconforto gastrointestinal (ALTIMARI et al., 2011)

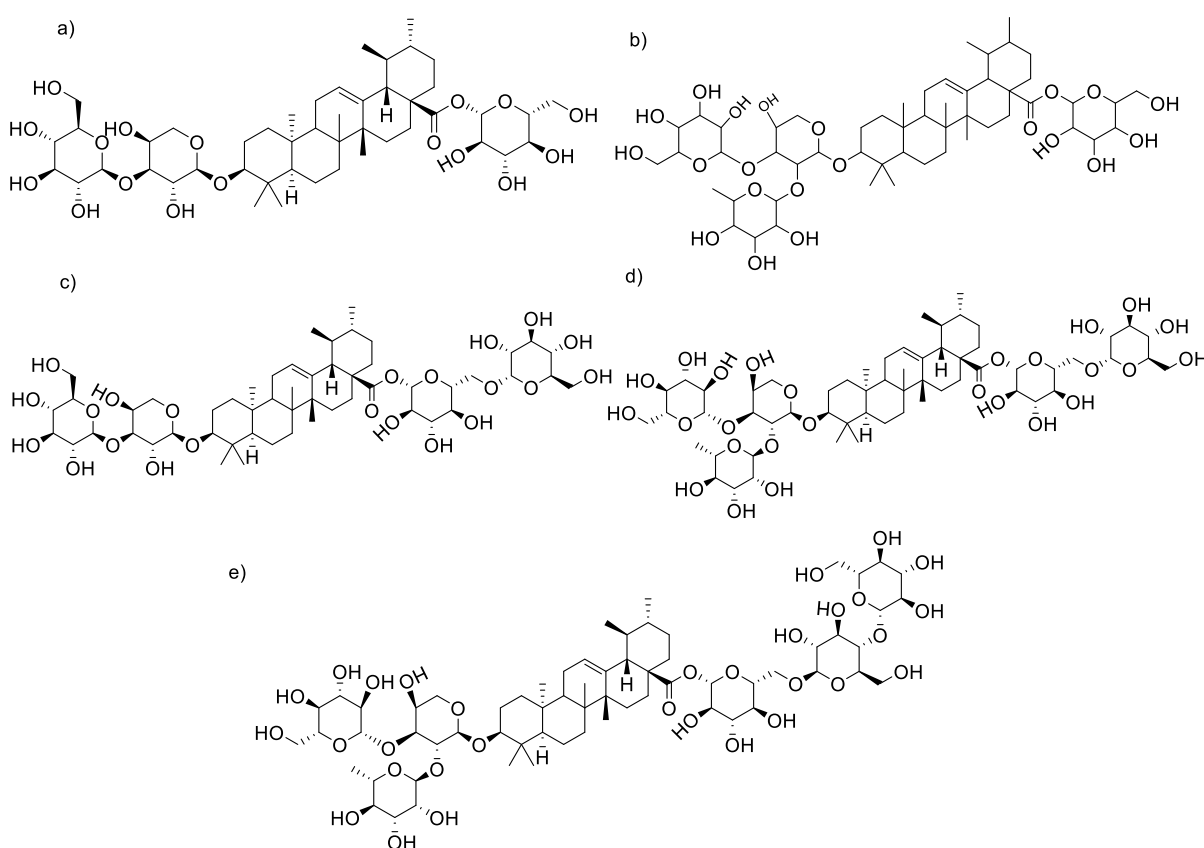
### 3.5.1.3 Saponinas

As saponinas são moléculas derivadas de esteroides ou terpenos, encontradas nas plantas superiores. Sua estrutura hidrofílica (açúcares) e hidrofóbica (triterpeno ou esteroide) promove a redução da tensão superficial de uma solução aquosa, formando espuma mediante a

agitação. Apresentam, ainda, ação detergente, emulsificante e de formação de micelas (COELHO, 2002; EFING, 2008; KLEIN, 2010)

Dentre as classes de saponinas encontram-se triterpenóides glicosilados, os ácidos ursólicos e oleanóico. As saponinas majoritárias de *I. paraguariensis* têm duas cadeias de açúcares, estrutura bidesmosídica (Figura 6). Cada uma delas é uma mistura de isômeros com agliconas constituídas de ácido ursólico ou de ácido oleanólico (COELHO, 2002).

Figura 6 - Saponinas majoritárias de *Ilex paraguariensis*: a) Matesaponina 1, b) Matesaponina 2, c) Matesaponina 3, d) Matesaponina 4, e) Matesaponina 5.



Fonte: AUTORA, 2019.

Tais substâncias são responsáveis pelo amargor e espuma do mate, além de outras propriedades biológicas (DARTORA, 2010). Também são atribuídos a elas, propriedades de complexação de esteroides, podendo exercer ação antifúngica, hipocolesterolêmica e/ou hepatoprotetora (SIMÕES et al., 2001; GNOATTO, SCHENKEL e BASSANI, 2005; HECK; DE MEJIA, 2007), efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, anticoagulante, neuprotetores (GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAĞ; MAZZA, 2007; OSBOURN; GOSS; FIELD, 2011; RAO; GURFINKEL, 2000). Schenkel, Gosmann e Athayde (2004) adicionaram saponinas de várias espécies vegetais à dieta de animais de experimentação e demonstraram a propriedade das



saponinas em diminuir a concentração plasmática de colesterol. Han et al. (2005) relataram que as saponinas inibiram, também, a atividade da lipase pancreática *in vitro*.

### **3.1.6 Atividades biológicas da erva-mate.**

Os compostos citados anteriormente são responsáveis pelas propriedades alimentícias e medicinais (tônica, diurética, anti-inflamatória, antioxidante) da planta da erva-mate (DARTORA, 2010; LANGONI DE FREITAS et al., 2011).

Muitos autores relatam os benefícios do consumo de erva-mate, tais como: possuir polifenóis e metilxantinas similares ao chá verde que previnem a oxidação das lipoproteínas de baixa-densidade (LDL) ou colesterol ruim; atuar como diurético, estimulante do sistema nervoso central, energético, além de equilibrar a função imune, limpar o sangue, e também sugerido para o tratamento da obesidade minimizar riscos cardiovasculares (ALKHATIB; ATCHESON, 2017; CHAVES et al., 2018; CHOI et al., 2017; COLPO et al., 2016; DE RESENDE et al., 2015; MATEOS et al., 2018; PONTILHO et al., 2015). Filip et al. (2001) avaliaram a atividade antioxidante de espécies do gênero *Ilex* relacionadas à *Ilex paraguariensis* como a *Ilex theezans* Mart. ex Reissek, *Ilex dumosa* Reissek, *Ilex argentina* Lillo, *Ilex breviscupis* Reissek, e *Ilex pseudobuxus* Reissek dentre as quais a *I. paraguariensis* A. St.-Hil. apresentou a maior atividade antioxidante.

A erva-mate tem apresentado potencial uso como agente preventivo e terapêutico contra diabetes. Rocha et al. (2018) avaliou o efeito da planta em diferentes tecidos de ratos diabéticos, como foco no metabolismo energético. Os resultados mostraram que o tratamento com mate promoveu uma diminuição no tecido adiposo retroperitoneal em animais saudáveis. Nos ratos diabéticos o peso muscular retornou aos níveis de controle, houve melhora nos níveis séricos de glicose, creatina, ureia e proteína total e parâmetros musculares como captação de glicose, produção de CO<sub>2</sub> foram melhorados. Resende et al. (2012) além de estudar os níveis de oxidação da glicose após a administração oral de erva-mate em ratos Wistar machos, também avaliou o efeito da planta sobre a gordura intra-abdominal e epididimal. Obteve-se redução tanto no peso da gordura visceral como na oxidação da glicose no tecido adiposo e hepático.

Também em animais avaliou-se os efeitos do extrato hidroalcoólico de *I. paraguariensis* no aprendizado e memória, em que se concluiu que o sinergismo entre vários compostos pode reduzir o déficit cognitivo associado a doenças neurodegenerativas (como a doença de Parkinson), e foi sugerido que o consumo contínuo de chá mate por diversas

populações pode representar um fator profilático em relação a essas desordens (PREDIGER et al. 2008).

Conforti, Gallo e Saraví (2012) avaliaram a correlação entre o consumo de chá mate e a densidade óssea mineral após a menopausa. Sugeriu-se efeito protetor da *I. paraguariensis* contra a osteoporose, especialmente na coluna lombar e fêmur.

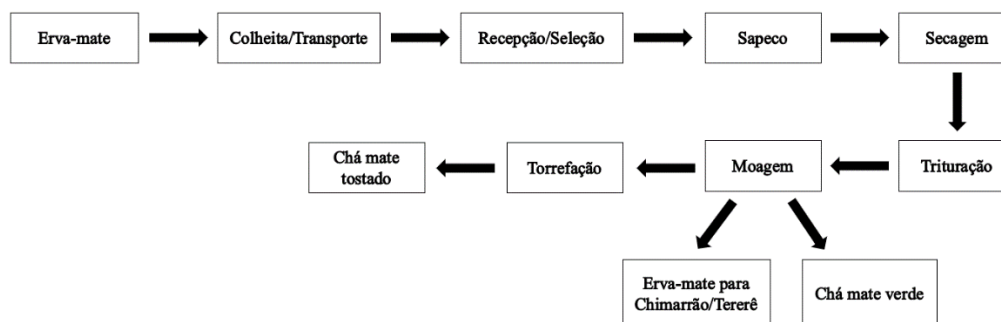
*In vitro*, matesaponinas, contidas nas folhas secas de erva-mate, apresentaram ação anti-inflamatória e inibiram a proliferação de células de câncer de cólon, através da ativação de um caminho de apoptose intracelular em células específicas que pode estar associada a cascata CASPASE dependente (PUANGPRAPHANT; BERHOW; DE MEJIA, 2011). Ferreira et al. (1997) verificaram, a partir de experimentos *in vitro*, que as saponinas da *I. paraguariensis* inibiram a difusão passiva do ácido cólico, através de membranas de celulose, minimizando a inibição da absorção intestinal de ácidos biliares e, conseqüentemente, de colesterol. Segundo Schenkel et al. (1995), a ação antifúngica da erva-mate é decorrente da presença das saponinas ou mais especificamente relacionada à elevada solubilidade em água dessas substâncias e atividade na desorganização das membranas celulares. Burris et al. (2011) testaram a atividade antimicrobiana do extrato aquoso contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, que se mostrou ativo mesmo em concentrações relativamente baixas.

Além disso, Dors (2017), constatou que a infusão da erva-mate apresenta altas concentrações de Ca, Mg, N, Cu, Mn e Zn, concluindo que esses elementos são transferidos para o chimarrão.

### **3.1.7 Cadeia produtiva**

Na Figura 7 tem-se um resumo da cadeia produtiva da erva-mate. A primeira etapa é a colheita. Em até 24 h após a colheita as folhas e ramos passam pela etapa de sapeco (branqueamento) que é o estágio primário para a liberação de compostos voláteis. O sapeco é caracterizado como um tratamento térmico em que se tem o contato rápido das folhas da planta com chamas de fogo em fornos rotativos. Esse processo tem a finalidade de reduzir a umidade das folhas e inativar enzimas como a peroxidase e polifenoloxidase (DANIEL, 2009; MAZUR, 2012, 2016). Essas enzimas quando não tem sua atividade enzimática diminuída causam escurecimento das folhas e conferem amargor a bebidas obtidas com o produto desidratado. O prazo para se realizar o sapeco após a colheita é para evitar fermentação, que é favorecida pela umidade e temperatura, garantir características de cor, sabor e aroma no produto final (MAZUR, 2012, 2016).

Figura 7 - Fluxograma do processo produtivo da erva-mate.



Fonte: Adaptado de MAZUR, 2016.

Após o sapeco é realizada a secagem ou desidratação, 100 °C por aproximadamente 3 horas, que visa reduzir o teor de umidade das folhas de erva-mate para aproximadamente 5% diminuindo, assim, a possibilidade de deterioração microbiana e degradação enzimática dos constituintes nutricionais e químicos (MAZUR, 2016). Segundo alguns estudos, no processo de secagem do mate há uma diminuição relevante do teor de cafeína. Esse fato pode ser um problema, pois para a maioria das indústrias ervateiras é vantajoso conservar quantidades elevadas de compostos fenólicos e metilxantinas (SCHMALKO; ALZAMORA, 2001; ESMELINDRO et al., 2002).

A erva-mate é então triturada, passando a ser chamada de erva-mate cancheada, chamada assim pelo fato de que essa operação inicialmente era realizada em local assoalhado denominado como cancha. Atualmente, é feita em trituradores ou cancheadores, que é a matéria prima para a fabricação da erva para o chimarrão. A erva-mate cancheada é a matéria prima para a fabricação da erva para o chimarrão, do tererê e chá mate verde. Ela é peneirada e misturada em diferentes proporções de folhas e ramos, dependendo do produto final esperado. Para a produção do mate para esses produtos, após a mistura, a planta é moída para reduzir a granulometria do material, utilizando moinho de facas ou soque. No caso do chá mate tostado, após a moagem, há a etapa de torrefação (MAZUR, 2012, 2016; SCHIRIGATTI, 2014).

### 3.2 Cromatografia líquida de ultra performance

Métodos cromatográficos são comumente empregados na análise quantitativa e qualitativa de metabólitos de interesse em produtos naturais (GUEDES, 2018; LIMA, 2018). Dentre esses métodos destacam-se a cromatografia líquida de alta performance (High-Performance Liquid Chromatography, HPLC) e a de ultra performance (Ultra-Performance

Liquid Chromatography, UPLC). As duas são mais aplicadas em estudos metabolômicos. (FUNARI et al., 2013). Elas baseiam-se nos mesmos princípios de separação, em que uma amostra é injetada em uma coluna cromatográfica, na qual contém a fase estacionária, que está garantida com partículas porosas que interagem quimicamente ou fisicamente com as moléculas da amostra. O solvente (fase móvel) carrega, através de uma bomba de alta pressão, as moléculas da amostra que possuem maior afinidade com ele, separando os compostos. Após a separação, os compostos passam para o detector, o qual gera um sinal de intensidade proporcional à quantidade do composto analisado. Por fim, um software computacional gera um cromatograma com os dados obtidos (LIMA, 2018). As diferenças entre HPLC e UPLC estão no fato de que a segunda técnica utiliza colunas cromatográficas de dimensões reduzidas com partículas da fase estacionária de tamanho inferior a  $\leq 2 \mu\text{m}$  e altas velocidades lineares de fase móvel, o que resulta em uma maior pressão de trabalho (LIMA, 2018). Além disso, as análises por UPLC são feitas em menor tempo, requerem menores volumes de amostra e fase móvel, possuem melhor resolução e detectabilidade e diminuição na geração de resíduos (MALDANER; JARDIM, 2009, 2012).

### 3.3 Espectrometria de massas

A espectrometria de massa (MS, do inglês, *mass spectrometry*) é uma técnica de análise bastante empregada para metabólitos. Nela moléculas de uma amostra são convertidas em íons em fase gasosa. Os íons passam por um analisador de massas e depois seguem para o detector, no qual são gerados sinais de acordo com a relação massa/carga ( $m/z$ ) dos íons, criando, assim, um espectro de massas de acordo com a abundância relativa dos sinais (HO et al., 2003). A MS pode ser usada através da infusão direta dos extratos (DIMS, do inglês, *direct infusion mass spectrometry*), porém na análise muitas vezes ocorre problemas de supressão de ionização (CANUTO et al., 2018; HU; XU, 2013; SUSSULINI, 2017). Para contornar esses problemas, a MS é hifenada com técnicas cromatográficas, como por exemplo, a UPLC (GUEDES, 2018). A combinação entre UPLC acoplada à MS com ionização por *electrospray* e analisador de massas tandem ( $\text{MS}^n$ ), quadrupolo tempo de voo (ESI-TOF), resultando em UPLC-QTOF- $\text{MS}^E$ , é uma técnica extremamente sensível, demandando quantidades muito baixas de amostras e menor tempo de análise (FORCISI et al., 2013; FUNARI et al., 2013; GUEDES, 2018; MOCO et al., 2007).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Amostras, reagente e químicos

As amostras foram obtidas do banco ativo de germoplasma da Embrapa Florestas (Colombo, PR). Separou-se manualmente as folhas e os ramos das amostras secas de erva-mate e cada parte foi moída separadamente em um moedor de café di garno (Cadence). As amostras moídas foram colocadas em sacos plásticos transparentes, devidamente etiquetados e guardadas em local apropriado, protegidas da umidade e luz.

Água foi purificada utilizando Sistema de Purificação de Água Integral Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA). Ácido fórmico (pureza ~ 98%) foi obtido da Sigma- Aldrich (Life Science).

### 4.2 Extração aquosa para análise por UPLC

Pesou-se 50 mg de amostra (25 mg de folhas e 25 mg de ramos) de erva-mate em tubos de ensaio com tampa. Nessa massa adicionou-se 4,0 mL de água deionizada por sistema Milli-Q a 80 °C, deixando-a extrair por 30 min. Após esse tempo, 900 µL das soluções foram filtradas em filtro 0,22 µm PTFE. A alíquota filtrada foi coletada em vials, onde também se adicionou 100 µL de padrão interno de genisteína 10 ppm, de modo que a concentração do padrão na solução final fosse 1 ppm. As infusões foram feitas em quintuplicata e foram armazenadas em um ultra freezer a - 80 °C até serem enviadas para análise no UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>. Após a finalização da extração foi feita o “quality control”. O procedimento consistiu em reunir alíquotas de 50 µL de cada vial em um béquer e transferir 1000 µL do “quality control” para outro vial, esse também foi injetado no UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>.

### 4.3 Análise por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>

As infusões foram analisadas em um sistema cromatográfico Acquity UPLC (Waters), acoplado a um quadrupolo/ tempo de voo (QTOF, Waters). Os ensaios cromatográficos foram realizados em um Water Acquity UPLC BEH (150 mm x 2,1 mm, 1,7 µm), temperatura fixa de 40 °C. O sistema de eluição de gradiente binário consistiu em 0,1% de ácido fórmico em água (A) e 0,1 % de ácido fórmico em acetonitrila (B). As condições de

eluição do UPLC foram otimizadas da seguinte maneira: gradiente linear de 2 a 95% B (0-15 min), 100% B (15-17 min), 2% B (17,01), 2% (17,02-19,01 min), fluxo de 0,4 mL min<sup>-1</sup> e volume de injeção de amostra de 5 µL .

O perfil químico das amostras foi analisado pelo acoplamento do sistema Waters ACQUITY UPLC ao espectrômetro de massa quadrupolo-tempo de voo (Q-TOF) (Water, Milford, MA, EUA) com interface de ionização por eletropulverização em modo de ionização positiva (ESI<sup>+</sup>). O modo ESI<sup>+</sup> foi adquirido na faixa de 110-1180 Da temperatura da fonte fixa a 120°C, temperatura de dessolvatação de 350 °C, fluxo de gás de dessolvatação de 500 L h<sup>-1</sup>, cone de extração de 0,5 V, voltagem capilar de 2,6 kV. Encefalina leucina foi usada como uma massa de bloqueio. O modo MS utilizou Xevo G2-XS QTOF. O espectrômetro operou com programação MS<sup>E</sup> centroide usando uma rampa de tensão de 20 a 40 V. O instrumento foi controlado pelo software Masslynx 4.1 (Waters Corporation).

#### **4.4 Identificação dos compostos**

Os dados das análises foram processando pelo software MassLynx versão 4,1. Para a comparação dos picos no cromatograma de massa foi utilizada uma tolerância de ± 0,05 min para o tempo de retenção e ± 0,05 Da para a massa exata. A partir da ferramenta Elemental Composition do MassLynx, todas as formas moleculares possíveis foram deduzidas (elementos C, H, N, O e tolerância de 10 ppm).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

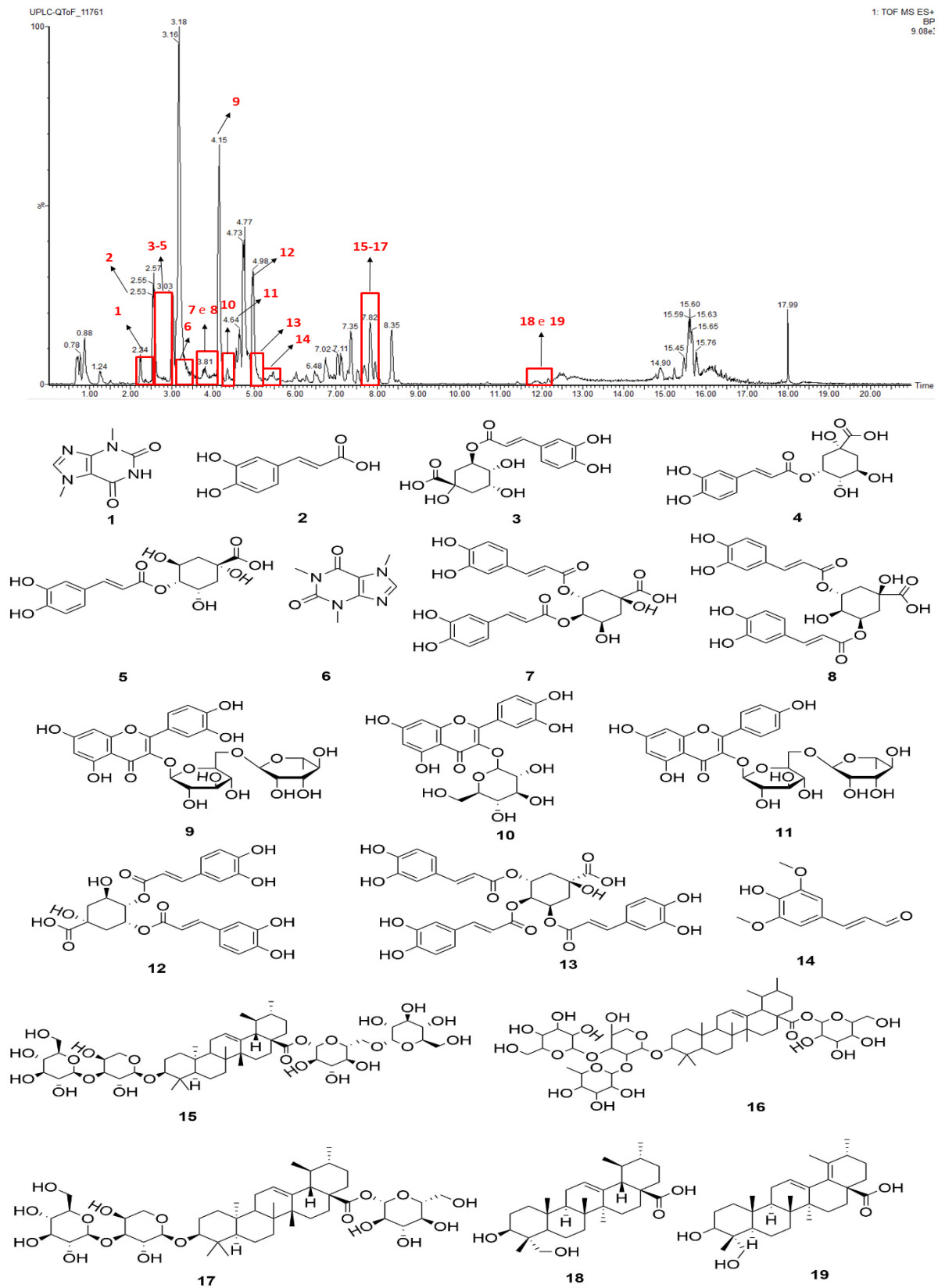
O perfil químico da mistura das folhas e ramos para as amostras de erva-mate do foi estabelecido pela análise dos cromatogramas em modo positivo (ESI<sup>+</sup>) (Figura 8) e os espectros de massa. Na identificação química dos compostos foram utilizadas amostras da mesma espécie, família e/ou gênero da *Ilex paraguariensis*. Ao todo foram identificados 19 compostos que estão contido na Tabela 1 e suas estruturas são mostradas na Figura 8. A fim de proporcionar uma melhor interpretação, os picos dos cromatogramas foram organizados na Tabela 1 em ordem crescente de eluição. Além disso, nessa está incluso os metabólitos identificados, seus íons protonados [M-H]<sup>+</sup>, os fragmentos para os respectivos íons, o erro em partes por milhão (ppm) e sua possível fórmula molecular.

O pico **1** (t<sub>R</sub> = 2,41 min) apresentou no seu espectro de massa um íon protonado de m/z 181,0727 [M+H]<sup>+</sup> e a presença de fragmentos MS/MS m/z 67,0470 Da, 138,0546 Da, 163,0334 Da e 181,0562 Da, o que indica, segundo a literatura, a presença de teobromina (GRUNENVALDT, 2018). O fragmento 138,0546 Da advém do íon molecular 181,0562 Da que fragmenta como mostra a Figura 9 (CHOI et al., 2013). Como já citado, a teobromina é a segunda metilxantina mais abundante na natureza e tem ação diurética direta sobre os rins (HARKINS et al., 1998) ou indireta, já que aumenta o fluxo sanguíneo renal e a filtração glomerular (SIMÕES et al., 2004).

O pico **2** (t<sub>R</sub> = 2,52 min) apresentou no seu espectro de massa um íon protonado 181,0501 [M+H]<sup>+</sup> e a presença do fragmento MS/MS m/z 163,0361 Da. De acordo com a literatura, o pico **2** é compatível com o ácido caféico. A perda de uma molécula de água origina o fragmento 163,0361 Da [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (COLPO et al., 2018). A erva-mate possui grande concentração de ácido caféico, como já foi citado, logo era esperado a identificação desse composto nas amostras. O ácido caféico, é responsável por inúmeros efeitos biológicos da planta, tais como antiglicação, potencial antioxidante e ação adstringente (DARTORA, 2010; DUTRA, 2009; HECK; DE MEJIA, 2007).

O pico **3** (t<sub>R</sub> = 2,61 min), **4** (t<sub>R</sub> = 2,64 min) e **5** (t<sub>R</sub> = 2,65 min) apresentaram nos seus espectros de massas MS os íons protonados m/z 355,1025 Da, 355,1027 Da e 355,1042 Da, respectivamente. Assim, foram obtidas fórmulas moleculares idênticas para essas massas monoisotópicas e inferiu-se esses compostos eram isômeros do ácido clorogênico, de fórmula molecular C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>, dado que os compostos possuem íon molecular comum, m/z 355 [M+H]<sup>+</sup>.

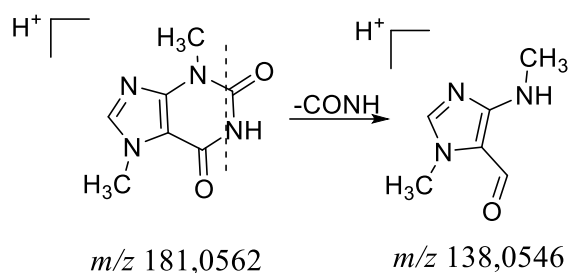
Figura 8 – Cromatogramas obtidos no UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup> no modo positivo (ESI<sup>+</sup>) para as infusões da mistura de folhas e ramos das amostras de erva-mate e estrutura dos compostos identificados.



Fonte: AUTORA, 2019.



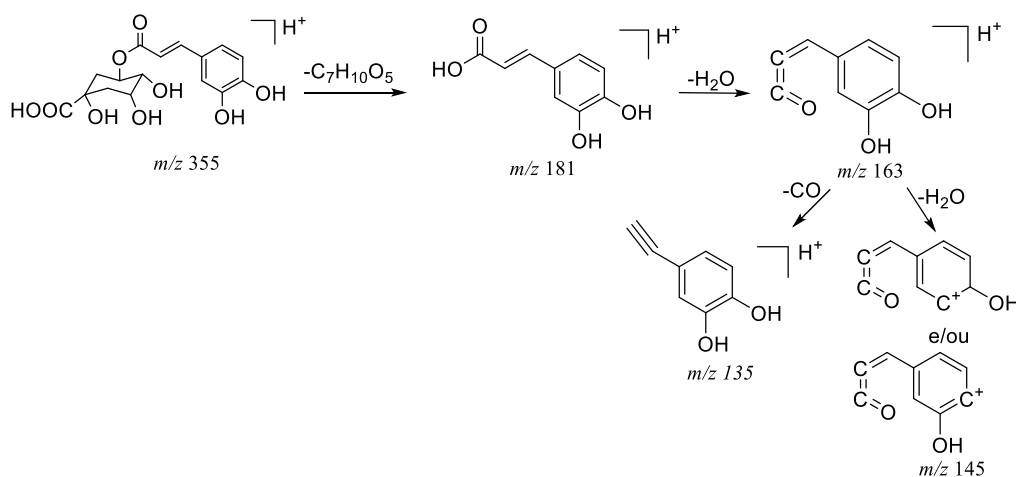
Figura 9 – Rota de fragmentação do íon molecular da teobromina.



Fonte: Adaptado de CHOI et al., 2013.

O pico **3** apresentou fragmentos MS/MS  $m/z$  135,0429 Da, 145,0309 Da, 163,0376 Da, 181,0419 Da. O pico **4** apresentou fragmentos MS/MS  $m/z$  135,0518 Da, 145,0542 Da, 163,0363 Da e 181,0392 Da. Enquanto o pico **5** apresentou fragmentos MS/MS  $m/z$  135,0436 Da, 145,0557 Da, 163,0387 Da e 181,0620. De acordo com a ordem de eluição da literatura, o pico **3** foi identificado como o ácido 3-*O*-cafeoilquínico, o pico **4** foi proposto como ácido 5-*O*-cafeoilquínico e o pico **5** como ácido 4-*O*-cafeoilquínico (WILLEMS et al., 2016; ZHU et al., 2009). O fragmento  $m/z$  181 corresponde ao ácido caféico, a perda de água desse produz o fragmento  $m/z$  163, enquanto os fragmentos  $m/z$  145 e 135 advém do  $m/z$  163 e são consequências da perda de água e monóxido de carbono, respectivamente (Figura 10) (WILLEMS et al., 2016; ZHU et al., 2009).

Figura 10 – Rota de fragmentação do ácido clorogênico.



Fonte: Adaptado de WILLEMS et al., 2016.

O pico **6** ( $t_R = 3,45$  min) apresentou no seu espectro de massa um íon protonado  $m/z$  195,0889  $[M+H]^+$ , foi verificada a presença do fragmento MS/MS 195,0882 Da, caracterizando,

de acordo com a literatura, cafeína (RIBEIRO et al., 2019). Como já comentado no trabalho, a cafeína é a metilxantina mais abundante na natureza. Em relação à erva-mate é atribuído a ela o amargor da planta e a ação estimulante (JUNIOR, 2005; MATEOS et al., 2017), além disso, tem ação sobre o sistema nervoso central e incita a diurese (MATEOS et al., 2017).

Os picos **7** ( $t_R = 4,04$  min), **8** ( $t_R = 4,08$  min) e **12** ( $t_R = 4,99$  min) apresentaram nos seus espectros de massas MS os íons protonados  $m/z$  517,1357 Da, 517,1344 Da e 517,1346 Da, respectivamente. Logo, foram obtidas fórmulas moleculares iguais para essas massas monoisotópicas. Deduziu-se que esses compostos eram isômeros do ácido dicafeoilquínico, que possui fórmula molecular  $C_{25}H_{24}O_{12}$ , pois os compostos possuem íon molecular comum,  $m/z$  517  $[M+H]^+$ . O pico **7** apresentou fragmento MS/MS  $m/z$  163,0376 Da. O pico **8** mostrou fragmento MS/MS  $m/z$  163,0377 Da, enquanto o pico **12** apresentou fragmentos 163,0336 Da e 499,1207 Da. De acordo com a ordem de eluição da literatura, os picos **7**, **8** e **12** foram identificados, respectivamente, como: ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-di-*O*-cafeoilquínico (HECK; SCHMALKO; DE MEJIA, 2008; ZHU et al., 2009). Assim como nos ácido cafeoilquínicos, os fragmentos  $m/z$  163 é relacionado ao grupo cafeoil (ácido caféico pela perda de uma molécula de água). Já os fragmentos  $m/z$  499 corresponde à perda de uma molécula de  $H_2O$  do ácido dicafeoilquínico (ZHU et al., 2009).

O pico **9** ( $t_R = 4,15$  min) apresentou íon protonado de  $m/z$  611,1609  $[M+H]^+$ , além disso, verificou-se a presença de fragmento MS/MS 303,0462 Da e 465,1002 Da. De acordo com a literatura, o pico **9** pode ser identificado como o composto rutina (ZHU et al., 2009).

O pico **10** ( $t_R = 4,21$  min) apresentou no seu espectro de massa um íon protonado  $m/z$  465,1038  $[M+H]^+$  e fragmento MS/MS 303,0480 Da, indicando, pela literatura, a presença de quercetina 3-*O*-glucosídeo (PERES et al., 2013). A quercetina é um flavonoide natural, encontrado mais abundantemente em frutas e vegetais, é usado em medicina tradicional em muitos países, pois possui efeito antivirais, antibacterianos, anticarcinogênicos e anti-inflamatórios (PATIL; ANGADI; DEVDHE, 2015).

O pico **11** ( $t_R = 4,64$  min) apresentou no seu espectro de massa MS um íon protonado  $m/z$  595,1661  $[M+H]^+$  e observou-se fragmento MS/MS 287,0502 Da. De acordo com os dados apresentados, a tentativa de identificação para o pico **11** foi o composto kaempferol 3-rutinosídeo. Na literatura esse composto é relato como eluindo depois do ácido 4,5-di-*O*-cafeoilquínico (pico **12**), mas como a diferença dos tempos de retenção obtidos para eles não é alto, continuou-se com a possibilidade do pico **11** ser o kaempferol 3-rutinosídeo, contudo reforçando a ideia de tentativa de identificação. O fragmento  $m/z$  287,0502 Da representa um

kaempferol aglicona (ZHU et al., 2009). O kaempferol 3-rutinosídeo também é um flavonóide e apresenta atividades analgésicas e anti-inflamatórias (DO NASCIMENTO et al., 2018).

O pico **13** ( $t_R = 5,06$  min) apresentou no seu espectro de massa MS um íon protonado de  $m/z$  679,1661  $[M+H]^+$  e fragmentos MS/MS 163,0372 Da e 517,1265 Da. Pela literatura, o pico **13** pode ser identificado como ácido tricafeoilquínico. O fragmento em  $m/z$  517,1265 Da pode ser atribuído ao ácido tricafeoilquínico com uma perda de uma molécula desidratada de ácido cafeíco  $[M+H-\text{ácido cafeíco}-H_2O]^+$ . Essa, por sua vez, corresponde ao fragmento em  $m/z$  163,0372 Da (PERES et al., 2013). Além de já ter sido identificado na erva-mate, o ácido tricafeoilquínico foi constatado em folhas de batata doce (YOSHIMOTO et al., 2002).

O pico **14** ( $t_R = 5,49$  min) apresentou íon protonado  $m/z$  209,0813  $[M+H]^+$ , na análise do espectro de massa MS, os fragmentos MS/MS 135,0439; 163,0369 Da; 179,0755 corresponde ao composto sinapaldeído. Esse composto é um fenilpropanóide e não há relatos dele na erva-mate, mas já foi identificado na *Ilex rotunda* Thunb. (CHEN et al., 2019).

O pico **15** ( $t_R = 7,80$  min) apresentou no seu espectro de massa MS um íon protonado 1075,5693  $[M+H]^+$  e mostrou fragmentos MS/MS 439,3585 Da, 751,2217 Da e 913,7741 Da. De acordo com os fragmentos e a ordem de eluição da literatura, o pico **15** foi identificado como matesaponina 3. De acordo com a literatura o fragmento  $m/z$  913,7741 Da é decorrente da perda de uma glicose  $[M+H-Glc]^+$ , o fragmento  $m/z$  751,2217 Da é proveniente da perda de duas glicose  $[M+H-2Glc]^+$  e o fragmento  $m/z$  439,3585 Da provém da perda de três glicoses e uma arabinose  $[M+H-3Glc-Ara]^+$  (COLPO et al., 2018).

O pico **16** ( $t_R = 7,81$  min) apresentou no seu espectro de massa MS um íon protonado 1059,5769  $[M+H]^+$  e fragmento MS/MS 439,3585 Da. De acordo com a literatura, o pico **16** também se trata de uma matesaponina, a matesaponina 2. O fragmento  $m/z$  439,3585 Da pode ser atribuído a perda de duas glicose, uma ramnose e uma arabinose  $[M+H-2Glc-Rha-Ara]^+$  (COLPO et al., 2018).

O pico **17** ( $t_R = 7,87$  min) apresentou no seu espectro de massa MS um íon protonado 913,5209  $[M+H]^+$ . Foi observado fragmento MS/MS  $m/z$  439,3524 Da. Pela literatura, ao pico **17** pode ser atribuído a matesaponina 1. Em que o referido fragmento pode ser imputado a perda de duas glicoses e uma arabinose  $[M+H-2Glc-Ara]^+$  (COLPO et al., 2018).

O pico **18** ( $t_R = 11,92$  min) mostrou no seu espectro de massa MS um íon protonado 473,3608  $[M+H]^+$  e fragmentos MS/MS  $m/z$  167,1038 Da, 209,1215 Da, 409,7605 Da e 455,9065 Da. De acordo com a literatura, o pico **18** foi identificado como ácido 23-hidroxiursólico. O composto se trata de um triterpenoide ursano e além de ser reportado na *Ilex*

*paraguariensis* também foi identificado na *Ilex rotunda* Thunb. (CHEN et al., 2019; DA SILVA et al., 2018).

O pico **19** ( $t_R = 11,98$  min) apresentou no seu espectro de massa MS um íon protonado 471,3471  $[M+H]^+$ , foi observado fragmentos  $m/z$  175,0599 Da, 189,1605 Da e 453,3017 Da. O pico **19** foi identificado como ácido 3,23-di-hidroxiurs-12,18-dien-28-óico. Esse composto também se trata de um tripernoide ursano e, assim como o composto do pico **14**, foi identificado na *Ilex rotunda* Thunb., não tendo relatos na literatura da sua presença na erva-mate (CHEN et al., 2019).

Tabela 1 – Compostos identificados nas infusões das folhas e ramos da *Ilex paraguariensis* (continua).

Pico	t <sub>R</sub> (min)	[M+H] <sup>+</sup> observado	[M+H] <sup>+</sup> calculado	(MS/MS)	Fórmula molecular	Erro (ppm)	Tentativa de identificação	Referência
1	2,41	181,0727	181,0726	67,0470; 138,0546; 163,0334; 181,0562	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	0,6	Teobromina	(GRUNENVALDT, 2018)
2	2,52	181,0487	181,0501	163,0361	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	-7,7	Ácido cafeíco	(COLPO et al., 2018)
3	2,61	355,1025	355,1029	135,0429;145,0309; 163,0376; 181,0419	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	-1,1	Ácido 3- <i>O</i> -cafeoilquínico	(WILLEMS et al., 2016; ZHU et al., 2009)
4	2,64	355,1027	355,1029	135,0518; 145,0542; 163,0363; 181,0392	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	-0,6	Ácido 5- <i>O</i> -cafeoilquínico	(WILLEMS et al., 2016; ZHU et al., 2009)
5	2,65	355,1042	355,1029	135,0436;145,0557; 163,0387;181,0620	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	3,7	Ácido 4- <i>O</i> -cafeoilquínico	(WILLEMS et al., 2016; ZHU et al., 2009)
6	3,45	195,0889	195,0882	195,0820	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	3,6	Cafeína	(RIBEIRO et al., 2019)
7	4,04	517,1357	517,1346	163,0376	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	2,1	Ácido 3,4-dicafeoilquínico	(HECK; SCHMALKO; DE MEJIA, 2008)
8	4,08	517,1344	517,1346	163,0377	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	-0,4	Ácido 3,5-dicafeoilquínico	(HECK; SCHMALKO; DE MEJIA, 2008)
9	4,15	611,1609	611,1612	303,0462; 465,1002	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	-0,5	Rutina	(ZHU et al., 2009)

Tabela 1 – Compostos identificados nas infusões das folhas e ramos da *Ilex paraguariensis* (continuação).

Pico	t <sub>R</sub> (min)	[M+H] <sup>+</sup> observado	[M+H] <sup>+</sup> calculado	(MS/MS)	Fórmula molecular	Erro (ppm)	Tentativa de identificação	Referência
10	4,21	465,1032	465,1033	303,0480	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	-0,2	Quercetina 3- <i>O</i> -glucosídeo	(PERES et al., 2013)
11	4,64	595,1661	595,1663	287,0502	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	-0,3	Kaempferol 3-rutinosídeo	(ZHU et al., 2009)
12	4,99	517,1348	517,1346	163,0336; 499,1207	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	0,4	Ácido 4,5-di- <i>O</i> - cafeoilquínico	(ZHU et al., 2009)
13	5,06	679,1661	679,1663	163,0372; 517,1265	C <sub>34</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	-0,3	Ácido tricafeoilquínico	(PERES et al., 2013)
14	5,49	209,0813	209,0814	135,0439; 163,0369; 179,0755	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	-0,5	Sinapaldeído	(CHEN et al., 2019)
15	7,80	1075,5693	1075,5689	439,3585; 751,2217; 913,7741	C <sub>53</sub> H <sub>86</sub> O <sub>22</sub>	0,4	Matesaponina 3	(COLPO et al., 2018)
16	7,81	1059,5769	1059,5740	439,3585	C <sub>53</sub> H <sub>86</sub> O <sub>21</sub>	2,7	Matesaponina 2	(COLPO et al., 2018)
17	7,87	913,5209	913,5161	439,3524	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>17</sub>	5,3	Matesaponina 1	(COLPO et al., 2018)
18	11,92	473,3608	473,3631	167,1038; 209,1215; 409,7605; 455,9065	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	-4,9	Ácido 23-hidroxiursólico	(CHEN et al., 2019)
19	11,98	471,3471	471,3474	175,0599; 189,1605; 453,3017	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	-0,6	Ácido 3,23-di-hidroxiurs- 12,18-dien -28-óico	(CHEN et al., 2019)

Fonte: AUTORA, 2019

## 6 CONCLUSÃO

Por meio da análise das infusões da mistura de folhas e ramos da erva-mate por meio da técnica UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup> utilizando o modo de ionização positiva, foi possível tentativamente identificar 19 compostos. Nos quais merecem destaque as classes dos compostos fenólicos, polifenólicos, metilxantinas, saponinas, derivados do ácido cafeoilquínico. Além disso, dentre os 19 compostos, duas moléculas foram tentativamente identificadas pela primeira vez na *Ilex paraguariensis*, corroborando para a importância do trabalho no conhecimento do perfil metabólico da planta.

## REFERÊNCIAS

- ALKHATIB, A.; ATCHESON, R. Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) metabolic, satiety, and mood state effects at rest and during prolonged exercise. **Nutrients**, v. 9, n. 8, 2017.
- ALTIMARI, L. R. et al. Cafeína: ergogênico nutricional no esporte. **Revista Brasileira de Ciência & Movimento**. v. 9, n. 3, p. 57-64, jul., 2001.
- ARANHA, L. F. S. **O mercado ervateiro**. 1996. 292 f. Tese (Doutorado em Economia) - Faculdade de Economia e Administração, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1966.
- ARÇARI, D. P. et al. Antiobesity Effects of yerba maté Extract (*Ilex paraguariensis*) in High-fat Diet-induced Obese Mice. **Obesity**, [s.l.], v. 17, n. 12, p.2127-2133, 14 maio 2009.
- ARCHIVIO, M. D. et al. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Annali del'Instituto Superiore di Sanità**, v.43(4); p.348-361, 2007.
- BAEZA, G. et al. Dihydrocaffeic acid, a major microbial metabolite of chlorogenic acids, shows similar protective effect than a yerba mate phenolic extract against oxidative stress in HepG2 cells. **Food Research International**, [s.l.], v. 87, p.25-33, set. 2016.
- BALCH, P. A. **Prescription for herbal healing**. 4 e. New York: Penguin Books, 2006. 889 p.
- BARBOZA, L. M. V. **Desenvolvimento de bebida à base de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint. Hilarie) adicionada de fibra alimentar**. 2006, 215 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- BERKAI, D; BRAGA, C. A. **500 Anos de História da erva-mate**. Porto Alegre, Atlas 2000. 97 p.
- BERTÉ, K. A. D. S. **Tecnologia da erva-mate solúvel**. 2011. 160 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.
- BLUM-SILVA, C. H. et al. The influence of leaf age on methylxanthines, total phenolic content, and free radical scavenging capacity of *Ilex paraguariensis* aqueous extracts. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 25, n. 1, 2015.
- BORRÉ, G. L. et al. Comparison of methylxanthine, phenolics and saponin contents in leaves, branches and unripe fruits from *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil (mate). **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, 33, 1–13, 2010.
- BOUFRIDI, A.; QUINN, R. J. Turning Metabolomics into Drug Discovery. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s.l.], v. 27, n. 8, p. 1334–1338, 2016.



- BRAVO, L. et al. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in high-cholesterol fed rats. **Fitoterapia**, [s.l.], v. 92, p.219-229, jan. 2014.
- BRO, R.; SMILDE, A. K. Principal component analysis. **Analytical Methods**, [s.l.], v. 6, n. 9, p. 2812–2831, 2014.
- BURRIS, K.P. et al. Antimicrobial Activity of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) Aqueous Extracts against Escherichia coli O157:H7 and Staphylococcus aureus. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 6, p. 456-462, 2011.
- BYLESJÖ, M. et al. OPLS discriminant analysis: combining the strengths of PLS-DA and SIMCA classification. **Journal of Chemometrics**, [s.l.], v. 20, n. 8–10, p. 341– 351, ago. 2006.
- CÂMARA SETORIAL DA CADEIA PRODUTIVA DA ERVA-MATE DO PARANÁ. MCT/ CNPq/ PROJETO PADCT Erva-mate. **Patentes industriais e as prioridades para os investimentos tecnológicos na cadeia produtiva da erva-mate**. Curitiba, 2000.
- CANUTO, G. et al. Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. **Química Nova**, [s.l.], v. 41, n. 1, p. 75–91, 2018.
- CARDOSO-JÚNIOR, E. L. et al. Methylxanthines and phenolic compounds contents in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies grown in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v 20, p. 1-10, 2007.
- CHAVES, G. et al. Heavy drinkers of *Ilex paraguariensis* beverages show lower lipid profiles but higher body weight. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 6, 2018.
- CHEN, G. et al. Extract of *Ilex rotunda* Thunb alleviates experimental colitis-associated cancer via suppressing inflammation-induced miR-31-5p/YAP overexpression. **Phytomedicine**, v. 62, n. April, 2019.
- CHOI, E. J. et al. Simultaneous quantification of caffeine and its three primary metabolites in rat plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 2735–2742, dez. 2013.
- CHOI, M.-S. et al. Long-Term Dietary Supplementation with Yerba Mate Ameliorates Diet-Induced Obesity and Metabolic Disorders in Mice by Regulating Energy Expenditure and Lipid Metabolism. **Journal of Medicinal Food**, v. 20, n. 12, 2017.
- COELHO G.C. et al. Quantification of saponins in extractive solution of mate leaves (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Journal of Medicinal Food**, 13, 439-43, 2010.
- COELHO, G. C. **Teores de metilxantinas e saponinas e morfologia foliar de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) sob a influência de diferentes fatores ambientais e em diferentes variedades e populações**. 2002. 184 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

COLPO, A. C. et al. *Ilex paraguariensis* extracts extend the lifespan of *Drosophila melanogaster* fed a high-fat diet. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, n. 2, 2018.

COLPO, A. C. et al. Yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) -based beverages: How successive extraction influences the extract composition and its capacity to chelate iron and scavenge free radicals. **Food Chemistry**, v. 209, 2016.

COLPO, A. Z. C. **Perfil fitoquímico e capacidade antioxidante de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A.St. Hill.)**. 2012. 102 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Pampas, Uruguai, 2012.

CONFORTI, A.S.; GALLO, M.E.; SARAVÍ, F.D. Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) consumption is associated with higher bone mineral density in postmenopausal women. **Bone**, n. 50, p. 9-13, 2012.

CONTRERAS, P. D. **Desenvolvimento de bebida à base de subprodutos da indústria da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e verificação de sua atividade antioxidante**. 2007. 82 f. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, [s.l.], v. 30, n. 2, p. 481–487, abr. 2007.

COSTA, S. G. **A erva-mate**. Curitiba: Secretaria do Estado do Planejamento e Coordenação Geral/ Scientia et Labor, 1989. 86 p.

DA CROCE, D. M. Características físico-químicas de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) no Estado de Santa Catarina. **Ciência Florestal**, Santa Maria. v. 12, n. 2, p. 107-113, 2002.

DA SILVA, C. G. F. et al. Selective extraction of saponins from *Ilex paraguariensis* St.-Hil. unripe fruits. **Food and Bioproducts Processing**, v. 111, p. 72–82, 1 set. 2018.

DA SILVEIRA, T. F. F. et al. Chlorogenic acids and flavonoid extraction during the preparation of yerba mate based beverages. **Food Research International**, v. 102, p. 348–354, dez. 2017.

DA SILVEIRA, T. F. F. et al. Phenolic compounds from yerba mate based beverages - A multivariate optimisation. **Food Chemistry**, v. 190, p. 1159–1167, 2016.

DANIEL, O. **Erva-mate: Sistema de produção e processamento industrial**. Dourados: Editora da Universidade Federal da Grande Dourados, 2009.

DARTORA, N. **Avaliação dos polissacarídeos e metabólitos secundários das folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em diferentes estados fisiológicos e de processamento**. 2010. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Bioquímica) – Programa de Pós-Graduação em Ciências – Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

DE OLIVEIRA, G. A. et al. Comparison of NIRS approach for prediction of internal quality traits in three fruit species. **Food Chemistry**, v. 143, p. 223–230, 2014.

DE RESENDE, P. E. et al. Influence of crude extract and bioactive fractions of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (yerba mate) on the Wistar rat lipid metabolism. **Journal of Functional Foods**, v. 15, p. 440–451, 2015.

DELADINO, L. et al. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. **Carbohydrate Polymers**, v. 5, p. 126 – 134, 2008.

DO NASCIMENTO, J. E. T. et al. The orofacial antinociceptive effect of Kaempferol-3-O-rutinoside, isolated from the plant *Ouratea fieldingiana*, on adult zebrafish (*Danio rerio*). **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 107, p. 1030–1036, nov. 2018.

DORS, P. **Teor de elementos em infusão de erva-mate em diferentes temperaturas**. 2017. 89 f. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo) – Pós-Graduação em Ciências do Solo, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2017.

DUTRA, F. L. G. **Compostos fenólicos e metilxantinas em erva-mate armazenada em sistemas de estacionamento natural e acelerado**. 2009. 77 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

EFING, L. D. M. A. C. **Compostos bioativos do material resinoso, subproduto do processamento da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.- Hil.)**. 2008. 108 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

ESMELINDRO, M. C., et al. Caracterização físico-química da erva-mate: Influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 193-204, 2002.

FERREIRA, F. et al. Inhibition of the passive diffusion of cholic acid by the *Ilex paraguariensis* St. Hil. Saponins. **Phytotherapy Research**, v. 11, p. 79-81, 1997.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações**. Campinas: Editora Unicamp, 2015.

FILIP, R. et al. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v. 20, p. 1437-1446, 2000.

FILIP, R. et al. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, p.774-778, 2001.

FORCISI, S. et al. Liquid chromatography – mass spectrometry in metabolomics research: Mass analyzers in ultra high pressure liquid chromatography coupling. **Journal of Chromatography A**, [s.l.], v. 1292, p. 51–65, 2013.

FUNARI, C. S. et al. Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: Estado da arte, perspectivas e desafios. **Química Nova**, [s.l.], v. 36, n. 10, p. 1605–1609, 2013.

FUNDOMATE. **Informativo do fundomate**. Disponível em:

<<http://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201706/23122435-informativo-do-fundomate-27-2017.pdf>>. Acesso em: 31 jul.2019.

GNOATTO, S. C. et al. Evaluation of ursolic acid isolated from *Ilex paraguariensis* and derivatives on aromatase inhibition. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.42, p.1864-1877, 2008.

GNOATTO, S. C.B.; SCHENKEL, E. P.; BASSANI, V. L. HPLC method to assay total saponin in *Ilex paraguariensis* aqueous extract. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 16, n.4, 723- 726, 2005.

GONZÁLEZ-GALLEGO, J. et al. Fruit polyphenols, immunity and inflammation. **The British Journal of Nutrition**, v.104(3); p.15-27, 2010.

GRUNENVALDT, R. L. **Production of secondary compounds in *Ilex paraguariensis* a. st. hill. callus culture**. 2018. 105 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAĞ, Ö.; MAZZA, G. Saponins: Properties, Applications and Processing. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [s.l.], v. 47, n. 3, p.231-258, 29 mar. 2007.

GUEDES, J. A. C. **Estudo do perfil metabolômico de folhas de cajazeira, umbuzeiro e abacaxizeiro e sua correlação com potencial atividade anticâncer por meio de análise multivariada**. 2018. 156 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

HAN, L. K. et al. Anti-obesity effects of chikusetsusaponins isolated from *Panax japonicus* rhizomes. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, p. 9, 2005.

HARBORNE, J. B. Classes and functions of secondary products from plants. In: WALTON, N. J.; BROWN, D. E. (Eds.). **Chemicals from Plants: Perspectives on Plant Secondary Products**. London: World Scientific / Imperial College Press, 1999. p. 1–25.

HARKINS, J. D. et al. An overview of the methylxanthines and their regulation in the horse. **Equine Practice**. v. 20, n. 1, p. 10-16, jan., 1998.

HECK, C. I.; SCHMALKO, M.; DE MEJIA, E. G. Effect of growing and drying conditions on the phenolic composition of Mate teas (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8394–8403, 24 set. 2008.

HECK, C.I.; DE MEJIA, E.G. Yerba Mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **J. Food Sci.**, n. 72: p.138-151, 2007.

HO, C. S. et al. Electrospray Ionisation Mass Spectrometry: Principles and Clinical Applications. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 24, n. 1, 2003.

HOLOWATY, S. A. et al. Yerba Maté (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): Chemical and Physical Changes under Different Aging Conditions. **Journal of Food Process Engineering**, v. 39, n. 1, 2016.

HU, C.; XU, G. Mass-spectrometry-based metabolomics analysis for foodomics. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 52, p. 36–46, dez. 2013.

IBGE. **Pesquisa da Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura (Pevs)**. 2017. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9105-producao-da-extracao-vegetal-e-da-silvicultura.html?=&t=notas-tecnicas>>. Acesso em: 31 jul.2019.

JUNIOR, A. M. **Análise do pré-processamento da erva-mate para chimarrão**. 2005. 215 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Pós-Colheita) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

KLEIN, G. **Efeito do consumo da erva-mate (*Ilex paraguariensis*), associada ou não à intervenção dietética, no perfil glicêmico e lipídico de indivíduos pré-diabéticos e diabéticos tipo 2**. 2010. 119 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

LANGONI DE FREITAS, G. B. et al. Erva-mate, muito mais que uma tradição, um verdadeiro potencial terapêutico. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8, n. 3, p. 101–113, 2011.

LESSA, L.C. **Chimarrão**. São Paulo: Departamento de Cultura, 1953. 460p.

LIMA, Y. C. DE. **Avaliação do perfil metabólico de caju proveniente de acessos de *Anacardium occidentale* l. usando UPLC-QTOF-MS, NIR e quimiometria**. 2018. 83 f. Tese (Doutorado em Recursos Naturais) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2018.

LINHARES, T. **História econômica do mate**. Rio de Janeiro: José Olímpio, 1969. 522 p.

LUZ, L. V. DA. **Análise fitoquímica e resgate de plantas adultas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) por estaquia**. 2016. 91 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

MACCARI JUNIOR, A. Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva-Mate. **Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate**. Curitiba: PADCT, 2000. Série PADCT III, n.1, 160p.

MAFRA, A. D. **Aconteceu nos ervais: A disputa territorial entre Paraná e Santa Catarina pela exploração da erva-mate – Região sul do vale do Rio Negro**. 50 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional) – Programa de Mestrado em Desenvolvimento Regional, Universidade do Contestado, Canoinhas, 2008.

MAJCHRZAK, D; MITTER, S; ELMADFA, I. The effect of ascorbic acid on total antioxidant activity of black and green teas. **Food Chemistry**, v.88(3); p.447–451, 2004.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 1, 2009.

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

MARTÍNEZ-PINILLA, E.; OÑATIBIA-ASTIBIA, A.; FRANCO, R. The relevance of theobromine for the beneficial effects of cocoa consumption. *Frontiers In Pharmacology*, [s.l.], v. 6, p.1-5, 20 fev. 2015.

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. August 2017, p. 232–241, 2018.

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. August, p. 164–170, 2017.

MAZUCHOWSKI, J. Z. **Prospecção tecnológica da cadeia produtiva da Erva-Mate**. Curitiba: Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento/ Departamento de Economia Rural, 1996. 130 p.

MAZUR, L. **Aplicação de metodologia por nir para determinação de metilxantinas presentes na erva-mate (*Ilex paraguariensis*)**. 2012. 81 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

MAZUR, L. **Espectroscopia para determinação de compostos fenólicos e avaliação de amido de milho comum e ceroso após incorporação de extratos de erva-mate**. 2016. 159 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

MEJÍA, E. G de et al. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): Phenolics, antioxidant capacity and in vitro inhibition of colon cancer cell proliferation. **Journal Of Functional Foods**, [s.l.], v. 2, n. 1, p.23-34, jan. 2010.

MEJIA, E.G; RAMIREZ-MARES, M.V. Impact of caffeine and coffee on our health. **Trends In Endocrinology & Metabolism**, [s.l.], v. 25, n. 10, p.489-492, out. 2014.

MOCO, S. et al. Metabolomics technologies and metabolite identification. **Trends in Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 26, n. 9, p. 855–866, 2007.

OLIVEIRA, M. C. **Estudo da erva-mate no Paraná: 1939-1967**. 1974. 133 f. Dissertação (Mestrado em História) - Setor de Ciências Humanas, Letras e Artes, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1974.

OSBOURN, A.; GOSS, R. J. M.; FIELD, R. A. The saponins – polar isoprenoids with important and diverse biological activities. **Natural Product Reports**, [s.l.], v. 28, n. 7, p.1261-1268, 2011.

- PAGLIOSA, C. **Caracterização química do resíduo de ervais e folhas “in natura” de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.)**. 2009. 146 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.
- PATIL, V.; ANGADI, S.; DEVDHE, S. Determination of quercetin by UV spectroscopy as quality control parameter in herbal plant: *Cocculus hirsutus*. **Available online www.jocpr.com Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 1, p. 99–104, 2015.
- PERES, R. et al. HPLC-DAD-ESI/MS Identification and Quantification of Phenolic Compounds in *Ilex paraguariensis* Beverages and On-Line Evaluation of Individual Antioxidant Activity. **Molecules**, v. 18, n. 4, p. 3859–3871, 28 mar. 2013.
- PIMENTEL, G. D. et al. Yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) attenuates both central and peripheral inflammatory effects of diet-induced obesity in rats. **The Journal Of Nutritional Biochemistry**, [s.l.], v. 24, n. 5, p.809-818, maio 2013.
- PONTILHO, P. DE M. et al. Yerba Mate (*Ilex Paraguariensis* A. St. Hil) and Risk Factors for Cardiovascular Diseases. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 3, n. 3, p. 182–190, 2015.
- PREDIGER, R.D.S. et al. Effects of acute administration of the hydroalcoholic extract of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*) in animal models of learning and memory. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, 465-473, 2008.
- PUANGPRAPHANT, S.; BERHOW, M. A.; DE MEJIA, E. G. Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire) saponins induce caspase-3-dependent apoptosis in human colon cancer cells in vitro. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1171–1178, 2011.
- RACANICCI, A. M. C.; DANIELSEN, B.; SKIBSTED, L. H. Mate (*Ilex paraguariensis*) as a source of water extractable antioxidant for use in chicken meat. **European Food Research Technology**, v. 227 p. 255–260, 2008.
- RAO, A.V., GURFINKEL, D.M. The bioactivity of saponins: triterpenoid and steroidal glycosides. **Drug Metabol. Drug Interact**, [s.l.], v.17, p.211–236, 2000.
- RESENDE, P. E. DE et al. The activity of mate saponins (*Ilex paraguariensis*) in intra-abdominal and epididymal fat, and glucose oxidation in male Wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, n. 3, p. 735–740, 2012.
- RIBEIRO, V. R. et al. Improvement of phenolic compound bioaccessibility from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extracts after biosorption on *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Research International**, v. 126, p. 108623, dez. 2019.
- RITTA, L. **O acordo de livre comércio entre Mercosul e União Europeia**. [s.l.]: Concex - Conselho de Comércio Exterior, 2018.
- ROCHA, D. S. et al. Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract on the metabolism of diabetic rats. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 105, p. 370–376, 1 set. 2018.

ROSSA, Ü. B. et al. Influência da luminosidade e fertilizantes nos teores de metilxantinas e compostos fenólicos em folhas de erva-mate. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 4, p. 1365–1374, 2017.

RUSCHEL, C. F. C. **Aplicação de ferramentas quimiométricas e técnicas espectroscópicas na análise de combustíveis**. 2017. 104 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

SAINT-HILARIE, A. **Viagem pela comarca de Curitiba**. Curitiba: Fundação Cultural, 1995.

SCHENKEL, E. P. et al. A new saponin from *Ilex argentina*. **Acta Farmaceutica Banaerense**, v. 14, n. 1, p. 5-10, 1995.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: Simões, C. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G. et al. (Orgs.). **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2004. Cap. 27, p. 711-740.

SCHIRIGATTI, E. L. **Dinâmica das exportações e avaliação da competitividade do setor de mate brasileiro**. 2014. 328 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

SCHMALKO, M. E. ALZAMORA, S. M. Color, chlorophyll, caffeine, and water content variation during yerba maté processing. **Drying Technology**, v. 19, p. 597-608, 2001.

SIMÕES, C. A. M. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001. 833 p.

SIMÕES, M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. 1102 p.

SOUZA, A. H. P. et al. Phytochemicals and bioactive properties of *Ilex paraguariensis*: An in-vitro comparative study between the whole plant, leaves and stems. **Food Research International**, v. 78, p. 286–294, dez. 2015.

SOUZA, E. R. **Determinação de parâmetros de qualidade de gasolina e estudo de contaminantes utilizando espectros do infravermelho próximo na fase vapor**. 2005.142 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

STURION, J. A.; MEDRADO, M. J.S. Clima. **Sistema de Produção: EMBRAPA FLORESTAS**, n. 1, 2. e. 2010. Disponível em:  
<[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Erva-mate/CultivodaErvaMate\\_2ed/Clima.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Erva-mate/CultivodaErvaMate_2ed/Clima.htm)>. Acesso: 30/07/2019.

SUSSULINI, A. **Metabolomics: From Fundamentals to Clinical Applications**. Cham: Springer, 2017. v. 965.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.



- THEODORIDIS, G. A. et al. Liquid chromatography-mass spectrometry based global metabolite profiling: A review. **Analytica Chimica Acta**, [s.l.], v. 711, p. 7–16, 2012.
- UFSC. Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis, SC). Amante, E. R.; Prudência, E. S.; Zanelatto, A. **Xarope de Erva-Mate**. Br. n. PI0203157-4, 26 jul., 2002.
- VALDUGA, A. T.; BATTESTIN, V.; FINZER, J. R. D. Secagem de extratos de erva-mate em secador por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 184-189, 2003.
- VEGRO, C. L. R. Mercado de erva-mate no Brasil: História, situação e perspectivas. **Informações econômicas**, v. 24, n. 12, p. 71-85, dez., 1994.
- VIEIRA, M. A. et al. Chemical Characterization of Candy Made of Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) Residue. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 4637–4642, 2008.
- WESTERHUIS, J. A. et al. Multivariate paired data analysis: Multilevel PLSDA versus OPLSDA. **Metabolomics**, [s.l.], v. 6, n. 1, p. 119–128, 2010.
- WILLEMS, J. L. et al. Analysis of a series of chlorogenic acid isomers using differential ion mobility and tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 933, p. 164–174, 24 ago. 2016.
- YOSHIMOTO, M. et al. Antimutagenicity of Mono-, Di-, and Tricaffeoylquinic Acid Derivatives Isolated from Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) Leaf. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 66, n. 11, p. 2336–2341, 22 jan. 2002.
- YURAWECZ, M. P. et al. Fatty Acid Composition and Antioxidant Properties of Cold-Pressed Marionberry, Boysenberry, Red Raspberry, and Blueberry Seed Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 53, n. 3, p. 566–573, fev. 2005.
- ZHU, F. et al. Comparison of major phenolic constituents and in vitro antioxidant activity of diverse kudingcha genotypes from *Ilex kudingcha*, *Ilex cornuta*, and *Ligustrum robustum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 14, p. 6082–6089, 22 jul. 2009.